

2024 年度
創発的研究支援事業 年次報告書【公開版】

研究担当者	田畑 亮
研究機関名	明治大学
所属部署名	農学部 農芸化学科
役職名	専任准教授
研究課題名	植物環状ペプチドの機能解明によるストレス応答の制御
研究実施期間	2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日

研究成果の概要

近年、植物は低分子ホルモンのみならず、ペプチド分子を介した細胞間/器官間シグナル伝達機構により、ストレスに応答して個体の恒常性を維持している事が明らかになってきた。しかし、タンパク質合成の難しさや遺伝子クラスターによる重複性の問題から、植物が進化の過程で獲得してきた多様な「環状ペプチド分子」の細胞間/器官間シグナルにおける役割はほとんど理解されていない。そこで本研究では、特殊（主鎖）環状ペプチドおよびシステインリッチペプチドを含む「環状ペプチド」に着目して、化学・合成生物学・ゲノム科学的解析手法によって、「環状ペプチドライブラリー構築」や「環状ペプチド遺伝子クラスター破壊株」を網羅的に作成し、環状ペプチドの環境ストレス応答における機能を理解する。またこれを突破口として、タンパク質立体構造解析を実施することで、環状ペプチドの構造情報に基づいたストレス耐性を付与させる人工環状ペプチド分子創製に挑戦することを目的としている。

今年度は、ペプチド迅速環化法によるペプチド化学合成ライブラリーを用いたスクリーニングから選抜してきた RALF ペプチドについて研究を進めた。RALF とアミノ酸配列の相同性が高い 2 つの RALF ペプチドを含めた、*ralf* 三重破壊体をゲノム編集により作成し、WT と比較して根における遺伝子発現変動を RNA-seq 解析を実施して、一部ストレス応答に関連する遺伝子群の発現量低下が確認できた。また、*RALF* 遺伝子は塩ストレス処理により mRNA 発現量が鋭敏に上昇し、*ralf* 三重破壊体では、塩ストレス処理に対して感受性を示した。そして、遺伝学的解析および Alpha Screen による相互作用解析の結果より、本研究で対象として RALF ペプチドは、受容体キナーゼを介してシグナルを伝えていることが明らかになった。今後は RALF に関しては早期に論文化を目指す。

さらに、タンデムクラスター破壊法によって、システインリッチペプチドの一種であるディフェンシン様ペプチド *DEFL* の多重変異体作成に成功した。RNA-seq 解析を行い、*defl* 三重破壊体で発現量が低下している遺伝子群について GO 解析を実施したところ「低酸素ストレス」に関与する GO term がエンリッチされており、実際に、三重破壊体では冠水実験による生存率の低下が観察された。今年度中に論文を投稿する予定である。