

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14825

研究課題名（和文）オルガネラ間相互作用から探るペルオキシソーム膜タンパク質の輸送機構

研究課題名（英文）Transport of peroxisomal membrane proteins in Arabidopsis

研究代表者

高木 純平（Takagi, Junpei）

北海道大学・理学研究院・助教

研究者番号：80740331

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：ペルオキシソームは多様な代謝を担う重要なオルガネラである。しかしながら、ペルオキシソームの形成・維持機構についてはほとんど明らかになっていない。本研究では、植物を材料にペルオキシソーム膜タンパク質に着目し様々な解析を行った。その結果、少なくとも一部のペルオキシソーム膜タンパク質はペルオキシソーム前駆体を経由してペルオキシソームへと輸送されること、そしてその輸送経路はペルオキシソーム膜タンパク質によって多様であることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ペルオキシソームはオーキシンなどの植物ホルモンの合成を担っており、植物の発生や環境応答にも深く関わっている。またペルオキシソームは環境変動に応じて増殖したり分解を受けたりする。本研究によって、ペルオキシソームの形成・維持機構を理解する上で重要なペルオキシソーム膜タンパク質の輸送プロセスの一端が明らかとなった。将来的には、環境変動に応じたペルオキシソームの制御機構の解明へとつなげていきたい。

研究成果の概要（英文）：Peroxisomes are essential organelles participating in various metabolic processes. Peroxisome homeostasis is maintained by peroxisomal membrane proteins. However, transport mechanism of peroxisomal membrane proteins remains unknown. To address this question, I analyzed various peroxisomal membrane proteins. I found that at least some peroxisomal membrane proteins are transported to peroxisomes via preperoxisomal compartments, and the transport pathways are diverse among peroxisomal membrane proteins.

研究分野：植物分子細胞生物学

キーワード：ペルオキシソーム オルガネラ 選別輸送 シロイヌナズナ

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ペルオキシソームは真核生物に広く保存されるオルガネラであり、植物においては種子に蓄えられた脂質の分解や、光合成に伴う光呼吸反応、植物ホルモンの合成など重要な代謝機能を担っている。ペルオキシソームの恒常性維持に重要な役割を果たすのがペルオキシソーム膜タンパク質であり、ペルオキシソーム膜タンパク質はペルオキシソームの初期発生や代謝機能を担う酵素などをペルオキシソーム内腔へ運び込む役割を担っている。

ペルオキシソームは発生段階や環境ストレスに応じて分裂・成長し増殖したり、分解を受け減少したりする。ペルオキシソームの分裂や分解に関しては研究が進んでいる一方で、ペルオキシソームの成長過程についてはほとんど知見がない。ペルオキシソーム同士の融合は見られないことから、成長に際してはペルオキシソームへと新しくペルオキシソーム膜タンパク質が供給されていると考えられる。ペルオキシソームの維持・形成機構を理解するためには、ペルオキシソーム膜タンパク質の選別輸送の分子機構解明が欠かせない。酵母における先行研究から、ペルオキシソーム膜タンパク質はまず小胞体において合成されたのち、小胞体上のサブドメインにおいて輸送小胞へと積み込まれた後、ペルオキシソーム前駆体を介して、成熟型ペルオキシソームへと輸送されることが報告されている。しかしながら、ペルオキシソーム膜タンパク質がどのようにして小胞体からペルオキシソームへと正確に輸送されるのか、その分子機構はいまだに明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、様々なペルオキシソーム膜タンパク質に着目し解析を進めることで、小胞体からペルオキシソームへのペルオキシソーム膜タンパク質の輸送モデルを構築すること、また、その分子機構に迫ることを目指した。

3. 研究の方法

シロイヌナズナを材料に、以下の解析を行った。

(1) ペルオキシソーム膜タンパク質のライブセルイメージング解析

様々なペルオキシソーム膜タンパク質とペルオキシソーム内腔マーカーを同時に可視化した形質転換体を作成し、ライブセルイメージング解析によってそれぞれのペルオキシソーム膜タンパク質の細胞内局在を明らかにする、また、ペルオキシソーム膜タンパク質の輸送過程を明らかにするために、ペルオキシソーム形成不全変異体において同様に様々なペルオキシソーム膜タンパク質を可視化し細胞内局在を解析する。

(2) ペルオキシソーム形成に関与する新規因子の探索

様々なペルオキシソーム膜タンパク質の形質転換システムを用いて、共免疫沈降・質量分析を行い、それぞれのペルオキシソーム膜タンパク質の相互作用因子を網羅的に同定する。得られた候補因子の中から、ペルオキシソーム膜タンパク質の選別輸送やペルオキシソームの形成・維持に関与する新規因子、またはペルオキシソームと他のオルガネラとの相互作用に関与する因子を探索する。

4. 研究成果

(1) ペルオキシソーム膜タンパク質のライブセルイメージング解析

植物においてペルオキシソーム膜タンパク質の輸送モデルを構築するために、まず様々なペルオキシソーム膜タンパク質とペルオキシソーム内腔マーカーを同時に可視化し、ライブセルイメージング解析を行った。その結果、いくつかのペルオキシソーム膜タンパク質が成熟したペルオキシソームのみならず、ペルオキシソーム前駆体様の構造にも局在していることが明らかになった。また、予想外の結果として、成熟したペルオキシソームにおいて一部のペルオキシソーム膜タンパク質は他のペルオキシソーム膜タンパク質と異なる局在を示すことを見出した。このことは一部のペルオキシソーム膜タンパク質がペルオキシソーム膜上で機能場を作っている可能性を示唆する。

次に、ペルオキシソーム膜タンパク質の輸送過程を明らかにするために、ペルオキシソーム形成不全変異体において、様々なペルオキシソーム膜タンパク質の局在解析を行った。一部のペルオキシソーム膜タンパク質は局在異常を示さなかった一方で、いくつかのペルオキシソーム膜タンパク質は細胞質に拡散していた。興味深いことに、あるペルオキシソーム膜タンパク質は不

定形構造に局在していた。この不定形構造ではペルオキシソーム内腔マーカーの取り込みが見られなかったことから、この構造はペルオキシソーム前駆体である可能性が示唆される。また別のペルオキシソーム膜タンパク質も、形態的に異なる顆粒状のペルオキシソーム前駆体構造に局在していた。これらのペルオキシソーム前駆体がどのオルガネラに由来するのか検証するために、他のオルガネラとの共局在解析を行ったが、この前駆体構造がどのオルガネラに由来するのか特定には至らなかった。以上の結果から、少なくとも一部のペルオキシソーム膜タンパク質はペルオキシソーム前駆体を經由してペルオキシソームへと輸送されること、そしてペルオキシソーム膜タンパク質の輸送経路が多様であることが示唆される。今後さらにペルオキシソーム膜タンパク質の動態解析を進めることで、これらの多様なペルオキシソーム膜タンパク質の輸送過程を明らかにしていく予定である。

(2) ペルオキシソーム形成に関与する新規因子の探索

ペルオキシソーム膜タンパク質の選別輸送やペルオキシソーム形成・維持に関与する新規因子を同定するために、様々なペルオキシソーム膜タンパク質を用いて相互作用因子の網羅的探索を行った。共免疫沈降・質量分析の結果、それぞれのペルオキシソーム膜タンパク質について既知の複合体が得られていることが確認できた。また興味深い結果として、様々なペルオキシソーム膜タンパク質とペルオキシソームの機能に重要な役割を持ついくつかのペルオキシソーム膜タンパク質との相互作用を見出した。残念ながらオルガネラ間相互作用に関与する可能性がある因子は見つからなかったが、新規のペルオキシソーム膜タンパク質候補を見出すことができた。今後、これらの相互作用因子の細胞内動態、および、変異体を用いた解析を推進することで、ペルオキシソーム膜タンパク質の輸送機構に迫りたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Luo Yongming, Yasuda Shigetaka, Takagi Junpei, Hasegawa Yoko, Chiba Yukako, Yamaguchi Junji, Sato Takeo	4. 巻 636
2. 論文標題 Deubiquitinating enzymes UBP12 and UBP13 regulate carbon/nitrogen-nutrient stress responses by interacting with the membrane-localized ubiquitin ligase ATL31 in Arabidopsis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 55 ~ 61
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.10.089	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Jie Linnan, Sanagi Miho, Luo Yongming, Maeda Haruna, Fukao Yoichiro, Chiba Yukako, Yanagisawa Shuichi, Yamaguchi Junji, Takagi Junpei, Sato Takeo	4. 巻 40
2. 論文標題 Histone chaperone NUCLEOSOME ASSEMBLY PROTEIN 1 proteins affect plant growth under nitrogen deficient conditions in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 93 ~ 98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.22.1219a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hasegawa Yoko, Huarancca Reyes Thais, Uemura Tomohiro, Baral Anirban, Fujimaki Akari, Luo Yongming, Morita Yoshie, Saeki Yasushi, Maekawa Shugo, Yasuda Shigetaka, Mukuta Koki, Fukao Yoichiro, Tanaka Keiji, Nakano Akihiko, Takagi Junpei, Bhalerao Rishikesh P, Yamaguchi Junji, Sato Takeo	4. 巻 34
2. 論文標題 The TGN/EE SNARE protein SYP61 and the ubiquitin ligase ATL31 cooperatively regulate plant responses to carbon/nitrogen conditions in Arabidopsis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Plant Cell	6. 最初と最後の頁 1354 ~ 1374
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plcell/koac014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Luo Yongming, Takagi Junpei, Claus Lucas Alves Neubus, Zhang Chao, Yasuda Shigetaka, Hasegawa Yoko, Yamaguchi Junji, Shan Libo, Russinova Eugenia, Sato Takeo	4. 巻 23
2. 論文標題 Deubiquitinating enzymes UBP12 and UBP13 stabilize the brassinosteroid receptor BR11	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 EMBO reports	6. 最初と最後の頁 e53354 ~ e53354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embr.202153354	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

[学会発表] 計34件(うち招待講演 2件/うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Miho Sanagi, Akio Kubo, Van Quoc Giang, Kana Nakao, Soichi Inagaki, Junpei Takagi, Takeo Sato
2. 発表標題 Transcription factor FBH4 mediates the regulation of flowering time and metabolism under low nitrogen conditions in Arabidopsis
3. 学会等名 Nitrogen 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Junpei Takagi, Hideyuki Takahashi, Minoru Nagano, Kenta C. Moriya, Yoshitaka Kimori, Yoichiro Fukao, Haruko Ueda, Kentaro Tamura, Tomoo Shimada, Ikuko Hara-Nishimura
2. 発表標題 MA1G03-mediated capture-and-release of ER exit sites facilitates protein transport from ER to Golgi stacks in Arabidopsis
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Junpei Takagi, Hideyuki Takahashi, Minoru Nagano, Yoshitaka Kimori, Yoichiro Fukao, Haruko Ueda, Kentaro Tamura, Tomoo Shimada, Ikuko Hara-Nishimura
2. 発表標題 MA1G03-dependent mechanism underlying dynamic captureand-release process of ER exit sites by Golgi stacks in Arabidopsis
3. 学会等名 ICAR2023 (The 33rd International Conference on Arabidopsis Research) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yongming Luo, Junpei Takagi, Lucas Alves Neubus Claus, Chao Zhang, Shigetaka Yasuda, Yoko Hasegawa, Junji Yamaguchi, Libo Shan, Eugenia Russinova, Takeo Sato
2. 発表標題 Brassinosteroid receptor BRI1 deubiquitination by UBP12/UBP13 finetunes plant growth
3. 学会等名 ICAR2023 (The 33rd International Conference on Arabidopsis Research) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Miho Sanagi, Akio Kubo, Van Quoc Giang, Filip Rolland, Junpei Takagi, Takeo Sato
2. 発表標題 Nitrogen-responsive SnRK1-FBH4 module affects flowering time and metabolism in Arabidopsis
3. 学会等名 ICAR2023 (The 33rd International Conference on Arabidopsis Research) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Jie Linnan, Miho Sanagi, Yongming Luo, Haruna Maeda, Yoichiro Fukao, Yukako Chiba, Shuichi Yanagisawa, Junji Yamaguchi, Junpei Takagi, Takeo Sato
2. 発表標題 Histone chaperone NAP1 proteins are involved in plant growth under nitrogen deficient conditions in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 ICAR2023 (The 33rd International Conference on Arabidopsis Research) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高木純平, 高橋英之, 長野稔, 守屋健太, 深尾陽一朗, 上田晴子, 田村謙太郎, 嶋田知生, 西村いくこ
2. 発表標題 MAIG03は小胞体ドメインER exit siteとゴルジ体との相互作用に関する
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 佐藤長緒, 眞木美帆, 高木純平
2. 発表標題 栄養環境に応じた植物の成長相転換とソース-シンク機能制御
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 眞木美帆, 中尾果菜, 久保晃生, 稲垣宗一, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 低窒素環境での花成誘導と代謝制御に関わる転写因子FBH4の機能解析
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Linnan Jie, Ayumi Sugisaki, Shigetaka Yasuda, Kohji Yamada, Miho Sanagi, Mika Nomoto, Susumu Uehara, Yasuomi Tada, Yusuke Saijo, Junpei Takagi, Takeo Sato
2. 発表標題 Analysis of SnRK1 functions in sugar responsive modulation of immunity in Arabidopsis
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 遠藤海斗, 松井博輝, 眞木美帆, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 膜交通制御因子MIN7/BEN1/BIG5による植物のC/Nストレス応答制御機構の解析
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 久保晃生, 眞木美帆, Rolland Filip, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 シロイヌナズナSnRK1複合体サブユニットSnRK1 3の機能解析
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 高木純平, 野崎悟史, 佐藤長緒, 上田晴子, 西村いくこ
2. 発表標題 植物ペルオキシソーム膜タンパク質の動態解析
3. 学会等名 第10回植物エンドメンブレンミーティング
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 遠藤海斗, 松井博輝, 眞木美帆, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 環境ストレス応答におけるMIN7/BEN1/BIG5の生理機能解析
3. 学会等名 第10回植物エンドメンブレンミーティング
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久保晃生, 佐久間行生, 眞木祐子, 小鍵亮介, 佐久間太, 眞木美帆, 山口淳二, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 乳酸菌由来代謝物による湛水イネ種子の発芽後成長促進効果の解析
3. 学会等名 第40回日本植物バイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 眞木美帆, Van Quoc Giang, 中尾果菜, 久保晃生, 稲垣宗一, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 転写因子FBH4 によるシロイヌナズナの窒素欠乏条件下での花成誘導と代謝制御機構
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 遠藤海斗, 松井博輝, 眞木美帆, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 膜交通制御因子MIN7/BEN1/BIG5 は植物のC/N 栄養ストレス応答に關与する
3. 学会等名 日本植物学会第87回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Linnan Jie, Miho Sanagi, Koji Yamada, Shigetaka Yasuda, Yusuke Saijo, Junpei Takagi, Takeo Sato
2. 発表標題 Study on plant fuel sensor SnRK1 function in sugar responsive modulation of immunity in Arabidopsis
3. 学会等名 植物の栄養研究会第8回交流会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高木純平, 高橋英之, 長野稔, 深尾陽一朗, 上田晴子, 田村謙太郎, 嶋田知生, 西村いくこ
2. 発表標題 小胞体ーゴルジ体間の輸送に關わるコイルドコイル膜タンパク質MAG3の解析
3. 学会等名 第9回植物エンドメンブレンミーティング 植物細胞骨格研究会2022 合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 遠藤海斗, 松井博輝, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 植物のC/N栄養ストレス応答に關与する膜交通因子の探索
3. 学会等名 第9回植物エンドメンブレンミーティング 植物細胞骨格研究会2022 合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 眞木美帆, Van Quoc Giang, 久保晃生, 佐藤靖武, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 シロイヌナズナにおける窒素欠乏時の代謝と花成制御に關与する転写因子の機能解析
3. 学会等名 第39回日本植物バイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Linnan Jie, Miho Sanagi, Yongming Luo, Junji Yamaguchi, Junpei Takagi, Takeo Sato
2. 発表標題 Histone chaperone NAP1 proteins are involved in nitrogen deficiency response in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 第39回日本植物バイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mamiko Ozaki, Tatsuya Uebi, Junpei Takagi, Somare Mizuho, Tadashi Kunieda, Haruko Ueda, Toru Maeda, Shunya Habe, Kenji Yamada, Ikuko Hara-Nishimura
2. 発表標題 'Win-win' chemical defense in Brassicaceae acts on insect olfactory and gustatory systems to depress feeding behavior, limiting damage to both plants and insects.
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第44回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保晃生, 眞木美帆, 佐藤靖武, Rolland Filip, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 シロイヌナズナの窒素応答性花成におけるSnRK1 キナーゼ複合体サブユニットの機能解析
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 眞木美帆, Van Quoc Giang, 久保晃生, 佐藤靖武, 稲垣宗一, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 窒素応答性花成制御に関わる転写因子FBH4の機能解析
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高木純平, 野崎悟史, 佐藤長緒, 上田晴子, 西村いくこ
2. 発表標題 ペルオキシソーム膜タンパク質のライブセルイメージング解析
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高木純平, 嶋田知生, 西村いくこ
2. 発表標題 植物における小胞体 - ゴルジ体間の膜交通
3. 学会等名 第25回植物オルガネラワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久保晃生, 眞木美帆, 佐藤靖武, Filip Rolland, 高木純平, 今泉貴登, 山口淳二, 佐藤長緒
2. 発表標題 窒素栄養に応じたシロイヌナズナSnRK1キナーゼの活性変動と花成制御機構の解析
3. 学会等名 第38回日本植物バイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞木美帆, 久保晃生, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 窒素栄養欠乏に応答した植物のステージゲート 成長相転換制御の視点から
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yongming Luo, Junpei Takagi, Lucas A. N. Claus, Chao Zhang, Shigetaka Yasuda, Yoko Hasegawa, Junji Yamaguchi, Libo Shan, Eugenia Russinova, Takeo Sato
2. 発表標題 Deubiquitinating enzymes limit the degradation of brassinosteroid receptor BRI1 in Arabidopsis
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長谷川陽子, Thais Huaranca Reyes, 植村知博, Anirban Baral, 羅永茗, 前川修吾, 安田盛貴, 深尾陽一朗, 中野明彦, 高木純平, Rishikesh P. Bhalerao, 山口淳二, 佐藤長緒
2. 発表標題 SNARE タンパク質SYP61 はユビキチンリガーゼATL31 と共にシロイヌナズナのC/N 栄養応答を制御する
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Linnan Jie, Miho Sanagi, Kohji Yamada, Shigetaka Yasuda, Yusuke Saijo, Junji Yamaguchi, Junpei Takagi, Takeo Sato
2. 発表標題 Analysis of a protein kinase mediating sugar responsive modulation of immunity in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 眞木美帆, 久保晃生, 佐藤靖武, Filip Rolland, 木羽隆敏, 高木純平, 今泉貴登, 山口淳二, 佐藤長緒
2. 発表標題 窒素栄養欠乏時の代謝と成長相転換制御に関わる転写因子の機能解析
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保晃生, 眞木美帆, 佐藤靖武, Filip Rolland, 山口淳二, 高木純平, 佐藤長緒
2. 発表標題 窒素応答性花成制御におけるSnRK1 キナーゼ活性制御機構の解析
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------