

発熱植物 *Arum maculatum* のシアン耐性呼吸酵素が 温度依存的に分解されることを見た —植物の新しい発熱制御メカニズムを示唆—

概要

岩手大学次世代アグリイノベーション研究センターの伊藤菊一教授らは、発熱植物 *Arum maculatum* のシアン耐性呼吸酵素 (AOX : alternative oxidase) をターゲットとした生化学的解析から、AOX が特定のタンパク質分解酵素により温度依存的に分解される現象を見出しました。AOX は植物の熱産生に重要であることが知られていますが、今回の成果は植物の新たな発熱制御メカニズムの存在を示唆するものです。本研究は *Biochemical Journal* 誌に掲載されると共に、同誌の表紙にも採択されました。



【研究の背景】

Arum maculatum はヨーロッパに広く自生するサトイモ科の植物で、英国では Cuckoo-pint とも呼ばれています。*A. maculatum* は毎年 5 月頃に開花しますが、その付属体と呼称される器官が開花時に発熱し、外気温が 10°C 程度の環境において、同器官の温度を一過的に 30°C 程度にまで上昇させる能力を有しています（図 1）。

A. maculatum を含む発熱植物の熱産生においては、AOX を介したエネルギー消散的な呼吸が重要であり、また非発熱植物においては、AOX は種々の環境ストレス応答にも関わっていることが示されています。

一方、AOX タンパク質の特異的な分解経路の有無はこれまで不明のままでした。

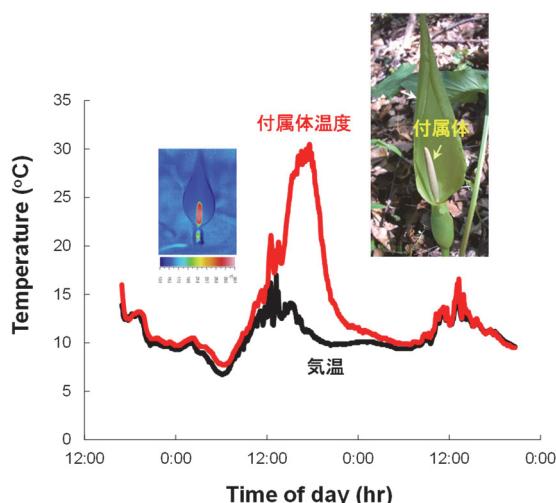


図 1. *Arum maculatum* の発熱現象

【研究成果】

本研究においては、*A. maculatum* から種々の発熱ステージの付属体を収集し、当該器官における AOX 転写産物の発現量を AOX タンパク質の発現量と比較しました。その結果、AOX タンパク質の発現量は発熱前と発熱中でほとんど変化がなかったものの、発熱中サンプルの AOX 転写産物の発現は発熱前に比べ顕著に増大していることが判明しました。一方、AOX と同様の核コード遺伝子である VDAC とユビキチンの転写産物量には大きな差異は見られませんでした。次に、発熱前および発熱中の付属体から調製したミトコンドリアを用いた *in organello* 解析系により AOX タンパク質の分解について検討したところ、発熱中の付属体から調製したミトコンドリアの AOX タンパク質は本植物の発熱温度に近い 30°C において顕著な分解が観察されることが判明しました。一方、発熱前の付属体から得られたミトコンドリアにおいては、このような温度依存的な AOX タンパク質の分解はほとんど観察されませんでした。また、AOX タンパク質が分解される条件において、ミトコンドリアに局在する VDAC や Hsp60 タンパク質の顕著な分解は見られませんでした。さらに、種々のプロテアーゼ阻害剤を用いた解析により、AOX タンパク質の分解に関わるプロテアーゼ活性は、システインプロテアーゼ阻害剤である E-64 により特異的に阻害されることがわかりました。その後、E-64 のアナログである DGC-04 を用い、問題とするプロテアーゼの探索を行った結果、およそ 30kDa のタンパク質が見出されました（図 2d、矢印）。

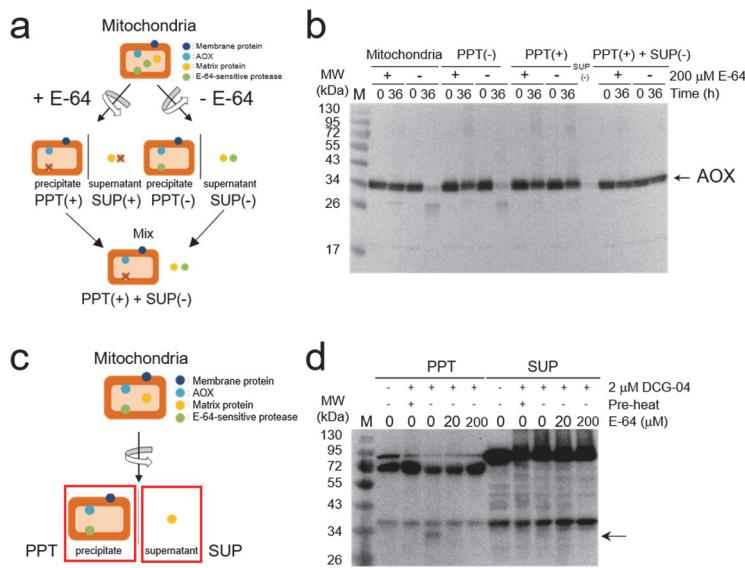


図 2. AOXタンパク質の分解に関するプロテアーゼの探索
a, c : *A. maculatum*の付属体から調製したミトコンドリアを用いた解析スキーム、
b : ミトコンドリアにおけるAOXの分解とE-64による阻害、d : DCG-04によるターゲットプロテアーゼの標識

さらに、問題とするタンパク質について精製を進めた結果、AOX 分解活性を有するプロテアーゼは *Phoenix dactylifera* (ナツメヤシ) のシステインプロテアーゼ 1 と良く似たタンパク質と同一の部分ペプチド配列を有することが判明しました。

【研究成果の意義】

今回の研究は、*A. maculatum* の発熱性付属体において AOX が特異的なプロテアーゼの標的タンパク質であることを示しています。興味深い点は、AOX の分解が発熱による体温の上昇によって著しく促進されることです。AOX の転写産物の発現量が発熱時に大きく増大することは、ミトコンドリアにおける AOX タンパク質の分解と核における AOX 遺伝子の転写との間に何らかの関係性があることを示唆しています。すなわち、AOX タンパク質が分解を受けた後も、一定量の AOX が存在するためには、AOX 遺伝子の転写と翻訳が活性化されていることが予想されます。細胞内における遺伝子の転写と翻訳のプロセス自体が発熱反応を構成することから、本研究は植物の新しい発熱制御メカニズムの解明に繋がる可能性があります。

【今後の展開】

A. maculatum 以外の AOX タンパク質の発現レベルの高い発熱性の植物（ザゼンソウやハス等）における同タンパク質の分解や関連する分子メカニズムの解析を行うことで、植物の発熱制御メカニズムの全貌に迫りたいと考えています。また、AOX はイネ等の農作物のストレス応答にも関係することから、非発熱植物における AOX を介した呼吸代謝も視野に入れた研究を展開します。

【用語の解説】

Arum maculatum

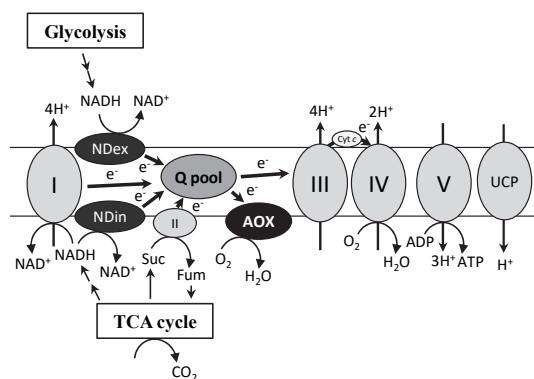
サトイモ科の多年草で、開花時に発熱が観察されます。付属体における発熱は一過的で、ザゼンソウに見られるような恒温性はありません。発熱の際に、強烈な悪臭を放つことから、本植物の発熱の意義は訪花昆虫の誘引にあると考えられています。



群生地で開花している*Arum maculatum*

シアノ耐性呼吸酵素 (AOX: alternative oxidase)

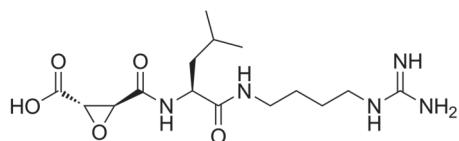
植物のミトコンドリアは好気的呼吸阻害剤であるシアノ化合物に耐性を持つ呼吸経路を有しており、この酵素はシアノ耐性呼吸酵素 (AOX: alternative oxidase) と呼ばれています。AOX はミトコンドリア電子伝達系におけるユビキノン (Q) 由来の電子を用いて、酸素を水に還元しますが、この反応はプロトン濃度勾配の形成に寄与せず、エネルギー消散的です。ザゼンソウや *Arum maculatum* のような発熱植物の熱産生組織においては、AOX を介する呼吸経路が活性化されています。



植物のミトコンドリア電子伝達系とシアノ耐性呼吸酵素 (AOX)

E-64

エポキシ構造を持つ化合物で、システインプロテアーゼと非可逆的に結合することから、システインプロテアーゼの特異的な阻害剤として使われます。E-64 にビオチンが付加された化合物が DCG-04 です。



E-64の化学構造

VDAC

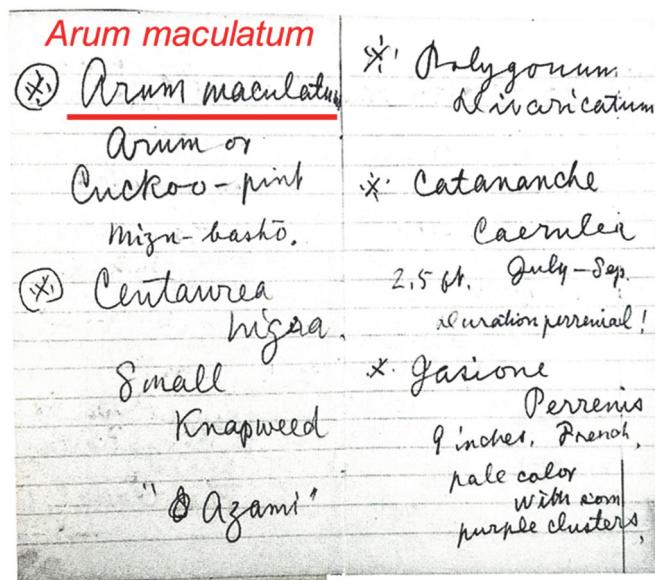
ミトコンドリア外膜に存在する電位依存性アニオンチャネル (voltage-dependent anion channel の略称)。

Hsp60

ミトコンドリアにおいてタンパク質のフォールディング (折りたたみ) に関与するタンパク質。

宮澤賢治と *Arum maculatum*

本学農学部の前身である盛岡高等農林学校の卒業生である宮澤賢治が 1926 年頃から使用していたとされる『Memo Flora 手帳』には賢治の直筆で「*Arum maculatum*」との記載が見られ、その下に「*Arum or Cuckoo-pint*」と記されています。*A. maculatum* の発熱現象の発見は 1950 年代であることから、賢治が本植物の学名を『Memo Flora 手帳』に記載した頃はその発熱現象はまだ知られていませんでした。



新校本宮澤賢治全集第13巻（上）覚書・手帳より抜粋

【掲載論文】

論文題目 : Degradation of mitochondrial alternative oxidase in the appendices of *Arum maculatum*

著者 : Kikukatsu Ito, Takafumi Ogata, Takanari Seito, Yui Umekawa, Yusuke Kakizaki, Hiroshi Osada, Anthony L. Moore

掲載雑誌 : Biochem Journal (2020) 477 (17): 3417–3431

DOI: <https://doi.org/10.1042/BCJ20200515>

表紙 : <https://portlandpress.com/biochemj/issue-covers>

【経費】

JSPS 二国間交流事業（オープンパートナーシップ共同研究）、外国人招へい事業（短期）(S13088)、科研費（16H05064, 19H02918）、BBSRC 研究費（BB/L022915/1, BB/NO10051/1）

本件に関する問い合わせ先：
岩手大学次世代アグリイノベーション研究センター
伊藤 菊一
電話：019-621-6143
Email: kikuito@iwate-u.ac.jp