

論文審査の結果の要旨および担当者

| | | | |
|------|---|---|---|
| 報告番号 | ※ | 第 | 号 |
|------|---|---|---|

氏 名 田 中 奈 月

論 文 題 目

膜輸送体システムと根毛から解く植物の水・無機イオン吸収と蓄積の機構

論文審査担当者

| | | | |
|----|----------|--------|----|
| 主査 | 名古屋大学教授 | 前島 | 正義 |
| 委員 | 名古屋大学教授 | 小俣 | 達男 |
| 委員 | 名古屋大学教授 | 森田(寺尾) | 美代 |
| 委員 | 京都大学教授 | 青山 | 卓史 |
| 委員 | 名古屋大学准教授 | 河内 | 美樹 |
| 委員 | 名古屋大学助教 | 中西 | 洋一 |

田中奈月は、植物における無機イオンおよび水の吸収、組織間配分、細胞内蓄積の機構に焦点を当て、生理現象と機能分子を結びつける多面的な研究を展開した。第一に、根から吸収した亜鉛を細胞内の液胞に蓄積する亜鉛輸送体に注目して、その分子構造と機能、そして亜鉛の組織間配分に関わる役割を解明した。第二に、植物における無機イオンと水の吸収を担う根、とくに根毛に注目し、根毛形成・先端成長に関わる情報変換分子の改変によって生ずる根毛を形成しない変異株を精査し、その特徴を解明すると同時に、根毛が無機イオンあるいは水の吸収等に果たす役割を定量・定性的に明らかにした。さらに、根の水分屈性に関わる分子の発見と機能解析、またリン酸欠乏条件で明確に誘導・発現増大する新規タンパク質を発見し、その生理機能を解明し、独創的成果をもたらした。いずれもシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を研究対象とした。以下、それぞれの内容を述べる。

(1) 液胞膜亜鉛輸送体の分子機能構造と生理機能の解明

液胞膜亜鉛輸送体 MTP1 に焦点を当てた研究において、亜鉛輸送体自身が亜鉛濃度を感知し活性を調節する機構 (His ループ部位) をもっていることを証明し、植物体内および細胞内での亜鉛の適切な配分には、この活性調節機構が不可欠な役割を担っていることを明らかにした。MTP1 の His ループは、His 残基の数や配列は異なるが、他の生物種の亜鉛輸送体にも見られ、生物種間で共通して His ループが生物体内での亜鉛ホメオスタシスを調節している可能性を推定した。まず、His ループの構造的・生化学的解析により、His ループは polyproline type II helix を含む緩い構造をもち、亜鉛 4 個結合し、亜鉛濃度依存的に構造変化を引き起こすことを明らかにした。この特徴が、His ループが亜鉛濃度依存的に MTP1 の輸送活性を調節する機構を支えていることを解明した。His ループは亜鉛とイオン半径が似た二価カチオンとも相互作用するが、これらのイオンによる His ループの構造変化は亜鉛によって誘導される変化とは異なることを示し、MTP1 のイオン選択性にも His ループが関与する根拠を示した。さらに、His ループの前半部分を欠落させた変異型 MTP1 (酵母での異種発現において亜鉛輸送活性が 11 倍に促進された分子) を植物で発現させ、その植物が亜鉛欠乏に極めて弱いこと、その原因が、変異型 MTP1 の発現により、亜鉛が根細胞に蓄積に過大に蓄積し、結果としてシュート (茎、葉など) への亜鉛分配不足が生じていることを明らかにした。すなわち、His ループは亜鉛濃度感知に関与しており、亜鉛欠乏時にブレーキ役として細胞質中で必要な亜鉛を液胞内へと輸送しないために機能しているとの機能モデルを明確に実証した。

(2) 根毛を形成しない変異株をもちいた根毛の分子生理学的機能の解明

田中奈月は、無根毛株 NR23 を精査し、これまでになかった完全な無根毛株 (Pi

欠乏、エチレン処理、pH の変化によっても根毛が全く伸長しない株)であることを確認した。根毛の機能の解明においては、これまで定量的、定性的な実験が決定的に不足しており、無根毛株を活用して、根毛の分子生理学的機能を明確に示した。具体的には、各必須元素の欠乏培地での無根毛株 NR23 の生育を野生株と比較し、さらに組織の元素分析によって元素含量を比較することにより、主として根毛により吸収される元素とそうでない元素を明確に分けて示した。すなわち、根毛は銅、カルシウム、カリウム、リン、窒素塩、鉄、マンガン、亜鉛の吸収に不可欠な役割を果たしていることを定量的に示した。そして、養分のみでなく水分吸収の約半分が根毛に依存していることを解明した。さらに無根毛株は、乾燥や高温、塩への耐性が顕著に低下していることも明らかにした。また、無根毛株は固いゲルに根を侵入させることができないことが分かり、根毛は根の土中への侵入には寄与していないとする説を覆した。さらに、リン酸欠乏条件で分泌される酸性ホスファターゼの 60%、リンゴ酸とクエン酸の 80%以上が根毛から分泌されていることを明らかにした。プロテオミクス解析等により、無根毛株ではリン酸トランスポーター等の根の表面に存在するタンパク質の発現量が少なくなることも示した。

(3) 根毛等を保護する分子および根の水分屈性に関与する分子の発見と解析

さらに、この NR23 株のプロテオミクス解析により、Pi 欠乏時の根毛で高発現する根毛特異的タンパク質 SRPP を発見し、分子生物学的特徴を明らかにした。SRPP は根毛だけでなく胚や種皮、鞘、珠柄でも発現しており、Pi 欠乏やエチレン処理条件下で著しく長くなる根毛の保護、また種子形成時の種子の保護にも重要な役割をしていることを明らかにした。

また、新規 Ca^{2+} 結合タンパク質 PCaP1 が水分屈性における水分勾配の感知、高浸透圧下での気孔の閉鎖に重要な機能を果たしていることを明らかにした。PCaP1 は Ca^{2+} シグナルを伝達するシグナル変換分子であると推定しており、植物の重要な生理機能を担う鍵タンパク質分子の生理・生化学的な機能解明に重要な基盤を与えた。

以上のように、田中奈月は、液胞膜亜鉛輸送体 MTP1 における輸送基質濃度の感知のタンパク質化学的実験と分子生理学的実験の成果、そして最適な変異株を選択し、無機イオンと水の吸収等に関わる根毛機能の定量的、定性的成果をもたらし、さらに根毛と種子をストレスから保護する分子、そして根の水分屈性に関わる分子を発見した。これらの研究成果により、生化学および植物分子生理学における貢献度のきわめて高い、新規な知見を提供した。本審査委員会は本論文の内容が博士(農学)の学位を授与するに十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。