植物の生命活動に必須なポリアミンの輸送体を発見 ポリアミン輸送体はMVも生体内に輸送する

「ポリアミンは重要な生体物質である」と考えられているが、ポリアミンが重要であると科学的に結論づけるまでには、多くの「？」を解き明かす必要がある。これまでずっと謎であった「植物の生命活動に必須なポリアミン輸送体が発見された」と報告がされ、一つの「？」の答えが提示されたと感じたので本稿を執筆している⁽¹⁾。

ポリアミン研究は、17世紀後半に、レーベンフックによってスペルミンの存在が明らかにされたことに始まる。この「スペルミン (SPM)」や「スペルミジン (SPD)」, 「プトレシン (PUT)」が、「ポリアミン」を代表する物質である。

ポリアミンは生物の体内に広く存在し、核酸と相互作用することによってタンパク質や核酸合成に影響を与えていることが知られている。ポリアミンの内生量を実験的に変更すると成長に大きな変化が生じることから、ポリアミンの内生量は厳密に調節される必要がある。

ポリアミンの「量」は「合成」, 「分解」, 「輸送」で調節されているが、ポリアミン輸送体に着目すると、大腸菌では2種類の単分子型輸送体と2種類のABCトランスポーターが、酵母では少なくとも9種類のタンパク質が知られている。複数の因子によって輸送が調節されていることから、その内生量の制御は重要である⁽²⁾。動物細胞では、caveolin依存のエンドサイトーシスとSLC3A2を含む輸送体でポリアミンの輸送を行っている⁽³⁾。一方、植物においてはポリアミンの輸送体に関する知見は少なかった。

ポリアミンの輸送体を同定すべく研究を開始し「植物のポリアミン輸送体の発見」に至ったとすれば研究の展開としてはきれいであるが、この研究のきっかけはそうではなかった。実際には、研究開始時点では酸化ストレスに関する研究を目指していたのである。酸化ストレスは、さまざまな環境ストレスによって生じる活性酸素によって引き起こされる。「酸化ストレスについて研究することによって、さまざまな環境ストレス応答のボトルネックを明らかにできるだろう」と筆頭著者の藤田は考えていたように思う。過酸化水素水や、除草剤のパラコートとして知られるメチルピオローゲン (MV) で処

理すれば、細胞内に活性酸素が生じ酸化ストレスを与えられる。筆者ならばMVは人体への毒性が高いので過酸化水素水（こちらも高濃度の試薬は取り扱いには十分な注意が必要であるが）を実験に使っていただろうが、この研究ではMVを選択したことで、研究が予期せぬ方向に発展したのはまさに「瓢箪から駒」である。MVは除草剤のため、通常の濃度で散布すれば植物は枯れるが、低濃度のMV溶液で処理を行えば植物の根の伸長が阻害される。処理した植物はシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 野生株である。

シロイヌナズナは、アブラナ科の小さな植物で、室内で栽培でき形質転換法や研究材料も整備されている。シロイヌナズナは世界各地のいろいろな環境下で蓄えられた自然変異をもつ野生の系統が多く知られており、系統ごとに表現型も少しずつ異なっている。これらの野生株は、理化学研究所バイオリソースセンター (<http://www.brc.riken.jp/lab/epd/>) から入手可能である。

本題に戻るが、MVに対する根の伸長阻害の違いを指標に、シロイヌナズナ野生株を解析した結果、野生株間で阻害率が異なっていた。MVに対して感受性を示すCol株と耐性を示すNos-d株に着目し、ほかの酸化ストレスを生じさせる薬剤に対する反応を調べてみたところ、MVで有意な違いが認められていたのに、酸化ストレスを引き起こす薬剤処理では有意な違いが認められなかった。このことは、Col株とNos-d株の違いはMV処理特異的であることを示した。過酸化水素処理で研究を行っていたのなら、今回の表現型を得ることはできなかった。通常、酸化ストレスの研究をする場合、MV処理特異的であるとわかった時点で研究方針を変えるべきところであるが、「MV特異的な応答を明らかにすることも大事である」と考え研究を進めた。

野生株間でのポジショナルマッピングは、変異を導入した場合のそれと比べて、ゲノム構造や塩基配列の変化が大きいので結果を得られないこともある。今回は、Col株とNos-d株の品種間のゲノムの違いを利用するポジショナルマッピングと複数株間のゲノムの違いを利用するゲノムワイド関連解析 (GWAS) を併行して原因遺伝子を検出することに挑戦した結果、L-type アミノ酸輸

図1 ■ ポリアミン輸送体RMV1のシロイヌナズナ野生株の自然変異による活性変化の模式図と輸送基質

RMV1の377番アミノ酸がイソロイシン (I) の場合フェニールアラニン (F) の場合に比べてポリアミン輸送活性が高い。また、RMV1はポリアミンの輸送に加えMVも輸送できるが、これはポリアミンとMVの化学構造の類似性によるものではないかと考えられる。

送体と相同性の高い遺伝子が原因遺伝子であることを突き止め RMV1 (resistant to methyl viologen 1) と命名した。各シロイヌナズナ野生株のRMV1遺伝子を並べてみると4カ所のアミノ酸置換が存在していたが、この中でMVに対する感受性と相関しているのは1カ所のアミノ酸置換であった。放射性ラベルされたMVを用いた取り込み実験から、この1アミノ酸変異が、RMV1のMV輸送活性に影響を及ぼし、感受性の差を生みだしていることが明らかになった。

これでRMV1はMVの取り込みを行っていることが明らかになった。しかし、新たな疑問が生じる。「植物がいつふりまかれるかわからないMVに対して準備を行っているのだろうか？」おそらく答えは「No」であり、次の課題として「RMV1の生理学的な機能は何か？」を明らかにしなければならない。その間の答えを考えているとき、MVとポリアミンの相関がひらめいたようである。図1に示すように、MVはポリアミンと構造上の類似性が存在する。さらに、1992年にPUT処理でパラコート処理への耐性が向上すると報告されていた⁽⁴⁾。そこで、ポリアミン存在下でのMVの取り込み実験を行ったところ、MVの取り込みが抑えられることが明らかとなった。そこでRMV1におけるポリアミンの輸送活性を調べたところ、細胞内へ取り込みも確認された。これらの結果から、「RMV1はこれまで謎であった植物ポリアミン輸送体である」と結論づけた。生物学的に考えると「ポリアミン輸送体はMVも生体内に輸送する」と、いう言い方がしっくりくるかもしれない。

この報告と前後して、米国の研究グループがイネのPUT1はポリアミン輸送体であると報告した⁽⁵⁾。驚いたことにPUT1はここで紹介したRMV1のオルソログ遺伝子であった。この報告では、微生物のポリアミン輸送体の配列相同性を利用して単離してポリアミン輸送の機能を明らかにした。この研究方法は、正当な研究方法であると思う。RMV1の報告では、「MVへのこだわり」と「シロイヌナズナ野生株を比較する」ことで研究を進めてきた結果、「RMV1がポリアミン輸送体であった」という知見に加えて「ポリアミン輸送体遺伝子に存在する自然変異によってポリアミン輸送活性の強さが異なっていた」という重要な知見を加えることができた。研究に参画した誰もが、結果を予想できていなかったということも、面白いことだったと筆者は思っている。

- 1) M. Fujita, Y. Fujita, S. Iuchi, K. Yamada, Y. Kobayashi, K. Urano, M. Kobayashi, K. Yamaguchi-Shinozaki & K. Shinozaki: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 6343 (2012).
- 2) K. Igarashi: *Yakugaku Zasshi*, **126**, 455 (2006).
- 3) T. Uemura & E.W. Gerner: *Methods in Molecular Biology*, **720**, 339 (2011).
- 4) J. J. Hart, J. M. Ditomasso, D. L. Linscott & L. V. Kochian: *Plant Physiol.*, **99**, 1400 (1992).
- 5) V. Mulangi, M. C. Chibucos, V. Phuntumart & P. F. Morris: *Planta*, **236**, 1261 (2012).

(井内 聖, 理化学研究所バイオリソースセンター)

プロフィール

井内 聖 (Satoshi IUCHI)

＜略歴＞1992年長岡技術科学大学工学部生物機能工学科卒業／1994年同大学大学院修士課程工学研究科生物機能工学修了／1998年筑波大学大学院博士課程生物化学研究科生物物理化学修了，理学博士／同年理化学研究所基礎科学特別研究員／2001年アリゾナ大学生物科学研究科博士研究員／2002年理化学研究所バイオリソースセンター実験植物開発室勤務＜研究テーマと抱負＞植物研究を支える植物リソースに関する研究，植物の環境応答・適応について