

プロテインフラックスと遺伝子発現の協調的制御による細胞構築原理の解明

●中井 正人 ◆菊地 真吾

大阪大学蛋白質研究所

研究の目的と進め方

植物体は葉や根、花など分化した器官・組織を形成し、さらにそれぞれの機能を維持するために空間的にも時間的にも特有の蛋白質セットを合成して細胞内外に配置している。本研究ではこのような蛋白質の流れを「プロテインフラックス」として捉えることができる。本研究では特に植物の様々な代謝活動に必須なプラスチドへのプロテインフラックスとその制御メカニズムを明らかにすることを目的とする。そのため、葉緑体へのプロテインフラックスの制御に関して、多くの前駆体蛋白質について解析を進め、また制御を担うコンポーネントについても変異体を用いて解析する。

2002 年度の研究の当初計画

- 1) シロイヌナズナを中心としたゲノム情報を活用し、多数のプラスチド・葉緑体蛋白質前駆体の *in vitro* 転写翻訳系を構築する。
- 2) 次に様々な生育ステージ・生育環境における植物緑葉から単離した緑葉から単離した葉緑体および分化の異なるプラスチドへ様々な条件下 *in vitro* 輸送実験を行う。
- 3) シロイヌナズナ・およびトウモロコシにおいて、葉緑体包膜の蛋白質膜透過装置の制御コンポーネントを欠失した葉緑体を単離し、輸送の制御がどのような影響を受けているかを解析する。

2002 年度の成果

- 1) シロイヌナズナおよびトウモロコシのゲノム情報・EST 情報から異なるプラスチド発現特異性を有すると予想されるイソ蛋白質を選別し、*in vitro* 転写・翻訳系を確立した。
- 2) シロイヌナズナ・トウモロコシ・エンドウの緑葉からクロロプラスト、暗所で育てた黄化葉からエチオプラスト、根のプラスチド、を単離し様々な条件下での前駆体蛋白質の輸送特性を比較解析した。その結果、対応するイソ蛋白質であっても、シロイヌナズナの前駆体とトウモロコシの前駆体では葉緑体やその他のプラスチドに対する輸送特性は必ずしも同一ではないことが判明した。このことは、それぞれの植物が生育に適した環境に応じて、前駆体の輸送の制御が変化している可能性を示唆している。
- 3) 葉緑体において蛋白質輸送を制御すると考えられているコンポーネントの変異株を同定し解析した。その結果、他のグループにより葉緑体内包膜におけるレドックスセンサーと提唱されてきた蛋白質が欠損した変異株においても、蛋白質輸送に大きな変化が認められず、また生化学的解析からも、内包膜の膜透過装置複合体に含まれていないことが確認され、この蛋白質が輸送に本当に関与しているのか問題を提起する結果を得た。

国内外の成果の位置づけ

葉緑体への蛋白質輸送の制御機構の解析は、この研究

分野のホットな話題であるが、これに関わるコンポーネントと制御される側の前駆体蛋白質の双方から、この問題に迫っている研究グループは少ない。

達成できなかったこと、予想外の困難、その理由

ゲノム情報が利用しやすいシロイヌナズナでは葉緑体以外のプラスチドを生化学的解析に利用できる充分量、単離することが困難であった。また、プラスチド包膜上のレセプターの中にはプロテアーゼに極めて感受性のものがあり、インタクトな状態でこれらプラスチドを手早く単離することが *in vitro* の輸送実験を用いた解析には重要であることが分かった。

今後の課題

さらに多数の前駆体・輸送コンポーネントの変異株についてデータを蓄積する必要がある。