

作成者	所属（専攻）・氏名 連合農学研究科生物資源科学専攻 伊藤 菊一 （農学部附属寒冷バイオシステム研究センター） 連絡先（内線・メール） 6143 kikuito@iwate-u.ac.jp
研究課題名 （英語名）	<b>植物の発熱制御機構に関する研究</b> Thermoregulation in plants
研究分野及びキーワード	研究サブグループ：植物の熱制御システム 研究キーワード：（発熱植物）（温度制御）（発熱誘導因子）
研究協力者 （氏名・所属等）	鳥巢 諒（連合農学研究科生物環境科学専攻・教授） 山下 哲郎（連合農学研究科生物資源科学専攻・助教授） Prof. R. Seymour (Department of Environmental Biology, Adelaide University, Australia)

## 研究成果報告

### 目的

植物には体温調節機能はなく、その体温は外気温とともに変動すると考えられているが、驚くべきことに、早春に花を咲かせるザゼンソウ (*Symplocarpus foetidus*) は、氷点下を含む寒冷環境においてもその肉穂花序の温度を 20°C内外に維持する能力を有する (図 1~2)。これまでの研究より、本植物の発熱システムは、肉穂花序そのものの微小温度変化 (閾値  $\pm 0.9^{\circ}\text{C}$ ) に応答していることが判明しており、植物における精密な温度制御メカニズムの存在が推定されている。このような発熱植物は、ザゼンソウ以外にも、ドラゴンリリー (*Dracunculus vulgaris*) やハス (*Nelumbo nucifera*) などの限定された植物種に存在していることが知られているが、植物における熱制御システムは、従来ほとんど不明のまま残り残されていた。本研究は、ザゼンソウやハス、及びドラゴンリリーなどの発熱植物を対象に、その熱制御メカニズムを明らかにすることを目的に立案・企画されたものである。このような目的を達成するため、本研究においては、従来型の分子生物学および生化学的実験と並行して、カオス理論に基づいた数理的解析手法を取り入れている。

本年度の研究は、当初年度計画に基づき、「植物の熱制御メカニズムの検討（カオス性の抽出等）により、温度シグナル伝達経路、発熱システムに関わる因子等を検索する」ことを目的に実験を行い、後述するようないくつかの興味深い成果が得られた。

### 研究結果

#### ザゼンソウおよびハスを用いたカオス解析

これまでに報告されている発熱植物群の中で、外気温の変動にも関わらず当該発熱器官の体温を一定に制御できる植物は「ザゼンソウ」と「ハス」のみである。このようないわば「恒温植物」においては、自らの体温変動データそのものが外部（環境）から入力された熱エネルギー変化量に対する生命システム（ザゼンソウ、あるいは、ハス）の熱エネルギー応答を示していると考えられる。そこで、本年度の研究においては、野外で自生しているザゼンソウおよびハス由来の体温時系列データを、決定論的非線形予測、埋め込み次元解析、およびアトラクター解析などから構成される独自に開発したカオス時系列解析プログラムにより詳細に分析した。その結果、ザゼンソウおよびハスの体温時系列データには、低次元のカオス性が内在することが明らかとなった。特に、ザゼンソウにおける埋め込み次元解析から、本植物の温度制御は、2次元モデルにより再構築されることが判明し、熱制御システムにおける温度シグナル伝達経路および発熱因子の相互関係をモデル化することに成功した (図 3)。現在、ハスにおける体温時系列データをより詳細に解析し、本研究において問題としている植物の熱制御システムの構造を

恒温植物間で比較しようとしている。なお、ハスのカオス解析は、COE 協力教員である鳥巢諒教授との共同研究によって得られた成果である。本実験は来年度も継続する予定である。

#### 発熱システムに関わる因子の検索・解析

植物の発熱に関わる因子としては、ミトコンドリア内膜に存在するシアン耐性呼吸酵素 (Alternative oxidase: AOX) が重要であると考えられていたが、ザゼンソウの発熱器官である肉穂花序においては、AOXのみならず、哺乳動物型の脱共役蛋白質 (Uncoupling protein: UCP) が特異的に発現していることから、植物の熱制御システムは、AOX と UCP の両面から考察する必要がある。本年度は、これまで全く不明であったハスおよびドラゴンリリーにおける AOX と UCP の関与をその蛋白質レベルにおける発現から解析した。ハスの発熱は、その花托において特異的であり、数日間当該温度を 30℃以上を保つ能力を有する (図 4~5)。また、ドラゴンリリーの発熱は雄花序及び付属体において観察され、雄花序の温度は発熱により一過的に 30℃付近まで上昇することが判明した (図 6~7)。さらに、ハスおよびドラゴンリリーの発熱器官においては、AOX の発現が特異的であることが明らかとなり (図 8~9)、発熱植物においては、当該発熱器官において AOX と UCP の特異的な発現が観察されるザゼンソウ型の発熱制御と、ハスやドラゴンリリーのように、UCP への依存度が低い、AOX を中心とする 2 つの熱制御システムが存在することが明らかとなった。これらの結果は、発熱植物における熱制御メカニズムの多様性を示唆しており非常に興味深い。なお、ハスの解析については、共同研究者であるアデレード大学 Seymour 教授の研究室に、当該 COE 研究員を 2 週間派遣して実行した研究であり、国際共同研究として意義深いものであったと評価している。また、ザゼンソウ AOX の解析等については、COE 協力教員である、山下哲郎助教授との共同研究により得られた成果である。後述するように来年度以降においては、UCP および AOX の熱産生に関わるより詳細な分子機構を追求する予定である。

#### 来年度以降に向けての反省点、改善すべき点、そして、対策方法

ザゼンソウを中心とする発熱植物研究は、岩手大学における研究過程で着想 & 研究を開始した独創的研究である。しかしながら、残念なことに、岩手大学における本研究は、個々の小さな「点」としての位置づけであり、その将来展望に関しては楽観的な捉え方は全くしていない。本研究が来年度以降「線」あるいは「面」としてその個性・体制をより鮮明にしていくためには、研究のさらなる深化と発熱植物のユニークさをより積極的に内外にアピールし、世間から一定の評価を得ること以外に抜本的な方策はないと考えている。研究の現況については相当深い危機意識を持っている。

#### 来年度研究計画の概略

発熱植物ザゼンソウの熱産生制御メカニズムに関わる因子の機能解析に重点を置いた研究を推進する。特に、ミトコンドリア内膜で機能する新規の脱共役蛋白質 (UCPb) については、その内膜におけるトポロジーについて解析を行うと共に、発熱に密接に関与するシアン耐性呼吸酵素 (AOX) のミトコンドリアにおける機能についても詳細な呼吸測定解析等により明らかにする。また、ザゼンソウおよびハスの温度シグナル伝達経路を含むカオス解析を継続する。来年度においても、「外部から入力された熱エネルギー変化がザゼンソウ植物体においていかに受容され、その情報を生体がどのように熱エネルギー応答として変換しているのか」、という熱-生命システムの理解に向けた研究を推進する。

#### 本研究拠点形成に関連して受けた研究助成 (助成金名称および金額)

生研センター：新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業・若手研究者支援型 44,000 千円  
科学研究費：萌芽研究 500 千円  
農水省：有用遺伝子活用のための植物 (イネ)・動物ゲノム研究 1,000 千円  
文科省：地域貢献特別支援事業 550 千円  
オーストラリア ARC 研究費：Discovery Project 4,000 千円

## その他特記すべき事項

### 学会賞受賞

伊藤菊一. 日本生化学会東北支部奨励賞受賞 (2004)

### 特許取得

Ito, K. (2004)

Pyrexia-associated genes and pyrexia-associated proteins of plants (# 6,825,321 米国特許).

### 特許申請

伊藤菊一, 伊藤孝徳, 長田洋, 千葉茂樹 (2004)

温度制御方法、及び温度制御装置 (PCT/JP2004/018297 国際出願)

伊藤菊一, 加藤喜明, 松川和重 (2005)

ミトコンドリアの機能改変方法 (特願 2005-061168)

## 研究成果

### 原著論文

Ito, K., Ito, T., Onda, Y. and Uemura, M. 2004. Temperature-triggered periodical thermogenic oscillations in skunk cabbage (*Symplocarpus foetidus*). *Plant Cell Physiol.* **45**:257-264.

Onda, Y. and Ito, K. 2005. Changes in the composition of xylem sap during development of the spadix of skunk cabbage (*Symplocarpus foetidus*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (in press).

Ito, K. and Seymour, R.S. 2005. Expression of uncoupling protein and alternative oxidase depends on lipid or carbohydrate substrates in thermogenic plants. *Biol. Lett.* (in press).

### 総説

伊藤菊一. 2004. 植物の発熱現象と植物ホルモン. 植物の生長調節 **39**:167-173.

### 国際学会発表

Ito, K. and Seymour, R.S. 2004. Cloning and expression analysis of genes for alternative oxidase (AOX) and uncoupling protein (UCP) from thermogenic arum lily *Philodendron selloum*. *IXth International Aroid Symposium*.

Ito, T. and Ito, K. 2004. Dynamics of the thermal oscillation in the spadix of skunk cabbage, *Symplocarpus foetidus*. *7th International Plant Cold Hardiness Seminar*.

Onda, Y. and Ito, K. 2005. Developmental changes in the composition in xylem sap are related to the stigma-specific and cold-inducible heat production in skunk cabbage (*Symplocarpus foetidus*). *Gordon Research Conference*.

### 国内学会発表

高橋賢, 上川和良, 千葉茂樹, 伊藤孝徳, 伊藤菊一, 長田洋. 2004. 恒温植物の温度制御アルゴリズムの工学的応用に関する研究. 応用物理学会第 59 回東北支部学術講演会.

伊藤孝徳, 伊藤菊一. 2004. 非線形時系列解析によるザゼンソウ肉穂花序における温度制御システムの同定. 第 27 回日本分子生物学会年会.

伊藤孝徳, 伊藤菊一. 2004. Modeling of the thermoregulation in the spadix of skunk cabbage, *Symplocarpus foetidus*. 第 77 回日本生化学会大会. (ワークショップ講演採択)

加藤喜明, 伊藤孝徳, 恩田義彦, 阿部幸江, 伊藤菊一. 2004. ザゼンソウ肉穂花序における周期的体温変動とシアン耐性呼吸酵素および脱共役タンパク質の発現に関する解析. 日本農芸化学会東北支部第 139 回大会.

伊藤孝徳, 長田洋, 伊藤菊一. 2004. ゼンソウ型温度制御アルゴリズムの抽出と再構築の試み. 日本農芸化学会東北支部第 139 回大会.

大塚稔, 伊藤菊一. 2004. ザゼンソウの発熱現象における Calorigen としてのサリチル酸の効果. 東北支部第 5 回農芸化学会創立 80 周年記念若手シンポジウム.

伊藤菊一. 2004. Structural requirements for the perception of ambient temperature signals in homeothermic heat production of skunk cabbage (*Symplocarpus foetidus*). 日本生化学会東北支部会第 70 回例会.

Ito, K. 2005. Homeothermic heat-production in the spadix of skunk cabbage, *Symplocarpus foetidus*. 第 45 回日本植物生理学会年会. (シンポジウム講演)

加藤喜明, 松川和重, 伊藤菊一. 2005. 酵母発現系によるザゼンソウ脱共役タンパク質 (SfUCPa, SfUCPb) の機能解析. 日本農芸化学会 2005 年度大会. (学会主催記者会見採択)

#### その他

伊藤菊一. 2004. 低温下におけるザゼンソウの発熱制御システム. 第 30 回作物研究所セミナー. (招待講演)

伊藤菊一. 2004. ザゼンソウの恒温維持機構に関する研究. 東京大学理学部特別セミナー. (招待講演)

伊藤菊一. 2004. ザゼンソウの恒温維持システム. 東京大学弥生植物科学研究会. (招待講演)

伊藤菊一. 2004. ザゼンソウの発熱制御メカニズム. 岩手大学 21 世紀 COE プログラム第 1 回シンポジウム.

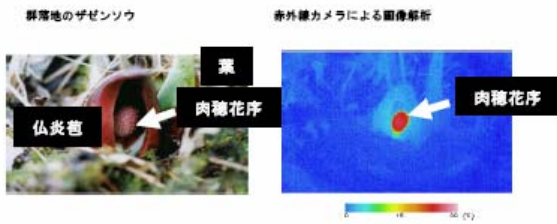


図1 ザゼンソウ肉穂花序における特異的発熱現象

岩手県盛岡市近郊に自生しているザゼンソウの写真(左図)とその赤外線解析画像(右図)。肉穂花序と呼ばれる器官が特異的に発熱している。外気温が0℃の低温下でも肉穂花序温度は発熱により27℃にまで上昇していた。

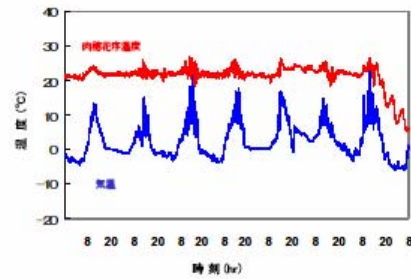


図2 ザゼンソウ肉穂花序で観察される恒温性

岩手県盛岡市近郊に自生しているザゼンソウの肉穂花序温度と外気温を連続的に測定した。水点下を含む外気温の変動にも関わらず、発熱器官である肉穂花序の温度はほぼ23℃内外に保たれる。

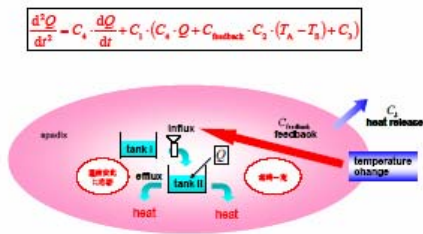


図3 ザゼンソウ肉穂花序の産期における温度制御アルゴリズムの方程式及びそのモデル図

$C_1$ 、 $C_2$ 、および $C_3$ はそれぞれ、熱伝導率、熱伝達率、発熱率に関するパラメータであり、実験測定により一意的に決定される。ザゼンソウの場合、熱伝導率 $C_1$ は0.33、熱伝達率 $C_2$ は0.2、発熱率 $C_3$ は0.2として決定された。ザゼンソウの温度変化を再現するためには定数 $C_4$ を試行錯誤的に決定し、全てのパラメータが決定される。

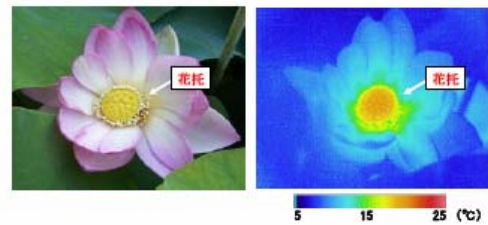


図4 ハス花托における特異的発熱現象

オーストラリア・アデレード植物園に自生しているハスの写真(左図)とその赤外線解析画像(右図)。花托と呼ばれる器官が特異的に発熱している。外気温が10℃の環境においてもその花托の温度は発熱により20℃にまで上昇していた。

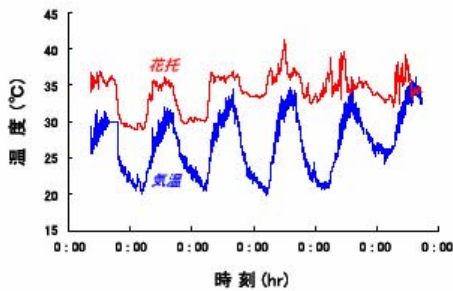


図5 ハスの花托温度と外気温の変動

ハスの花托温度はザゼンソウほど精密な温度制御機能は持たないが、外気温より10℃から20℃程度高い温度に維持される。

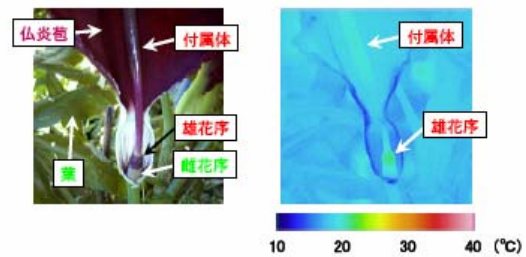


図6 ドラゴンリリーにおける発熱現象

オーストラリア・アデレード近郊に自生しているドラゴンリリーの写真(左図)とその赤外線解析画像(右図)。付属体および雄花序と呼ばれる器官が特異的に発熱している。

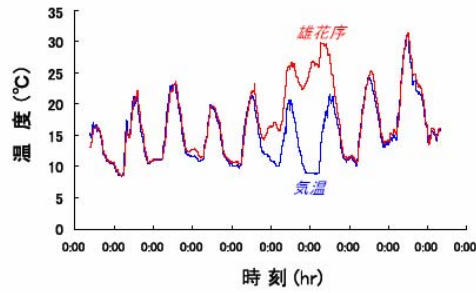


図7 ドラゴンリリーの雄花序の温度と外気温の変動

ドラゴンリリーの雄花序における発熱は、ザゼンソウやハスに比べると一過的である。

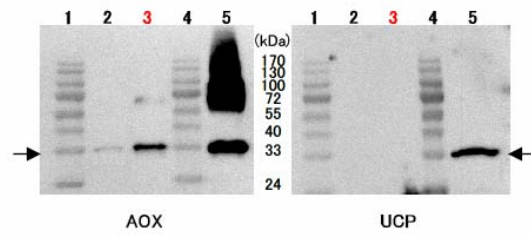


図8 ハスの花托における発熱関連因子(AOXおよびUCP)の発現解析

花托由来のミトコンドリア画分におけるAOXとUCP蛋白質の発現をそれぞれの特異抗体を用いたウエスタン法により解析した。1:分子量マーカー、2:発熱前の花托、3:発熱中の花托、4:分子量マーカー、5:ポジティブコントロール

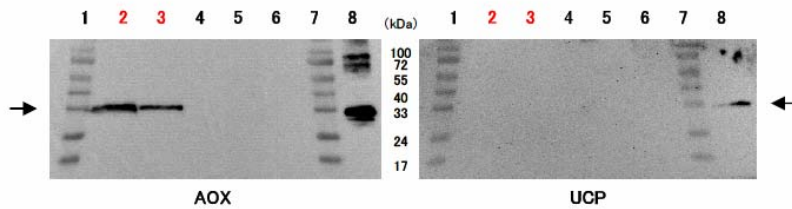


図9 ドラゴンリリーの各器官における発熱関連因子(AOXおよびUCP)の発現解析

ドラゴンリリーの異なる器官から粗蛋白質抽出画分を調製し、AOXおよびUCPの発現をのミトコンドリア画分におけるAOXとUCP蛋白質の発現をそれぞれの特異抗体を用いたウエスタン法により解析した。1:分子量マーカー、2:雄花序、3:付属体、4:雌花序、5:葉、6:仏炎苞、7:分子量マーカー、8:ポジティブコントロール