

細胞機構

西村 幹夫

基生研に赴任してきたのは1990年の4月でした。その前の2年間客員部門助教授として勤務していましたが、まったく基生研に関係がなくてはなかったのですが、新しい部門を立ち上げようと希望を胸に岡崎の地にやってきました。スタッフとしては小川和男助手に加えて、まず林誠氏、次に西村いくこ氏が助手として加わり、技官として近藤真紀氏、山口勝司氏が着任しました。更に1991年に任期終了から情報制御部門今関グループの森仁志氏が助手に加わりました。森助手は1994年に名古屋大学農学部助教授に、更に1995年に小川助手はアイソトープ実験室助教授に昇任し、私たちのグループを離れました。その後任として嶋田知生氏が着任し、現在に至っています。

基生研では、植物細胞分化の特徴とオルガネラレベルの機能転換から解明することを目指し、単膜系のオルガネラ、マイクロボディと液胞を中心に研究を始めました。これら2つのプロジェクトは既に前任地で開始したものです。

地中で発芽した種子は、地表に現われるとともに光を受けて緑化し、幼植物は光合成によるエネルギーで、生育していくようになります。この緑化の過程は種子に貯えられていた貯蔵物質を分解して、生育のエネルギーを得るいわば従属栄養的な生活から、植物の特徴である独立栄養生物としての生活に変わっていくのですから、細胞レベルの代謝及び構造も非常に大きく変化します。緑色になるのは、クロロフィルが合成されてくるためですが、これはオルガネラレベルではエチオプラストからクロロプラストへの発達が生じているためです。私達が取り組んでいるマイクロボディもこの緑化過程で、貯蔵脂肪の分解に関与するグリオキシゾームから、光合成に関わる緑葉パーオキシゾームへと機能的に転換していきます。基生研での研究で明らかにしたことは、このマイクロボディの機能転換が可逆的であることでした。緑化過程は光照射により誘導されるのですが、植物を暗所に置いておくと、セネッセンス（老化）していきます。実はこの段階では緑化過程と全く逆の機能転換（緑葉パーオキシゾームからグリオキシゾーム）が生じていることがわかってきました。つまり明暗という条件のもとで、マイクロボディの機能転換が可逆的に生じていることとなり、植物細胞分化の特徴として広く理解されている分化の柔軟性をささえる基本的機構がマイクロボディの可逆的な機能転換中に見出すことができると考えていますといえるものです。研究はこの可逆的なマイクロボディ機能転換に働いている調節の仕組みを分子レベルで明らかにする段階に入っています。緑化過程におけるマイクロボディの機能転換は遺伝子発現、RNAのスプライシング、オルガネラへの移行、タンパク分解の各段階で調節されていることが判明してきていますが、これらがセネッセンス時の逆の機能転換の際にどのように制御されているかが、今後の問題として残されています。特に alternative splicing によるオ

ルガネラへの移行の制御は、明暗による調節に関わっている可能性も生じており、研究の一端を担うものと考えています。更にマイクロボディの機能に関わるアラビドプシスの変異株のスクリーニングを行っており、これら変異株におけるマイクロボディ機能転換の詳細は、新たなレベルでの調節系の機能として可能にするものといえます。

マイクロボディの研究の中でももう一つ取り上げたいことは、アコニターゼに関するものです。グリオキシゾームには脂肪酸を分解するために β -酸化等とそれに続くグリオキシル酸サイクルの酵素群が局在するとされ、どの教科書にもグリオキシル酸サイクルの酵素であるアコニターゼは、グリオキシゾームに局在している図が掲載されています。ところが私達が行った研究からは、アコニターゼはグリオキシゾームに局在せず、細胞質に局在する同酵素がサイクルを回していることが判明しました。この結果は仏の Douce 博士らも同様な結果を報告し、グリオキシル酸代謝経路の局在を一変させました。

今1つのプロジェクトは液胞機能の動態を明らかにしようとするものです。液胞は、種子の形成、発芽の細胞で、形態的にも機能的にも大きく変動します。一般的には液胞は分解型のオルガネラとして、細胞内成分の分解に働くと考えられていますが、種子の登熟期の液胞は、全く別の機能である蓄積型のオルガネラとして多量の貯蔵タンパク質を蓄積するようになります。そして乾燥種子に見られるプロテインボディというオルガネラに変わっていきますが、このプロテインボディは種子の吸水発芽に伴い、その内部貯蔵タンパク質の分解とともに互いに融合して、液胞に変化していきます。このプロジェクトでは種子の登熟発芽における液胞→プロテインボディ→液胞というオルガネラの分化転換に働く調節機構を明らかにすべく研究を進めています。その中で特筆されるのは、液胞プロセシング酵素の実体を初めて明らかにしたことです。液胞へ輸送されるタンパク質に液胞内では特異的なプロセシングをうけ、成熟化することが知られていますが、この分子の実体である液胞 (VPE) プロセシング酵素は、新規のチオールプロテアーゼであり、複数の液胞タンパク質のプロセシングを触媒していることが明らかとなりました。VPE はアラビドプシスで3種類のコホモログが存在し、各々のコホモログが組織特異的に発現していること、エチレンやサリチル酸等の生理活性物質によって発現が各々異なって調節されていることが、プロモーターの解析から明らかになってきています。VPE は液胞タンパク質の成熟化を触媒することから、液胞におけるタンパク質の最終的な機能の発現を担うプロテアーゼとみなすことができます。そのため、この VPE の遺伝子発現をプロモーター GUS で解析することにより、植物個体において、液胞が活発に働いている組織の同定が可能となります。葉の排水組織や葯の circular cell cluster (図1；口絵1参照)などにみられる GUS 活性は、VPE がセネッセンスや細胞死に深く関わっていることを端的に示しており、植物個体における液胞機能分化に全く新しいアプローチを可能とさせています。

液胞タンパク質の輸送に関しては、輸送小胞は単離とその成分の解析から、液胞的タンパク質の輸送に関わる成分が次々に同定されつつあります。又、その中には特異的種子の登熟、発芽における膜タンパク質の変動及び膜融合の解析は、この実験系における独自性をいかしたもので、このオルガネラ分化の分子機構の解明を目指しています。こうした中で、分解型液胞が直接的に蓄積型液胞に変換

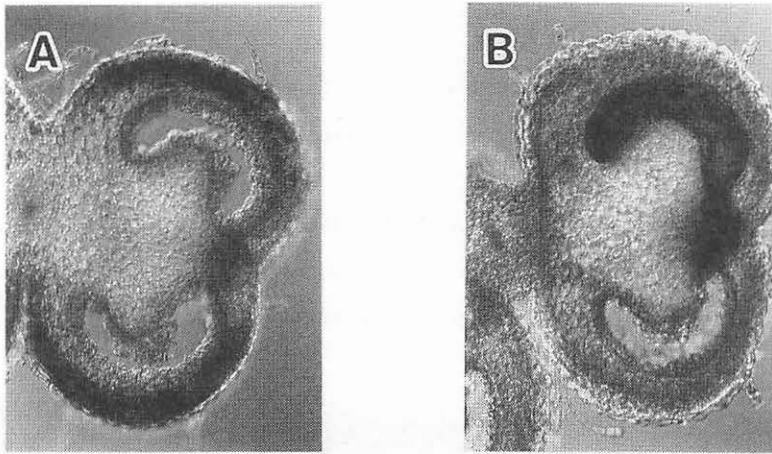


図1 GUS (β -グルクロニターゼ) レポーター遺伝子を用いた γ -VPE-GUS 融合遺伝子をもつ形質転換タバコの若い葉 (A) と成熟中の葉 (B) を、X-Gluc を基質に用いて組織染色した。葉の成熟過程で circular cell cluster に部位特異的な γ -VPE 遺伝子の発現が見られる。

するのか、細胞内でおきかわっていくのかという問題は今後に残された重要な課題と考えています。

上記研究を基生研で推進していくにあたり、積極的に形質転換植物の実験系を導入してきました。基生研という研究の場を与えていただいたことにより、すみやかに実験系を拡張することができ、研究は植物個体からみた細胞分化、オルガネラ分化の研究に発展してきています。私達はこうした研究により、動物とは全く異なった戦略で生存、繁栄している植物の生き様を分子レベルで明らかにしていきたいと考えています。

文献

1. Nishimura, M., Takeuchi, Y., De Bellis, L. and Hara-Nishimura, I. (1993) Leaf peroxisomes are directly transformed to glyoxysomes during senescence of pumpkin cotyledons. *Protoplasma* 175, 131-137
2. Hara-Nishimura, I., Takeuchi, Y. and Nishimura, M. (1993) Molecular characterization of a vacuolar processing enzyme related to a putative cysteine proteinase of *Schistosoma mansoni*. *Plant Cell* 5, 1651-1659
3. Inoue, K., Motozaki, A., Takeuchi, Y., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (1995) Molecular characterization of proteins in protein-body membrane that disappear most rapidly during transformation of protein bodies into a vacuole. *Plant J.* 7, 235-243
4. Kinoshita, T., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (1995) Homologues of a vacuolar processing enzyme that are expressed in different organs in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol. Biol.* 29, 81-89
5. Hayashi, M., Tsugeki, R., Kondo, M., Mori, H. and Nishimura, M. (1996) Pumpkin hydroxypyruvate

- reductases with and without a putative C-terminal signal for targeting to microbodies may be produced by alternative splicing. *Plant Mol. Biol.* 30, 183-189
6. Kato, A., Hayashi, M., Kondo, M. and Nishimura, M. (1996) Targeting and processing of a chimeric protein with the amino-terminal presequence of the precursor to glyoxysomal citrate synthase. *Plant Cell*, 8: 1601-1611
7. Koumoto, Y., Tsugeki, R., Shimada, T., Kondo, M., Mori, H., Hara-Nishimura, I. and Nishimura, M. (1996) Isolation and characterization of a cDNA encoding mitochondrial chaperonin 10 from *Arabidopsis thaliana* by functional complementation of an *E.coli* mutant. *Plant J.* 10, 1119-1125

