

分子育種ターゲットとしての植物液胞

松井 健史

植物細胞は、細菌、酵母や哺乳類細胞と比べ非常に大きく、その長さは100 μm にもなる。植物細胞内で最大の体積（約80%）を占めるオルガネラが液胞（vacuole）であり、細胞の肥大化に一役買っている。液胞は単なる水風船ではなく、細胞質のイオン恒常性維持、不要物の分解、フラボノイドやアルカロイドなどの二次代謝産物の合成・蓄積の場として重要である。ウイルスに対する防御反応や導管形成時のプログラム細胞死の過程では、液胞膜の崩壊に伴う加水分解酵素の放出が重要である¹⁾。また植物は重力を感知し、茎は上を、根は下を向いて伸びるが、このような重力感知にも液胞機能が深く関わる²⁾。このように多機能である液胞は、有用植物の分子育種を行う上で重要なターゲットの一つであり、‘液胞へのタンパク質輸送制御技術’や、‘液胞機能分化の制御技術’などの確立が必要になると考えられる。

植物細胞は、lytic vacuole (LV) やprotein storage vacuole (PSV) など、機能・形態の異なる液胞を有する（図1）。ほ乳類リソソームに相当するLVの内腔は強酸性で、加水分解酵素を含む。植物細胞固有のPSVは種子などの貯蔵器官で特に発達している。また通常の葉や茎では、LVとPSVが融合し巨大なcentral vacuole (CV)が形成される。液胞の可溶性タンパク質は小胞体で前駆体として合成された後、液胞へ小胞輸送される。プロペプチド領域が液胞への輸送シグナル（vacuolar sorting determinant; VSD）として機能し、LV輸送シグナルは‘sequence specific VSD; ssVSD’、PSV輸送シグナルは‘C-terminal VSD; ctVSD’と呼ばれる³⁾。ssVSDはプロテアーゼ、サツマイモの貯蔵タンパク質やアルカロイド合成酵素などが有する。コンセンサス配列が見いだされており、それを認識する受容体タンパク質の解析が進んでいる。一方、ctVSDは種子貯蔵タンパク質や、病原菌

感染時に誘導されるタンパク質群（pathogenesis-related proteins; PR proteins）に見られる。CtVSDに関しては、タンパク質のC末端に配置された時にのみ機能するということが明らかにされているが、3から30アミノ酸残基とその長さは多様であり、アミノ酸配列の法則性も見いだされておらず、輸送制御機構は未知である。ともあれ、これらのシグナル領域を遺伝子工学的に融合することで、任意の可溶性タンパク質を各タイプの液胞へターゲティングすることが、現状の技術でも可能である。一方、液胞膜タンパク質の輸送シグナルに関する研究はあまりなく、液胞膜への輸送技術の確立は今後の課題である。

種子PSV以外にも特殊な液胞が発達した細胞（異型細胞）が葉組織や維管束組織内に存在する。この細胞はCVの中にPR proteins、シュウ酸カルシウム（えぐ味）やタンニン系化合物（しぶ味；柿しぶや茶カテキンなど）を結晶体として大量に蓄積し、生体防御応答に関与する。また、ワサビをはじめとするアブラナ科植物には‘ミロシン細胞’と呼ばれる異型細胞が存在する。ミロシナーゼという酵素がミロシン細胞のCVに、その基質であるグルコシノレートが別の細胞のPSVに蓄えられている。植物組織が破壊されると基質と酵素が混合され、昆虫や微生物に対して毒性を示すイソシアネート（辛味）が生成する。近年、モデル植物シロイヌナズナの変異株を用いた解析から、AtVAM3タンパク質がミロシン細胞の分化を調節する因子であることが明らかになった。AtVAM3はもともと、液胞へのタンパク質輸送や、液胞同士の融合を調節する因子として単離された。また *atvam3* 変異体は、重力感知ができなくなることも報告されており、液胞の機能分化を制御する鍵因子が発見されたと言える。

今後、液胞膜へのタンパク質輸送制御技術や、液胞機能分化制御技術が確立されれば、組換えタンパク質の高生産、二次代謝の改変、耐塩性植物の作出など、有用植物の分子育種のための有効なツールになることが期待される。

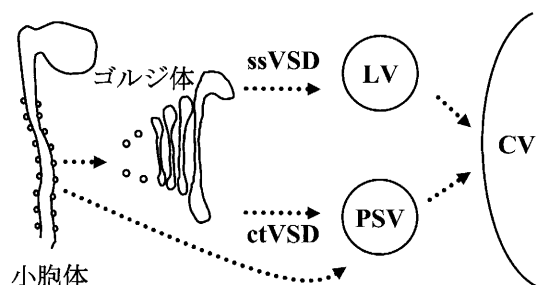


図1. 植物の液胞系

- 1) Hara-Nishimura, I. *et al.*: *Curr. Opin. Plant Biol.*, **8**, 404 (2005).
- 2) Morita M. T. and Tasaka, M.: *Curr. Opin. Plant Biol.*, **7**, 712 (2004).
- 3) Yoshida, K. *et al.*: *J. Mol. Catal. B Enzym.*, **28**, 167 (2004).