

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		植物ホルモンとクロストークする新規ペプチドの役割			
研究テーマ (欧文) AZ		Functional roles of novel peptides which play cross-talk with plant hormone			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓)ハナダ	名)コウスケ	研究期間 B	2016 ~ 2017 年
	漢字 CB	花田	耕介	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Hanada	Kousuke	研究機関名	九州工業大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		九州工業大学・若手研究者フロンティア研究アカデミー・准教授			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>遺伝子が存在していないと考えられていた領域で、形態を著しく変化させる新規短い遺伝子群が見出された。その中で過剰発現によって、植物ホルモンを欠損させた表現形質と類似した遺伝子に着目した。この遺伝子は、細胞外に分泌するペプチドをコードしていると予測された。そこで、本研究では、①ペプチドの細胞内局在を明らかにする、②植物ホルモンのシグナルを遮断させているかを明らかにする、③ペプチドと相互作用をしているタンパク質の探索、をそれぞれ行った。</p> <p>① GFP を遺伝子に融合させることで、細胞外分泌を明らかにすることを試みた。短い遺伝子の N 末端には、細胞外分泌シグナルが存在するため、C 末端に GFP を融合させた形質転換体を構築した。形質転換体では、GFP が検出できなかったため、タバコの葉で GFP に融合してある遺伝子を一過的に発現させ、遺伝子の局在を蛍光顕微鏡で観察した。その結果、対象遺伝子の細胞外分泌を確認した。</p> <p>② 植物ホルモンの特異的なシグナルとして、シグナルの下流にあるタンパクのリン酸化が挙げられる。そこで、遺伝子を過剰に発現させた形質転換体と、対象タンパクと GFP を融合しているタンパクが発現されている形質転換体を掛け合わせた。その形質転換体でリン酸化と脱リン酸化の割合を調べた。その結果、遺伝子を過剰に発現させると植物ホルモンのシグナルが抑制されていることを明らかにした。</p> <p>③ 対象の遺伝子と相互作用を示すタンパクは、植物ホルモンのシグナル伝達を担うタンパクであることが予想できる。そこで、植物ホルモンの伝達を担うタンパク質に GFP、FLAG 等のタグを融合させ、それぞれの GFP あるいは FLAG の抗体を利用して免疫沈降法で Pull-Down を行った後に、プロテオーム解析を行いペプチドが相互作用をしているタンパク質を見出した。</p>					
キーワード FA	植物	ホルモン	ペプチド	相互作用	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	A Highly Specific Genome-Wide Association Study Integrated with Transcriptome Data Reveals the Contribution of Copy Number Variations to Specialized Metabolites in Arabidopsis thaliana Accessions							
	著者名 <sup>GA</sup>	Kazumasa Shirai Fumio Matsuda Ryo Nakabayashi Masanori Okamoto Maho Tanaka Akihiro Fujimoto Minami Shimizu Kazuo Shinozaki Motoaki Seki Kazuki Saito Kousuke Hanada	雑誌名 <sup>GC</sup>	Molecular Biology and Evolution					
	ページ <sup>GF</sup>	3111~3122	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	7	巻号 <sup>GD</sup>	34
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Functional divergence of duplicate genes several million years after gene duplication in Arabidopsis							
	著者名 <sup>GA</sup>	Kousuke Hanada Ayumi Tezuka Masafumi Nozawa Yutaka Suzuki Sumio Sugano Atsushi J Nagano Motomi Ito Shin-ichi Morinaga	雑誌名 <sup>GC</sup>	DNA Research					
	ページ <sup>GF</sup>	In press	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	8	巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要 EZ

Novel small coding genes were identified in the intergenic regions. Such the small coding genes are associated with morphogenesis. Among such the small coding genes, we focus on a small coding gene associated with deficient morphology of plant hormone. In-silico software predicts that the small coding gene encodes a secreted peptide. Therefore, we try to address following contents. 1. Cellular localization of the peptide encoded by the small coding gene. 2. Interference of plant hormone signaling by the peptide encoded by the small coding gene, 3. Searching of protein interacted with the peptide encoded by the small coding gene.

1. We constructed a transgenic plant overexpressing GFP fused peptide in the C terminal of peptide. However, the plant does not have any GFP signal. Therefore, we generated tobacco leaf overexpressing the GFP fused peptide. The secreted signaling was identified by Fluorescence microscope in transgenic tobacco leaf.
2. Plant hormone has a phosphorylation in a target protein. Therefore, we generated a transgenic plant expressing the protein fused with GFP. The transgenic plant was crossed with transgenic plant overexpressing the peptide encoded by the small coding gene. We identified that overexpression of peptide strongly affected the phosphorylation of protein associated with the plant hormone signaling.
3. Proteins interacted with the peptide may be associated with the member of plant hormone signaling. Therefore, we fused either GFP or FLAG tag fused with proteins associated with plant hormone. After immunoprecipitation by GFP or FLAG, we identified proteins bind with the peptide by LC-MS/MS analysis.