

イネ登熟種子中におけるリン酸化タンパク質の同定：

Hsp82 遺伝子のクローニングと機能解析

食品・安全機能性開発学講座 機能性食品変換学

長屋 裕之

【背景と目的】 イネ種子にはデンプンやタンパク質など重要な貯蔵物質が蓄積している。これらの貯蔵物質は自然界において人類がエネルギー源としうる最も重要な資源であり、かつバイオエタノールの利用増大に伴う産業的利用価値から、その生合成機構を明らかにすることは多くの研究分野においてきわめて重要である。タンパク質のリン酸化は、その機能調節や局在化などに影響する。近年、植物においても sucrose synthase など炭素や窒素の代謝に関するタンパク質のリン酸化制御機構が報告されている。現在までに、貯蔵物質の生合成に関与する多くの酵素が解析されてきたが、リン酸化による制御という視点からの知見は非常に少ない。そこで、本研究ではイネ種子登熟時におけるリン酸化制御機構の解明を目的とし、登熟種子中におけるリン酸化タンパク質の同定を行った。

【方法と結果】 イネ登熟種子より抽出したタンパク質の部分精製を行い、電気泳動に供した後、リン酸化タンパク質を検出した。peptide mass fingerprinting 法により、7 種類のリン酸化タンパク質を同定した。この中から、タンパク質の存在量やリン酸化度の高さから、Heat shock protein 82 (Hsp82) に着目した。Hsp82 には4種のアイソフォーム (Hsp82-1 ~ Hsp82-4) が存在しており、本研究で同定した Hsp82 は Hsp82-1 であった。Hsp82-1 をコードする cDNA を単離し、GFP との融合遺伝子を作製しタマネギ上皮細胞およびイネプロトプラストに導入した結果、いずれも細胞質局在型であることが明らかとなった (Fig. 1)。また、Hsp82-1 遺伝子破壊株の解析から、ミュータントホモは致死で、ヘテロ個体は低稔性を示し、葉の同化デンプン蓄積量も低下していることが明らかとなった (Fig. 2)。

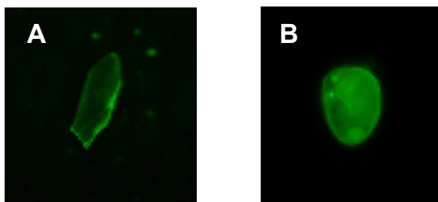


Fig. 1. Cellular localization of Hsp82-1

A, onion epidermal cell;

B, rice protoplast.

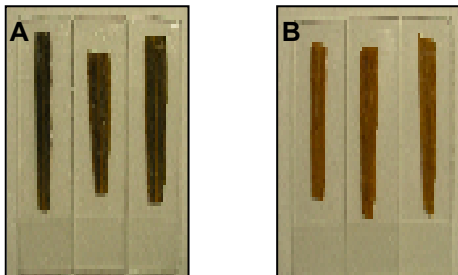


Fig. 2. Starch accumulation in leaves.

A, WT; B, Hsp82-1 mutant.

ントホモは致死で、ヘテロ個体は低稔性を示し、葉の同化デンプン蓄積量も低下していることが明らかとなった (Fig. 2)。

【考察】 細胞内局在性の結果から、Hsp82 がオルガネラ局在性タンパク質の細胞質内輸送や細胞質タンパク質のフォールディングなどに機能すると考えられた。また、Hsp82-1 遺伝子破壊株解析の結果から、プラスチドへのタンパク質輸送を介してデンプン生合成に関わっていることが示唆された。今後、Hsp82-1 抗体を用いたプルダウンアッセイによる標的タンパク質の探索、リン酸化-脱リン酸化による Hsp82-1 の機能変化の解析などにより、Hsp82 のより詳細な生理機能の解明が期待される。