植物リン脂質生合成変異株を用いた植物生理学の新展開

Molecular physiological studies of plant phospholipid mutants

プロジェクト代表者：西田生郎（大学院理工学研究科・教授）
Ikuo Nishida (Graduate School of Science and Engineering, Professor)

１　研究の目的

リン脂質ホスファチジルエタノールアミン(PE)の合成が制限された変異株を用いて、植物細胞の液胞膜や他のオルガネラの動態を観察し、また、細胞壁の構造と成分を分析することにより、植物の生理・発生・環境適応におけるホスファチジルエタノールアミンの役割を明らかにすることを目的とする。われわれは、すでに、PE の生合成律速酵素である CDP-エタノールアミン合成酵素の活性が低下したシロイヌナズナ変異株、*pect1-4*、*pect1-6* および *pect1-4/pect1-6* F1 植物を作出し、これらの植物が変異の程度に比例して形態異常を呈することを発見している。本研究プロジェクトでは、1) 形態異常の原因を特定するために *pect1-4/pect1-6* F1 植物の細胞内構造を観察すること、特に、胚の形成における構造変化を詳細に調べることを行う。また、(2) 環境ストレスに対するホスファチジルエタノールアミン生合成系の応答を明らかするために、各種 *pect* 植物の低温生理の解析し、また、環境ストレスに対する PECT1-GFP キメラタンパク質の挙動を観察する。さらに、(3)*PECT1* と遺伝学的に相互作用（合成致死あるいは合成形態異常）する遺伝子を単離するために、表現型のほとんどあらわれない *pect1-4* ホモ接合個体をさらに EMS 処理することにより、形態異常を呈する変異株を単離することを行う。

２　結果と考察

(1)ロゼット葉のmgタンパク質あたりのCDP-エタノールアミン合成活性（PECT活性）が野生型の25.9%に低下した*pect1-4*変異株、null変異株*pect1-6*、およびこれらのF1変異株*pect1-4/pect1-6*（PECT活性は19.4%に低下）について、配偶子形成、胚発生、および胞子体形成における影響を調べた。その結果、胚発生では、*PECT1*は８細胞期以降の発達に必須であり、*PECT1*遺伝子発現の低下は、胚発達の遅延や８細胞期以降での胚性致死も引きおこすことを明らかにした。しかし、*pect1-6/PECT1*と野生型との相反交雑実験から、配偶子の発達と受精には配偶体世代のPECT1遺伝子は必要ないことを明らかにした。一方、胞子体レベルでは、*PECT1*遺伝子の発現があるレベル（20ー25%）以下に低下すると、個体の矮化を引き起こし、葯の形成不全や胚嚢の形成異常などを引きおこす割合が高くなることを明らかにした。すべての*pect1*表現型は、個体全体で*PECT1*遺伝子を発現させると完全に回復するが、一部のロゼット葉や花芽に誘導的に*PECT1*cDNAを発現させても、誘導した部位の異常は部分的にしか回復しないことから、変異組織間の相互作用がより厳しい*pect1*表現型をもたらしていると考えられる。*pect1*個体では、ミトコンドリアを特異的に染色するマイトトラッカーの染色像に異常が見られた。変異表現型とオルガネラ機能との因果関係を立証するために、*pect1-4*変異体からミトコンドリアを単離する系を確立した。今後、ミトコンドリアやその他のオルガネラ膜をもちいた脂質分析が必要である。

(2) PECT1-GFPキメラタンパク質がミトコンドリアに局在することを明らかにした。(1)の結果とあわせ、低温でも挙動は今後の研究課題である。*pect1-4*植物は低温で特異的に成長が阻害されることを明らかにした。

(3) *pect1-4*ホモ接合個体をさらにEMS処理するために、pect1-4個体の純化を行った。今後は、種子を大量に採取し、EMS による処理を施す予定である。

３　発表論文リスト

Okazaki, K., Sato, N., Tsuji, N., Tsuzuki, M. and Nishida, I. (2006) The significance of C16-fatty acids in the *sn*-2 positions of glycerolipids in the photosynthetic growth of *Synechocystis* sp. PCC6803. Plant Physiol., 141: 546-556.

Mizoi, J., Nakamura, M. and Nishida, I. (2006) Defects in CTP:PHOSPHORYLETHANOLAMINE CYTIDYLYLTRANSFERASE affect embryonic and postembryonic development in *Arabidopsis*. Plant Cell 18: 3370-3385.

４　１８年度獲得の外部資金

特定領域研究　2400千円
民間等等の共同研究　コンポン研究所　3570 千円（内、研究料 420 千円）

５　主な研究費の使途

ｽﾀﾝﾀﾞｰﾄﾞ天秤	192,150
実験用試薬・器具・試料	86,895
図書・外国雑誌	58,636
パソコン関連消耗品	62,319

５　謝辞

平成１８年度に埼玉大学より、４０万円の研究プロジェクト経費のご援助をいただいた。ここにその報告書をしたためると共に、ご援助に対して厚く御礼を申し上げる。また、本研究を遂行するに当たり、理工学研究科の事務方にはたいへんお世話になった。特に、生命科学部門の平原美智子、教務職員田中協子両名には、経費の管理、執行、研究補助において、ひとかたならぬ協力をいただいた。ここに厚く御礼申し上げる。