

減少によるシグナル活性の低下をひき起こし、この現象は、双子葉、単子葉のいずれにおいても広く種を越えて共通にみられることが強く支持された。

天然オーキシンのインドール酢酸 (IAA) は、主にトリプトファンを介して生合成される。生合成のための経路は複数存在し、葯の発生過程においては YUCCA 酵素タンパク質 (flavin monooxygenase) を介した、葯内でのオーキシン生合成が不可欠であることが、近年、明らかにされた<sup>(6)</sup>。シロイヌナズナの YUCCA 遺伝子は少なくとも 10 種類以上ゲノム上に存在し、なかでも *yuc2* と *yuc6* を含む二重以上の欠失変異体では花粉形成が不全となり、表現型は高温障害のケースと大変よく似ている<sup>(1,6)</sup>。そこで、高温条件下での YUCCA 遺伝子の発現を定量したところ、両植物体ともに、高温でこれら遺伝子群の発現阻害が生じていた (図 1)<sup>(1)</sup>。高温によるオーキシンの生合成遺伝子の発現阻害と内生オーキシン、オーキシンシグナル活性の低下が生じたことから、外からオーキシンを散布することで高温障害が回避できるか検証した。その結果、高温下の植物体に IAA, NAA, 2,4-D のオーキシン化合物をそれぞれ噴霧処理したところ、シロイヌナズナ、オオムギのいずれにおいても高温障害が回避され、成熟花粉が形成され正常な種子の結実がみられた (図 1)<sup>(1)</sup>。高温で発現が抑制されていた DNA 複製に関わる遺伝子群の抑制解除もみられ、遺伝子の発現レベルにおいてもオーキシンの散布による回復効果が確認された<sup>(1,5)</sup>。

植物ホルモン オーキシンの生体内における役割は、

すでに多く明らかとなっている。今回の筆者らのデータは、植物の雄性器官における高温障害がオーキシンの低下に起因することを示している。これまで同程度の比較的マイルドな高温ストレスでは胚軸や根におけるオーキシン活性の上昇<sup>(1)</sup>と胚軸の伸長促進が知られていたが、葯ではまったく逆であり、環境変動とオーキシン制御の新たな機構が生殖器官において見いだされ、大変興味深いといえる。今日、地球規模の温暖化による気温上昇が、コムギ、オオムギなど主要穀物の収量に著しい被害を及ぼしているため、今回見いだしたオーキシンの散布や新たに生合成遺伝子の発現制御などを通して、安定的な穀物生産にも応用していきたいと考えている。

- 1) T. Sakata, T. Oshino, S. Miura, M. Tomabechei, Y. Tsunaga, N. Higashitani, Y. Miyazawa, H. Takahashi, M. Watanabe & A. Higashitani: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 8569 (2010).
- 2) D. B. Lobell & C. B. Field: *Environ. Res. Lett.*, **2**, 014002 (2007).
- 3) T. Sakata & A. Higashitani: *Intl. J. Plant Dev. Biol.*, **2**, 42 (2008).
- 4) T. Oshino, M. Abiko, M. Saito, E. Ichiishi, M. Endo, M. Kawagishi-Kobayashi & A. Higashitani: *Mol. Genet. Genomics*, **278**, 31 (2007).
- 5) T. Oshino, S. Miura, S. Kikuchi, K. Hamada, K. Yano, M. Watanabe & A. Higashitani: *Plant, Cell Environ.*, **34**, 284 (2011).
- 6) V. Cecchetti, M. M. Altamura, G. Falasca, P. Costantino & M. Cardarelli: *Plant Cell*, **20**, 1760 (2008).

(阪田 忠, 東谷篤志, 東北大学大学院生命科学研究所)



## 動植物共通の免疫センサーの制御に働くタンパク質複合体 立体構造解析から機能に迫る

植物はウイルス、細菌、糸状菌、線虫などの様々な病原体の脅威に常にさらされているが、これら病原体の侵入を認識して速やかに防御反応を誘導できる。この植物の免疫システムにおいて、NLR (The nucleotide-binding domain, leucine rich repeat containing) protein と総称されるタンパク質群は、病原体の認識を担う免疫センサーとして働く。この NLR protein の働きには、RAR1, SGT1 および HSP90 の 3 つのタンパク質からなる複合体が必要である<sup>(1)</sup>。実際、この複合体の因子のいずれかが機能を失うと様々な NLR protein の量が減少

し、植物の病害抵抗性は低下する。興味深いことに、動物の NLR protein である Nod like receptor family も、自然免疫において細胞内型の免疫センサーとして働く。そして、この NLR protein の機能にも SGT1 と HSP90 が必要である。つまり、動植物は共通なタイプの免疫センサーおよび制御システムをもっている。

この複合体はどのように NLR protein の機能を制御しているのだろうか？ HSP90 は分子シャペロンの 1 つで、シグナル伝達系における制御因子 (ホルモン受容体、キナーゼ、転写因子など) の構造形成、構造安定化お

よび活性を制御する。HSP90 の働きに必須な ATP 分解活性や基質タンパク質との結合特異性は、HSP90 の結合因子であるコシャペロンにより調節されている。RAR1 と SGT1 は、互いに結合してかつ HSP90 のホモ二量体と複合体を形成することから、コシャペロンとして NLR protein の安定化と成熟化に働いていると考えられている。近年、これら因子および複合体の立体構造解析を軸とした機能解析が進んだことにより、RAR1-SGT1-HSP90 複合体の分子機構が徐々に明らかになってきている。立体構造解析はタンパク質の構造を教えてくださいだけでなく、アミノ酸配列情報では予想できないタンパク質の機能を明らかにしてくれることがある。また、複合体の解析においては、複合体形成部位および結合に必須なアミノ酸残基などを教えてくれる。このようなアミノ酸残基の変異体はその後の機能解析において強力なツールとなる。

NMR による立体構造解析により、SGT1 の CS ドメインは7つの  $\beta$  シートからなるサンドイッチ状の形をしていること、さらに片方の面に HSP90 が、そして他方の面に RAR1 がそれぞれ結合することが明らかとなった<sup>(2)</sup>。また、この CS ドメインの立体構造は HSP90 のコシャペロンである p23 と酷似していた。HSP90 との結合に重要なアミノ酸残基は SGT1 と p23 の間で高度に保存されていることから、SGT1 と p23 は HSP90 の同じ部位に結合し同様の機能をもつと予想された。しかし、p23 は HSP90 の N 末端ドメインに結合して ATP 分解活性を抑制するのに対して、SGT1 は ATP 分解活性には影響を及ぼさないことがわかり、SGT1 と p23 の機能的な違いが明らかになった。

次に、NMR 解析データをもとにした複合体立体構造モデリング、および X 線結晶解析により、SGT1 の CS ドメインと HSP90 の N 末端ドメインの複合体の立体構造が解明された<sup>(3,4)</sup>。従来は SGT1 と p23 は HSP90 の同じ部位に結合すると予想されていたが、実際にはこの2つのタンパク質は HSP90 の異なる部位に結合しており、異なる働きをすることがわかった。では、NLR protein の安定化および成熟化過程で SGT1 はどのような働きをしているのだろうか？ SGT1 は C 末端にある SGS ドメインを介して NLR protein と結合することが示唆されている。したがって、SGT1 は NLR protein を HSP90 へとアップロードする役割を果たしているのかもしれない。立体構造情報をもとに SGT1 の HSP90 結

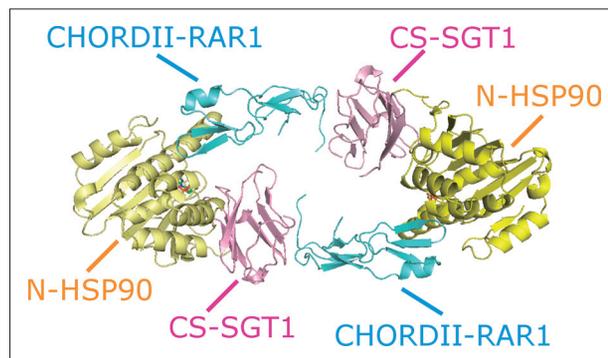


図1 ■ RAR1-SGT1-HSP90 複合体の立体構造  
RAR1 の CHORDII ドメイン、SGT1 の CS ドメインおよび HSP90 の N 末端ドメインをそれぞれ2つずつ含む複合体の立体構造

合部位に変異を導入して HSP90 との結合を阻害すると、NLR protein は不安定化し、病害抵抗性は低下した。このことから、SGT1 が HSP90 と結合することが NLR protein の安定化と抵抗性反応の誘導に必須であることが明らかとなった。

では RAR1 は、この複合体でどのような役割を果たしているのだろうか？ 最近、X 線結晶解析により、RAR1、SGT1 および HSP90 のそれぞれのドメインを含む複合体の立体構造が解明された<sup>(5)</sup>。結晶構造は RAR1、SGT1 および HSP90 のドメインをそれぞれ2つずつ含むヘテロ六量体であったが(図1)、全長のタンパク質を用いた生化学的解析から1分子の RAR1 および SGT1 が HSP90 ホモダイマーに結合したヘテロ四量体が最も安定であることが示唆された(図2)。立体構造情報および変異体を用いた解析から、RAR1 は2つの CHORD ドメイン (CHORDI と CHORDII) を介して HSP90 と結合し、さらに CHORDII ドメインを介して SGT1 と結合することにより、SGT1 と HSP90 との結合を増強することがわかった。さらに、RAR1 が SGT1 と結合すると SGT1 と NLR protein の結合が増強される。このように、RAR1 は NLR protein を含む複合体の形成を促進させる機能をもつことが明らかとなった。部位特異的変異導入により、RAR1 と SGT1 の結合を阻害すると複合体の形成は促進されず、病原体に対する抵抗性も低下した。このことから、RAR1 と SGT1 の結合が複合体形成および抵抗性反応の誘導に必須であることが明らかとなった。興味深いことに、複合体の立体構造において RAR1 は HSP90 に結合したヌクレオチドとイオン結合

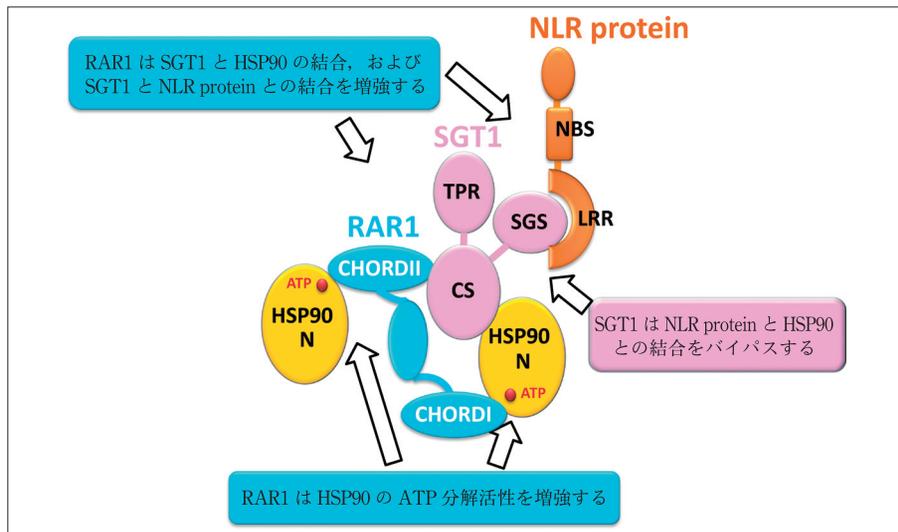


図 2 ■ RAR1-SGT1-HSP90-NLR protein 複合体の構成モデル

していた。そこで HSP90 の ATP 分解活性を測定すると、RAR1 の濃度依存的に HSP90 の ATP 分解活性が増大した。このことから、RAR1 は複合体の形成を促進するとともに、HSP90 の ATP 分解活性を促進することで複合体の機能を増強することがわかったのである。動物の NLR protein の安定化における RAR1 ホモログの関与は未だ明らかではないが、HSP90 との結合に重要なアミノ酸残基および ATP に作用するアミノ酸残基が保存されていることから、RAR1 と同様に HSP90 の ATP 分解活性を増大させると考えられる。

では、この複合体がどのように NLR protein に作用して安定化および成熟化しているのだろうか？ 植物の NLR protein は各ドメインの間で分子内結合を形成することが報告されている。また、この分子内結合は SGT1 の発現を抑制した植物では形成されない<sup>6)</sup>。よって、RAR1-SGT1-HSP90 複合体は NLR protein の分子内結合形成に働いていると推察される。しかし、より詳細な制御機構を明らかにするためには、NLR protein を含む

複合体の立体構造解明が待たれる。

植物の耐病性において、免疫センサーである NLR protein は中心的な役割を果たし、RAR1-SGT1-HSP90 複合体はこれら NLR protein の制御を担っている。したがって、この複合体による免疫センサーの制御機構の解明は、動植物共通の免疫システムの理解につながるだけでなく、作物の耐病性向上の視点からもきわめて重要と思われる。将来、この免疫センサーの制御機構を改良し、様々な免疫センサーを効率的に安定化および成熟化することで、様々な病気に強い植物を生み出せるかもしれない。

- 1) K. Shirasu *et al.* : *Annu. Rev. Plant Biol.*, **60**,139 (2009).
- 2) M. Botër & B. Amigues *et al.* : *Plant Cell*, **19**, 3791 (2007).
- 3) Y. Kadota *et al.* : *EMBO Rep.*, **9**, 1209 (2008).
- 4) M. Zhang *et al.* : *EMBO J.*, **27**, 2789 (2008).
- 5) M. Zhang, Y. Kadota *et al.* : *Mol. Cell*, **30**, 269 (2010).
- 6) R. T. Leister *et al.* : *Plant Cell*, **17**, 1268 (2005).

(門田康弘, 白須 賢, (独)理化学研究所植物科学研究センター)



## ウロコから眼

さかなのウロコのコラーゲンを利用して人工角膜をつくる

コラーゲンは食品（たとえばコラーゲンを変性させたゼラチンや健康食品）やバイオテクノロジー研究に用いられる細胞培養用器材など、様々な分野で利用されるタンパク質である。これまでウシやブタ由来のものが利用

されてきたが、ウシ海綿状脳症 (BSE) の発症以降は魚類由来のコラーゲンが注目され、化粧品や健康食品の原料としての利用が進んでいる<sup>1)</sup>。その理由は、ヒトから進化的に遠く離れた下等脊椎動物である魚類にはヒトと共