

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

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

氏名 田中 奈月

論文内容の要旨

全ての生物は水・無機イオンがなければ自らの生命体を構築できず、細胞活動を維持することもできない。私は、主に膜輸送体と根毛に焦点をあて、植物における水や無機イオンの吸収と蓄積の機構に関わる複数のタンパク質分子について研究を進めてきた。

第一章の液胞膜亜鉛輸送体 AtMTP1 の研究においては、亜鉛輸送体自身が亜鉛濃度を感知し活性を調節する仕組み (His-loop 部位) をもっていることを初めて証明し、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。この His-loop 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、様々な生物種で共通して His-loop 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が考えられる。第一章①では、His-loop の構造的・生化学的特徴の解析を行い、His-loop は polyproline type II helix を含む緩い構造をとっており、亜鉛を 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。この特徴は、His-loop が亜鉛濃度依存的に AtMTP1 の活性を調節するために必須の特徴であると考えられる。また、His-loop は AtMTP1 のイオン選択性にも寄与しており、His-loop は亜鉛とサイズ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-loop の構造変化は亜鉛によって誘導される構造とは異なることを明らかにした。この特性がイオン選択性を担っていると推定した。さらに、第一章②では、His-loop の前半部分を欠落させた AtMTP1 分子 (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) を植物体内で発現させ、その植物体では亜鉛欠乏条件下において植物体内での組織間の亜鉛分配が野生株や通常の MTP1 分子を形質転換した株とは異なることを示し、亜鉛欠乏に高い感受性を示すことを明らかにした。総合的に考察し、His-loop 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推定した。

第二章の無根毛株 NR23 を用いた研究においては、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)を見出し、この株の様々なストレス条件下における表現型やタンパク質の発現量などを解析することによって、これまで明確には証明されてこなかった根毛の生理機能を定量的、定性的に詳細に提示した。具体的には、各必須元素の欠乏培地での無根毛株の生育を野生株と比較し、更に ICP 解析によって元素含量を比較することにより、根毛が吸収に参与している元素と、そうでない元素を同定した。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、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す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。

第三章では、上述の 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解析し、その結果をまとめた。解析の過程で、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伸長する根毛の保護、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発見した。この SRPP は細胞壁に局在すること、また遺伝子欠損株 *srpp-1* では細胞壁の形態異常が見られることも明らかにした。細胞壁内での存在様式、生理・生化学的機能について不明であるが、新しい、保護的役割をもつ分子の解明の基盤となる知見を得た。

第四章の新規 Ca²⁺結合タンパク質 PCaP1 (Plasma membrane-associated Ca²⁺-binding protein-1) の研究においては、これまで顕著な表現型が検出されていなかった *pcap1* 遺伝子欠損株の表現型を見出し、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 Ca²⁺シグナルを伝達するシグナル変換分子であると推定されているが、下流の分子は特定されておらず機能メカニズムは明らかとなっていない。本研究による明瞭な表現型の発見は、PCaP1 が果たす水ストレス下でのシグナル伝達の分子機構を解明する基盤となる。