リン欠乏条件下で必須の機能をもつ糖脂質グルクロノシルジアシルグリセロールの発見 含硫黄脂質生合成経路がもつ新規の代謝機能について

リン (P) は窒素、カリウムと並ぶ植物の必須栄養であり、リン鉱石を含む肥料は農作物の生産に不可欠である。日本はこのようなリン鉱石をほぼ全量輸入に依存しているが、良質なリン鉱石は地球上に偏在しておりレアメタル同様に国家的な戦略物資となりつつある⁽¹⁾。したがって、植物のリンの同化や利用にかかわる機構を理解することは、肥料を効率的に利用する作物を作出するための理論や技術の開発に寄与するだけでなく、限られたリン資源への過度の依存を減らすことにもつながる。

これまでに行われた多くの研究の結果、植物には大別して2種類の低リン環境への適応戦略が存在することがわかってきた(図1)。一つはリンの吸収の活性化であり、有機酸やフォスファターゼの根からの分泌などが知られる^(2,3)。もう一つは体内のリンのリサイクルの活性化であり、脂質代謝はこの戦略の鍵となることが示唆されている⁽⁴⁾。植物を低リン環境で育てると、細胞膜に多量に存在するリン脂質が減少し、それを補うようにリンを含まない糖脂質が増加する。このような脂質リモデリングの過程でリンが膜から放出され、それが代謝の恒常性の維持に利用されていると想定されている。われわれは植物の脂質の包括的な解析を目的として脂質メタボローム解析プラットフォームの整備を進めてきたが⁽⁵⁾、その応用の一環として低リン環境下での脂質リモデリングの解析を行い、このストレス環境下で必須の機能をもつ糖脂質グルクロノシルジアシルグリセロールを発見した⁽⁶⁾。ここではそれに至る過程と新規脂質の生理機能について紹介したい。

実験にはモデル植物であるシロイヌナズナを用い、最初の2週間はリンを十分に含む培地に育て、その後リンを含む培地とリンを全く含まない培地にそれぞれ移植した。移植から2週間後に脂質メタボローム解析を行ったところ、リン欠乏環境で育てた植物ではリン脂質が著しく減少し、代わりにスルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG) やジガラクトシルジアシルグリセロールといった糖脂質が増加していた。このような典型的なリン欠乏が引き起こす脂質リモデリングに加え、未知の代謝物がリン欠乏環境で育てた植物に特異的に蓄積することが見いだされた。詳細な解析を行ったところ、この

未知物質はグルクロノシルジアシルグリセロール (glucuronosyldiacylglycerol, 以下GlcADGと略す) であり、新しいタイプの植物糖脂質であることが明らかとなった。さらに、ほかの脂質と同様に、GlcADGも異なる脂肪酸を側鎖にもつ複数の類縁体から構成され、その脂肪酸構成比はSQDGのものと非常に似ていることもわかった。このことはGlcADGとSQDGが共通のメカニズムで合成されている可能性を強く示唆した。そこで、SQDG生合成遺伝子の機能欠損変異体 (*ugp3*, *sqd1*, *sqd2*) についてGlcADGの含量を測定したところ、*ugp3*と*sqd1*では野生型よりGlcADGが若干増加するのに対し、*sqd2*ではGlcADGがほぼ消失することが確認された。SQD2は葉緑体の内包膜に存在し、スルホ基を有する特殊なUDP-糖 (UDP-スルホキノボース) を糖供与体にしてジアシルグリセロールを配糖化する酵素である^(7,8)。したがって、GlcADGは葉緑体内でSQD2の働きで合成され、その場合の糖供与体はUDP-グルクロン酸であると推察された(図2A)。さらに詳細な解析を行った結果、フォスファチジルイノシトールやフォスファチジルエタノールアミンのような本来リン欠乏条件下で減少するはずのリン脂質が、*sqd2*ではほとんど減少していなかった。したがって、GlcADG生合成の阻害は脂質リモデリング全体に大きな影響を与えることも明らかとなった。

GlcADGの有無が生育に与える影響を調べるため、リン欠乏培地上に移植した変異体の観察を続けた。その結果、*ugp3*および*sqd1*は野生型と同様の生育を示したの

図1 ■ 植物の低リン環境への応答

図2 ■ リン欠乏条件下におけるグルクロノシルジアシルグリセロールの生合成機構とその生育への関与

(A) 今回明らかとなったグルクロノシルジアシルグリセロール (GlcADG) 生合成機構。植物のSQDG生合成には UGP3 (UDP-glucose pyrophosphorylase 3), SQD1 (UDP-sulfoquinovose synthase), SQD2 (SQDG synthase) の3種の酵素が必要であり、これらはすべて葉緑体のストロマや内包膜に存在する。これらの酵素遺伝子のうち、SQD2のみがGlcADG生合成に必要である。(B) リン欠乏条件下で約1カ月生育させた変異体。図は *Nat. Commun.*, 4, 1510 (2013) から転載し、一部改変を加えた。

に対し、*sqd2* は速やかに枯死することがわかった (図2B)。この結果は、GlcADGにはリン欠乏条件下で植物が受けるストレスを緩和する働きがあることを示している。また、GlcADGはシロイヌナズナだけでなく通常条件下で育てたイネの葉にも含まれ、その量はリン欠乏条件下では5倍程度に増加することも確認された。

SQDGは光合成細菌、藻類にも広く分布する酸性糖脂質であり、葉緑体膜の主要な構成成分の一つである。光合成細菌やクラミドモナスのSQDG生合成遺伝子の変異体の解析から、SQDGを蓄積しない変異体はリン欠乏条件下で生育が抑制されることが知られている⁽⁹⁻¹²⁾。一方、植物ではシロイヌナズナからSQDGを蓄積しない変異体が3種類発見されていたが、リン欠乏条件下で生育の悪化が観察されたのは*sqd2*のみであった^(8, 13, 14)。今回の研究から、*sqd2*で観察されたリン欠乏条件下での生育阻害は、GlcADGとSQDGを両方とも合成できないことに原因があることが判明した。また、SQDGの不足はGlcADGで十分補完できることもわかった。GlcADGとSQDGはそれぞれグルコースの6位にカルボ

キシル基とスルホ基という酸性の官能基を有することから、生体中では同様の働きを果たしていると推察される。

リン欠乏条件下ではフォスファチジルグリセロールという酸性リン脂質が減少し、この場合葉緑体のチラコイド膜の物理特性に変化が生じると想像される。そして、リン欠乏条件下でのGlcADGやSQDGの増加は、この変化の緩和に寄与すると考えられている。これらのうち、SQDGは含硫黄脂質であり、その増加には硫黄代謝経路の活性化も関係するはずである。硫黄同化にはさまざまな機構が必要であり⁽¹⁵⁾、当然ながら多くのエネルギーを必要とする。一方、グルクロン酸には炭素・水素・酸素原子しか含まれておらず、この合成には光合成由来する糖代謝の中間体を流用できる。GlcADGの生合成や機能には不明な点が多いが、植物はGlcADGを作り出すことで、含硫黄脂質に依存しないリン欠乏への抵抗機構を有したのかもしれない。

- 1) N. Gilbert : *Nature*, **461**, 716 (2009).
- 2) B. Dinkelaker, V. Romheld & H. Marschner : *Plant Cell Environ.*, **12**, 285 (1989).
- 3) L. Wang, Z. Li, W. Qian, W. Guo, X. Gao, L. Huang, H. Wang, H. Zhu, J. W. Wu, D. Wang & D. Liu : *Plant Physiol.*, **157**, 1283 (2011).
- 4) C. Benning & H. Ohta : *J. Biol. Chem.*, **280**, 2397 (2005).
- 5) Y. Okazaki, Y. Kamide, M. Y. Hirai & K. Saito : *Metabolomics*, **9**, 121 (2013).
- 6) Y. Okazaki, H. Otsuki, T. Narisawa, M. Kobayashi, S. Sawai, Y. Kamide, M. Kusano, T. Aoki, M. Y. Hirai & K. Saito : *Nat. Commun.*, **4**, 1510 (2013).
- 7) C. Tietje & E. Heinz : *Planta*, **206**, 72 (1998).
- 8) B. Yu, C. Xu & C. Benning : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 5732 (2002).
- 9) C. Benning, J. T. Beatty, R. C. Prince & C. R. Somerville : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 1561 (1993).
- 10) S. Güler, A. Seeliger, H. Härtel, G. Renger & C. Benning : *J. Biol. Chem.*, **271**, 7501 (1996).
- 11) W. R. Riekhof, M. E. Ruckle, T. A. Lydic, B. B. Sears & C. Benning : *Plant Physiol.*, **133**, 864 (2003).
- 12) N. Sato, M. Tsuzuki, Y. Matsuda, T. Ehara, T. Osafune & A. Kawaguchi : *Eur. J. Biochem.*, **230**, 987 (1995).
- 13) B. Essigmann, S. Güler, R. A. Narang, D. Linke & C. Benning : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 1950 (1998).
- 14) Y. Okazaki, M. Shimojima, Y. Sawada, K. Toyooka, T. Narisawa, K. Mochida, H. Tanaka, F. Matsuda, A. Hirai, M. Y. Hirai, H. Ohta & K. Saito : *Plant Cell*, **21**, 892 (2009).
- 15) H. Takahashi, S. Kopriva, M. Giordano, K. Saito & R. Hell : *Annu. Rev. Plant Biol.*, **62**, 157 (2011).

(岡咲洋三^{*1}, 斉藤和季^{*1,2}, ^{*1}理化学研究所環境資源科学研究センター, ^{*2}千葉大学大学院薬学研究院)

岡咲 洋三 (Yozo OKAZAKI)

＜略歴＞2000年京都大学農学部応用生命科学科卒業／2002年同大学大学院農学研究科修士課程修了／2005年同大学大学院農学研究科博士課程修了／同年島津製作所研究員／2007年理化学研究所植物科学研究センター入所／現在, 同環境資源科学研究センター研究員＜研究テーマと抱負＞植物メタボロミクス, 植物脂質代謝研究

斉藤 和季 (Kazuki SAITO)

＜略歴＞1979年東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了／慶應義塾大学助手, ゲント大学研究員, 千葉大学助手, 講師, 助教授を経て, 1995年千葉大学薬学部教授／2005年より理化学研究所植物科学研究センターグループディレクター兼務／現在, 同環境資源科学研究センター副センター長＜研究テーマと抱負＞植物メタボロミクスとファイトケミカルゲノミクス, 植物の化学的多様性の分子起源の解明とその応用