

## 塩耐性を強化する植物ペプチドの発見

### —人工合成のペプチド添加で塩耐性を強化することに成功—

理化学研究所（理研）環境資源科学研究センター植物ゲノム発現研究チームの中南健太郎研究員、関原明チームリーダー、機能開発研究グループの花田耕介客員研究員（九州工業大学大学院情報工学研究院准教授）らの共同研究グループ※は、外部から投与することで植物の塩ストレス耐性<sup>[1]</sup>を強化できる 13 アミノ酸のペプチドを発見しました。

本研究成果は、塩ストレスに強い作物の作出や農薬の開発など、ペプチドを利用した新しい農法への応用が期待できます。

今回、共同研究グループは、高塩条件で誘導されるペプチドをコードする 17 個の短い遺伝子に着目し、その遺伝子を過剰発現させた植物体の塩ストレス耐性を調べました。その結果、過剰発現させることで塩ストレス耐性を強化する四つの遺伝子を見いだしました。これらの遺伝子は、細胞外に分泌されるペプチドをコードしており、そのペプチドが発現している条件では、塩ストレス耐性が強化されると考えられます。そこで、高塩条件で最も多く発現している AtPep3 ペプチド<sup>[2]</sup>を人工合成し、それを植物に投与することで、植物体が塩ストレス耐性を示すかを検討しました。その結果、AtPep3 ペプチドの投与でも、植物内で AtPep3 ペプチドをコードする *AtPROPEP3* 遺伝子を過剰発現させることと類似した効果、つまり塩ストレス耐性を示すことが分かりました。

本研究は、米国アカデミー紀要『*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*』のオンライン版（5月14日付け：日本時間5月15日）に掲載されました。



無処理

ペプチド処理

図 シロイヌナズナを用いた塩ストレス耐性試験の結果

## ※共同研究グループ

理化学研究所 環境資源科学研究センター

植物ゲノム発現研究チーム

研究員 中南 健太郎 (なかみなみ けんたろう)

チームリーダー 関 原明 (せき もとあき)

機能開発研究グループ

客員研究員 花田 耕介 (はなだ こうすけ)

(九州工業大学 大学院情報工学研究院 生命情報工学研究系 准教授)

グループリーダー 篠崎 一雄 (しのざき かずお)

バイオ高分子研究チーム

研究員 樋口 美栄子 (ひぐち みえこ)

上級研究員 吉積 毅 (よしづみ たけし)

宇都宮大学 バイオサイエンス教育研究センター

助教 岡本 昌憲 (おかもと まさのり)

## ※研究支援

本研究は、農業・食品産業技術総合研究機構技術シーズ開発型研究若手研究者育成枠(生物系特定産業技術研究支援センター)「インシリコ予測に基づいた植物の新規機能性低分子ペプチドの探索(研究代表者:花田耕介)」等の支援を受けて行われました。

## 1. 背景

機能性ペプチド<sup>[3]</sup>は、植物や動物だけでなくヒトの生活にも応用されるなど、近年注目を集めています。天然物であるペプチドは遺伝子組換え植物・食品に比べて安全性が高いため、食品、化粧品、医療などにも利用・応用されています。ペプチド研究は、従来の農法を変える可能性のある重要な研究の一つです。

生理活性を持つペプチドの研究は、これまでその短さや発現量の低さゆえ同定や解析が困難でしたが、近年ではバイオインフォマティクス<sup>[4]</sup>によるゲノム解析や質量分析などの技術の進歩から、新しい機能性ペプチドが同定されています。

最近の植物研究において、機能性ペプチドが特に日本人研究者によって多数発見されています。しかし、それらは植物の生育や発達に関与するものがほとんどで、環境ストレス耐性<sup>[1]</sup>に関与する機能性ペプチドの報告は、ほとんどありませんでした。

花田客員研究員らは 2013 年に、モデル植物のシロイヌナズナの遺伝子と遺伝子の間の領域から、ペプチドをコードする短い遺伝子を 7,000 個以上発見しました<sup>注 1)</sup>。今回、共同研究グループはその中から、植物の塩処理によって発現が誘導されるものを選抜し、それらの遺伝子の過剰発現植物の作製を試みました。

注 1) 2013 年 1 月 22 日プレスリリース「未知のゲノム領域にペプチド大陸が存在」  
[http://www.riken.jp/pr/press/2013/20130122\\_1/](http://www.riken.jp/pr/press/2013/20130122_1/)

## 2. 研究手法と成果

共同研究グループはまず、材料にはモデル植物であるシロイヌナズナを用いて、塩ストレス処理で発現が上昇する 81 のペプチドをコードすると考えられる短い遺伝子の中から 17 遺伝子を選び出し、それらを過剰発現させた植物を作製しました。そして、これら過剰発現体の塩ストレス耐性を、生存率と塩ストレスによる根の伸長により評価し、塩ストレスに対し耐性を示した *AT5*、*AT12*、*AtPROPEP3*、*AT23* の四つの遺伝子を候補として同定しました (図 1)。

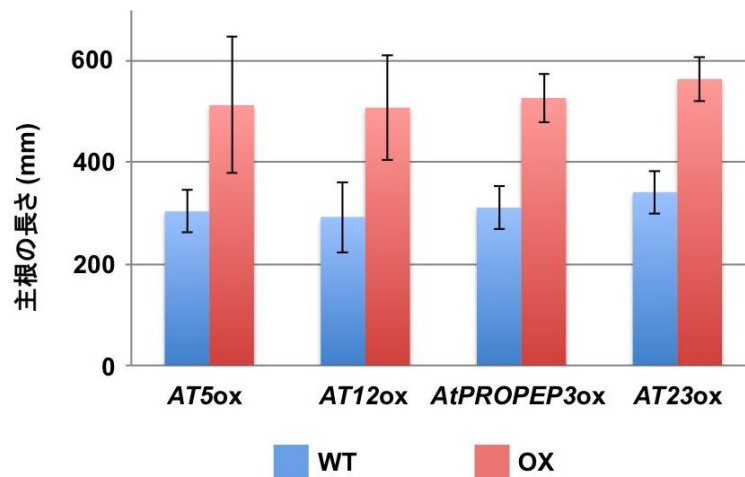


図 1 塩ストレス耐性を示す四つの短い遺伝子の過剰発現体の根の伸長

播種後 1 週間のシロイヌナズナを 150mM NaCl 入りプレートに移し、2 週間培養した後、主根の長さを測定した。WT は野生型、ox は過剰発現体を示す。*AT5*、*AT12*、*AtPROPEP3*、*AT23* の四つの遺伝子過剰発現体が塩ストレスに対して耐性を示した。

そこで、高塩条件で最も多く誘導された *AtPROPEP3* 遺伝子に的を絞り、人工合成した *AtPROPEP3* がコードする AtPep3 ペプチドを植物に投与し、植物体に塩ストレス耐性を示すかを検討しました。その結果、期待通りに、AtPep3 ペプチドの投与でも、植物内で *AtPROPEP3* 遺伝子を過剰発現させることと類似した効果、つまり塩ストレス耐性を示すことを発見しました。これは、トランスクリプトーム解析<sup>[5]</sup>によっても、AtPep3 ペプチドの投与は、植物内部で *AtPROPEP3* 遺伝子を過剰に発現させる遺伝子組換え植物体と同じ効果を示すことが実証されました (図 2)。この結果は、ペプチド投与が遺伝子組換え体と同じ効果があることを示しています。

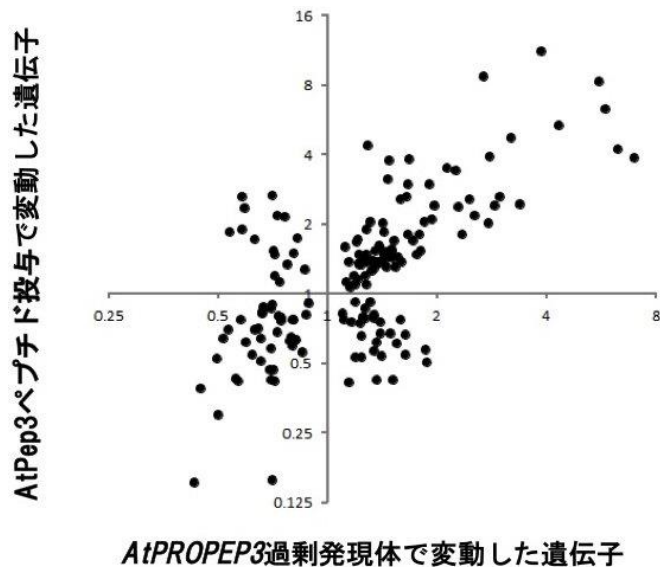


図2 ペプチド投与あるいは過剰発現体で変動する遺伝子の比較

ドットは変動した遺伝子。中心から右は過剰発現体で発現が上がった遺伝子、左が下がった遺伝子、また中心から上はペプチド投与で発現が上がった遺伝子、下は下がった遺伝子を示している。全体のドットを見ると、右に行くに従って上がり、左に行くに従って下がっている。これは、過剰発現体で発現が上がった遺伝子はペプチド投与でも上がっていて、過剰発現体で下がった遺伝子はペプチド投与でも下がっていることになる。つまり、過剰発現体の遺伝子とペプチド投与の影響を受ける遺伝子の発現が同じ傾向にあることを示しており、過剰発現体とペプチド投与が同じ効果を持っているといえる。

AtPep3 ペプチドは植物の病原体に対する抵抗性を上げるものとして、以前に発見されていましたが、塩ストレス耐性を高める機能を持つことはこの研究で初めて示されました。AtPep3 ペプチドをコードする *AtPROPEP3* 遺伝子は *AtPROPEP* 遺伝子ファミリーの一つですが、他のファミリーの遺伝子と比較しても、*AtPROPEP3* 遺伝子が塩ストレス処理で非常に多く誘導されることが明らかになりました。さらに、遺伝子の発現だけでなく、AtPep3 ペプチド自体も塩ストレス処理で増加することが明らかになりました。

これまでの植物免疫システム<sup>[6]</sup>の研究から AtPep ペプチドファミリーの受容体<sup>[7]</sup>は PEPR1、PEPR2 の二つがあり、植物の病原体に対する耐性を高めるためには、AtPep3 ペプチドは PEPR2 受容体ではなく、PEPR1 受容体により結合することが分かっていました。

そこで、AtPep3 ペプチドの受容体である PEPR 1 とそのホモログ<sup>[8]</sup>であるが AtPep3 ペプチドの受容体ではない PEPR2 の欠損変異体を用いて、AtPep3 ペプチドによる塩ストレス耐性が植物の免疫システムと同じ経路で機能しているかを調べました。その結果、PEPR1 が機能している *pepr2* 欠損変異体では AtPep3 ペプチドを投与すると塩ストレス耐性を示したのに対し、*pepr1* 欠損変異体または *pepr1/pepr2* 二重欠損変異体では AtPep3 ペプチドによる塩ストレス耐性強化の効果はありませんでした。これは AtPep3 ペプチドが PEPR1 に受容され、病原体に対する耐性を高めるのと同じ経路で塩ストレス耐性を高めていることを

示しています。すなわち、塩ストレスによりダメージを受け病気になりやすい状態の植物が、あらかじめ免疫システムも高めておくことで生存しようとする、非常に理にかなったメカニズムが存在することが明らかになりました（図3）。

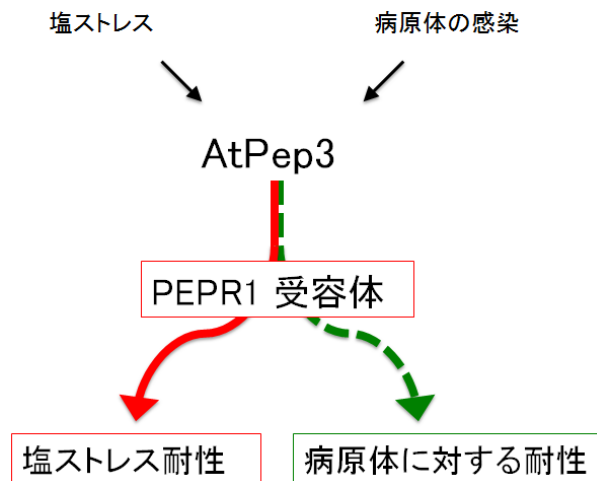


図3 AtPep3 ペプチドの機能のイメージ図

塩ストレスあるいは病原体に感染したシグナルを受け取った細胞が AtPep3 ペプチドを細胞外に分泌させ、その AtPep3 ペプチドを受容する PEPR1 受容体を介して、塩ストレス耐性や病原体に対する耐性を引き起こす。

### 3. 今後の期待

今回発見された AtPep3 ペプチドは植物体内で作られる天然物であり、その安全性から AtPep3 ペプチドを利用した新しい農法の開発が期待できます。特に AtPep3 ペプチドは、塩ストレス耐性だけでなく病原体に対する耐性も一度に強化することができる、万能な非生物・生物ストレス耐性農薬の開発につながる可能性があります。

このようにペプチドホルモン、機能性ペプチドの発見は、その機能・活性から農業に応用できる重要な研究であり、共同研究グループは既にスクリーニングにより AtPep3 ペプチド以外にも候補遺伝子・ペプチドをいくつか見つけています。したがって、今後、新しいペプチドホルモン、機能性ペプチドが発見される可能性があり、新しい農法の発展につながると期待できます。

### 4. 論文情報

<タイトル>

AtPep3 is a hormone-like peptide that plays a role in the salinity stress tolerance of plants

<著者名>

Kentaro Nakaminami, Masanori Okamoto, Mieko Higuchi-Takeuchi, Takeshi Yoshizumi, Yube Yamaguchi, Yoichiro Fukao, Minami Shimizu, Chihiro Ohashi, Maho Tanaka, Minami

Matsui, Kazuo Shinozaki, Motoaki Seki, and Kousuke Hanada.

<雑誌>

*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*

<DOI>

10.1073/pnas.1719491115

## 5. 補足説明

### [1] 塩ストレス耐性、環境ストレス耐性

環境ストレスとは、乾燥、高温、低温、塩ストレスなどの植物の生育に影響を与える、バクテリアや病原体などではない非生物的な環境要因のことである。動くことのできない植物は、これらの環境ストレスを回避するためにさまざまな機構により耐性を高め環境の変化に適応している。塩ストレス耐性は環境ストレス耐性の一つである。

### [2] AtPep3 ペプチド

植物の病原体などに対する抵抗性に関与する AtPep ペプチドファミリーの一つであり、100 アミノ酸程度の前駆体タンパク質から 20 アミノ酸程度に切り出され、生理活性を示すと考えられているペプチド。今回の研究で 13 アミノ酸でも塩ストレス耐性を強化する活性を持つことが分かった。

### [3] 機能性ペプチド

生体内で生理活性を示すペプチド断片のことで、ストレスなどの刺激を伝達するシグナルとなりホルモン様機能を示す。

### [4] バイオインフォマティクス

生物学と情報学の融合分野で、DNA や RNA、タンパク質など発現や機能に関する生命現象を情報科学や統計学などのアルゴリズムを用いて分析する手法のこと。

### [5] トランスクリプトーム解析

DNA から転写されるメッセンジャー-RNA (mRNA) などの遺伝子の発現を網羅的に解析すること。

### [6] 植物免疫システム

植物が病原体やバクテリアの感染などの生物学的なストレスに対して抵抗する機構。

### [7] 受容体

ペプチドなどのシグナル分子を受け取る器官で、細胞の外側に受容する部位を持ち、細胞の内側にその情報を伝える。

### [8] ホモログ

相同遺伝子とも呼ばれ、塩基配列が類似する遺伝子のこと。アミノ酸配列も類似しているため、コードされるタンパク質やペプチドも互いに似た機能を持つことが多い。

## 6. 発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせ下さい

理化学研究所

環境資源科学研究センター 植物ゲノム発現研究チーム

研究員 中南 健太郎（なかみなみ けんたろう）

TEL：045-503-9626 FAX: 045-503-9586

E-mail: kentaro.nakaminami[at]riken.jp

環境資源科学研究センター 植物ゲノム発現研究チーム

チームリーダー 関 原明（せき もとあき）

TEL：045-503-9587 FAX: 045-503-9584

E-mail: motoaki.seki[at]riken.jp

環境資源科学研究センター 機能開発研究グループ

客員研究員 花田 耕介（はなだ こうすけ）

（九州工業大学 大学院情報工学研究院 生命情報工学研究系 准教授）

TEL：0948-29-7842 FAX:0948-29-7801

E-mail: kousuke.hanada[at]riken.jp



中南 健太郎



関 原明



花田 耕介

<機関窓口>

理化学研究所 広報室 報道担当

TEL：048-467-9272 FAX：048-462-4715

E-mail：ex-press[at]riken.jp

九州工業大学 総務課 広報企画係

TEL：093-884-3007 FAX：093-884-3015

E-mail：sou-kouhou[at]jimu.kyutech.ac.jp

※上記の[at]は@に置き換えてください。