

小さなエネルギー分子の代謝の仕組みを発見！ ～植物のピロリン酸代謝は2種類の酵素が協働～

名古屋大学大学院生命農学研究科の瀬上 紹嗣 特任助教、前島 正義 教授および東京学芸大学の Ali Ferjani 准教授の研究グループは、植物におけるエネルギー分子ピロリン酸^{注1)}の代謝の仕組みを新たに発見しました。

ピロリン酸はDNA、タンパク質、細胞壁、デンプンなどの合成で発生するゴミです。動物などはサイトゾル^{注2)}の可溶性ピロホスファターゼ^{注3)}がピロリン酸を加水分解しなければ生きていけません。しかし、植物においては液胞^{注4)}の膜にある水素イオン輸送体 H^+ -ピロホスファターゼ^{注3)}が「エネルギー源として」ピロリン酸を使うことが、濃度維持にも一定の役割を担うこと以外は不明でした(図1、2)。

そこで、モデル植物であるシロイヌナズナの可溶性ピロホスファターゼのホモログ^{注5)}と H^+ -ピロホスファターゼとを同時に欠損した株を作製したところ、代謝と形態が激変しました。セルロース^{注6)}などの細胞壁成分が減少し、根が生育培地から水へ移すだけで破裂しました。逆に、セルロースと似た反応で作られるデンプンは過剰に蓄積していました(図3)。注目すべき点は、 H^+ -ピロホスファターゼの欠損と組み合わせないと可溶性ピロホスファターゼの欠損は変化をもたらさないことです。これは、水素イオン輸送体 H^+ -ピロホスファターゼがピロリン酸分解の主役であることを意味します。植物では「分解のみを行う」可溶性ピロホスファターゼを、あえて控えめに運用することで、安全にピロリン酸をエネルギーとして利用する余地を作っていると考えられます。

今後は、産業的にも重要なデンプンや細胞壁の調節に対して、ピロリン酸を用いてアプローチをするという新たな方策を拓くことも期待されます。

この研究成果は、平成30年6月8日付米国科学雑誌「The Plant Cell」オンライン版に正式版が掲載されました。

なお、この研究は、文部科学省科学研究費助成事業『新学術領域研究 植物発生ロジックの多元的開拓』、『基盤研究A』、『若手研究B』の支援のもとで行われたものです。

【ポイント】

- ピロリン酸の濃度を抑制することは生命活動に必須ですが、植物では他の生物種とは異なり、巨大な液胞の表面膜に存在する H^+ -ピロホスファターゼが主にその役割を担うことを明らかにしました。
- 動物などでピロリン酸分解を一手に担うサイトゾルの可溶性ピロホスファターゼは、植物では細胞に害となる危険濃度への上昇を防ぐ安全装置的な役割であることを明らかにしました。
- H^+ -ピロホスファターゼと、可溶性ピロホスファターゼを同時に欠損することで代謝が劇的に変動し、根が水中で破裂するほど細胞壁が弱くなり、代わりにデンプンが大量に蓄積することを発見しました。

【研究背景と内容】

植物細胞は、動物細胞に比べて数十から千倍の容積を持ちますが、成熟細胞の容積の90%以上は液胞と呼ばれる細胞小器官が占めているのが特徴です。液胞は、液胞膜に存在する2種類の水素イオン(H^+)輸送ポンプが水素イオンを液胞内に運ぶことで酸性に保たれています。このうちの1つである「 H^+ -ピロホスファターゼ」は、リン酸が2つ繋がった単純な化合物「ピロリン酸」の分解で生ずるエネルギーを水素イオンの輸送に用いています(図1)。

ピロリン酸は細胞がDNA、RNA、タンパク質、細胞壁などを合成する際に発生する副産物です。動物や大腸菌、酵母などでは、サイトゾルに存在する可溶性ピロホスファターゼがピロリン酸を分解しており、この酵素を失うと生命活動を維持できないことが知られています。一方、植物では、これまでに液胞膜に存在する H^+ -ピロホスファターゼが細胞のピロリン酸代謝に一定の役割を有することが分かっていたのですが、この酵素を失った個体も比較的正常に生育可能であり、他にピロリン酸代謝酵素が存在することが予想されました。また、大腸菌の可溶性ピロホスファターゼを導入した植物は生育が悪化することからも、ピロリン酸は下げすぎない適切な濃度に維持することが必要であると考えられています。

【成果の意義】

本研究では、モデル植物であるシロイヌナズナの H^+ -ピロホスファターゼと可溶性ピロホスファターゼの双方に注目し、それぞれがサイトゾルのピロリン酸濃度に対して、どれほど影響しているのかを比較しました。可溶性ピロホスファターゼのホモログ5種のうち4種を同時に欠損しても植物は全く変化しませんでした。が、 H^+ -ピロホスファターゼと可溶性ピロホスファターゼ5種のうち1種を同時に欠損させる組み合わせでは、植物の形態と代謝が劇的に変動することを見出しました。このことから、植物のピロリン酸濃度は、水素イオン輸送体であるはずの H^+ -ピロホスファターゼが主に調節し、可溶性ピロホスファターゼはピロリン酸の過剰な蓄積を防ぐ補助的な役割であることが明らかになりました。

植物には H^+ -ピロホスファターゼの水素イオン輸送機能以外にも、いくつかピロリン酸を用いた代謝反応が存在します。植物では可溶性ピロホスファターゼの能力を控えめにすることで、ピロリン酸のエネルギーを水素イオン輸送などに確実に活用できる余地を作っていると考えられます。

ところで、遺伝子を破壊した株に見られる変化の 1 つは、細胞壁、デンプンなどの糖が鎖状につながった物質の量が大きく増減することです。まず、セルロース、カロース^{注7)}などの細胞壁成分が減少し、細胞の仕切りが不完全になって多核の細胞になる、細胞が膨らむ、果ては低浸透圧条件で破裂するなどの現象が観察されました。逆に、デンプンは植物体全体で顕著に増加していました(図 3)。セルロース・カロースとデンプンはブドウ糖を原料にピロリン酸も生成しながら合成される糖鎖ですが、合成される場所は前者がサイトゾル、後者がプラスチド^{注8)}と異なっています。ピロリン酸はサイトゾルで過剰となっていますのでセルロース・カロース合成を阻害しますが、デンプン合成には直接影響しません。その結果、余った細胞壁成分がプラスチドのデンプンに集中していると考えられます。これは、ピロリン酸代謝が糖の経路に大きく影響することを示すとともに、人類にとって利用価値の高いデンプン生産の改善や強固な細胞壁を弱体化するにあたり、有用な知見ともなり得ます。

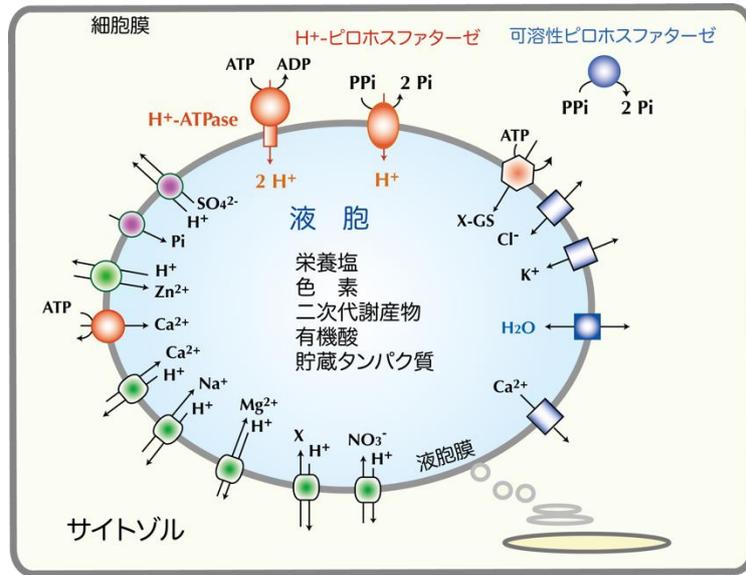


図 1 植物の液胞と膜輸送システムの模式図

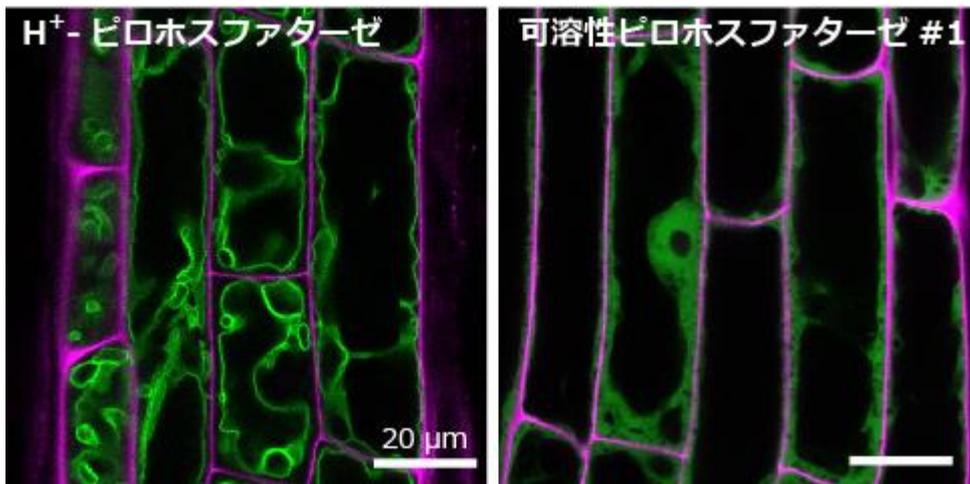


図 2 2 種類のピロホスファターゼの細胞内局在

蛍光タンパク質 GFP を用いてタンパク質を可視化している

H⁺-ピロホスファターゼは液胞膜(左図)に可溶性ピロホスファターゼは

サイトゾルと核(右図)にそれぞれ蛍光が観察された【緑:GFP、マゼンタ:細胞壁染色】

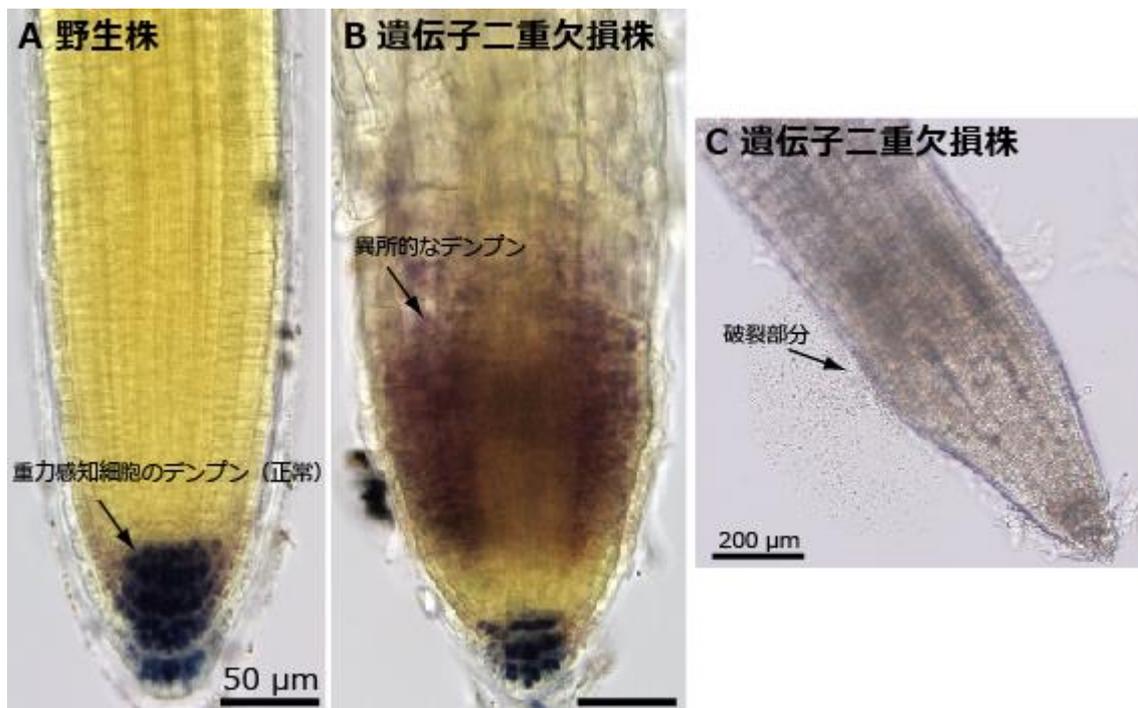


図3 遺伝子破壊株の根の表現型

A、B は ClearSee(2015/10/29 名古屋大学プレスリリース参照)による透明化後、ヨウ素デンプン反応により根端のデンプンを青～赤紫に染色したもの。(A)野生株。(B)H⁺-ピロホスファターゼと可溶性ピロホスファターゼの1種を同時に欠損した株。細胞分裂領域でもデンプンが蓄積した。細胞分裂領域が短く、細胞が横方向にも肥大した。(C)同じ遺伝子二重破壊株の根端であり、低浸透圧条件に移した際に破裂し、内容物が飛び出す様子を示している。

【用語説明】

注1)ピロリン酸:

リン酸 2 分子が脱水縮合した化合物であり、ATP と同じく高エネルギーリン酸結合を有するため、酵素が存在すれば加水分解は不可逆的に進みます。

注2)サイトゾル:

細胞質基質ともいいます。細胞内容物のうち、核や小胞体、液胞、ミトコンドリア、プラスチドなどの細胞内小器官を除いた部分にあたります。

注3)ピロホスファターゼ

「ピロホスファターゼ」は「ピロリン酸を加水分解する酵素」という意味です。「H⁺-ピロホスファターゼ」はピロリン酸を加水分解して得られるエネルギーを利用して水素イオン(プロトン)を液胞の中に能動輸送する機能を持ちます。一方、「可溶性ピロホスファターゼ」はピロリン酸分解以外の機能を持ちません。ピロリン酸は核酸、タンパク質、細胞壁などの高分子合成の過程で副産物として生じますが、これを「燃えるごみ」としてエネルギー利用するのが H⁺-ピロホスファターゼです。液胞を酸性化することは、内部の多様な加水分解系酵素の機能発現に不可欠であり、さらに、液胞膜を介してプロトンの濃度勾配を維持するという意味もあります。液胞の中に集積しているプロトンが細胞質側に出る反応と、ナトリウムイオンなどを液胞の中に能動輸送する反応が共役しています。ですから耐塩性植物にとっても液胞が酸性であることは不可欠です。

注4)液胞

どの植物細胞にも存在し、成熟細胞の体積の 90%以上を占める巨大オルガネラです。液胞の中には、当面必要としない無機イオン、糖、貯蔵タンパク質、アントシアニン、植物にとっての防御物質などを集積しています。こうした物質集積は浸透圧を高め、細胞を成長させる駆動力ともなっています。果物の糖、花卉の色素、ダイズなどの貯蔵タンパク質なども液胞に蓄積していますので応用面でも重要なオルガネラです。液胞膜にはこうした成分を選択的に輸送する多様な輸送装置が組み込まれています。液胞の中には酸性条件で機能を発揮する加水分解酵素も多種類存在しています。

注5)ホモログ:

共通の祖先を持つ遺伝子であり、DNA やアミノ酸配列が似ており、同一あるいは類似した機能を持つことが多いとされています。

注6)セルロース:

ブドウ糖が β 1、4結合により直鎖上に繋がった糖鎖です。紙の原料であり、地球上で最も多い炭素化合物です。

注7)カロース:

ブドウ糖が β 1、3結合により直鎖上に繋がった糖鎖であり、一般的な細胞壁には含まれず、合成途中の細胞板、傷害部位、花粉などに存在します。

注8)プラスチド:

細胞内小器官の一つで、地上部では葉緑素を有する葉緑体として存在し、光合成を担います。非光合成組織では白色体やアミロプラストなどとして存在します。シアノバクテリアが古代に内部共生したものであり、独自の DNA をもちます。膜によって区切られているため、プラスチドのピロリン酸はサイトゾルと独立していると考えられており、プラスチド型の固有のピロホスファターゼを有することが知られています。

【論文情報】

雑誌名 : The Plant Cell Vol. 30: 1040–1061、 May 2018

論文タイトル : Vacuolar H⁺-pyrophosphatase and cytosolic soluble pyrophosphatases cooperatively regulate pyrophosphate levels in *Arabidopsis thaliana*.

著者 : Shoji Segami (瀬上紹嗣)¹, Takaaki Tomoyama (巴山貴晶)¹, Shingo Sakamoto (坂本真吾)², Shizuka Gunji (郡司玄)³, Mayu Fukuda (福田茉由)¹, Satoru Kinoshita (木下悟)¹, Nobutaka Mitsuda (光田展隆)², Ali Ferjani³, and Masayoshi Maeshima (前島正義)¹

1 名古屋大学、2 産業技術総合研究所、3 東京学芸大学

DOI: [10.1105/tpc.17.00911](https://doi.org/10.1105/tpc.17.00911)