The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Molecular mechanism of root development regulated by trafficking pathway via TGN/EE
Author(s)	松浦, 友紀
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/82028
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　　松浦　友紀　　）	
論文題名	Molecular mechanism of root development regulated by trafficking pathway via TGN/EE （トランスゴルジ網における膜交通が支える根の発生制御の分子機構）

論文内容の要旨

植物において、植物ホルモンであるオーキシンの勾配は発生と生長に大きな影響を及ぼす。オーキシン排出タンパク質であるPINタンパク質はオーキシンの極性輸送を制御しオーキシンの勾配を確立することで、特定の組織においてオーキシン応答性遺伝子の発現を誘導し発生を制御している。しかし、オーキシンの勾配を確立する分子機構は十分に理解されていない。

トランスゴルジ網における膜交通は、様々な膜貫通蛋白質を目的地に輸送するために重要な役割を果たす。PINタンパク質は、エンドソームと細胞膜の間を恒常的に輸送されその極性を維持している。先行研究によって単離された*BFA-visualized endocytic trafficking defective 1 (ben1)*単独変異体、*ben2*単独変異体、*ben3*単独変異体は、PINタンパク質の小胞輸送に異常を示す。これらの変異の原因遺伝子は、ARF GEF (BEN1, BEN3)とSec1-Munc18タンパク質 (BEN2/VPS45)という、初期エンドソームに局在する膜輸送因子をコードすることが示されている。ARF GEFはARFを活性型にすることによって小胞の出芽を、Sec1-Munc18はQ-SNAREと結合することによって小胞の融合を促進すると考えられている。単独変異体は個体の発生に大きな異常は示さないが、*ben1; ben2*二重変異体はPINタンパク質の局在に異常を示し、主根が短く、側根の密度が高いといった多面的な異常を示す。よって、*ben1; ben2*二重変異体は、膜交通がオーキシンの勾配を介して個体全体の発生を制御する分子機構を解析する上で、良いモデルであると判断した。

まず、*ben1; ben2*二重変異体の発生異常の原因を解明するために、PINタンパク質の発現の変化とオーキシンの合成阻害に対する応答を観察した。野生型植物はそれぞれの操作によって根の伸長が著しく阻害されたのに対して、*ben1; ben2*二重変異体では根の伸長がほとんど阻害されなかった。このことから*ben1; ben2*二重変異体ではPINタンパク質に依存したオーキシンの勾配の異常によって、主根の伸長が阻害され側根の密度が上昇していることが示唆された。

また、オーキシンの勾配を確立する分子機構を解明するために、BEN遺伝子の機能解析を行った。*ben1; ben2*二重変異体でBEN2が組織特異的に発現する形質転換植物を作出し、根の発生と生長に関する表現型の解析を行った。その結果、根端の中心部分で発現するBEN2が、主根の伸長と側根密度の調整に重要な役割を果たすことがわかった。加えて、新規に合成されたPINタンパク質の挙動の観察により、BEN3がTGN/EEから細胞膜に向かうBFA感受性のPIN輸送経路に重要な役割を持っていることが示された。

さらに、植物の根は栄養状態によって根の形態を著しく変化させる。その中でもリンが欠乏すると主根の伸長が抑制され側根の形成が促進されることによって*ben1; ben2*二重変異体と似た根の形態を示す。BENがリン欠乏応答に関与する機能を持っているのかを検証するため、*ben1; ben2*二重変異体が通常の培地上でリン欠乏応答を引き起こしているのかを調べた。通常の培地上で生育した*ben1; ben2*二重変異体の根端ではリン欠乏時に見られる鉄の過剰な蓄積が検出されたため、*ben1; ben2*二重変異体はリンの存在下でリン欠乏応答が起こっていることが示唆された。

以上の結果により、本研究ではトランスゴルジ網に局在するBEN遺伝子がPINタンパク質の輸送を介して根の形態を制御することが示された。そしてBEN2遺伝子は根端の中心部分でのみこの分子機構が機能することによってオーキシンの勾配が確立され根の全体の形態が制御されることが示された。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　松浦　友紀　）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　教授	柿本　辰男
	副 査　教授	松野 健治
	副 査　教授	高木 慎吾
	副 査　准教授	田中博和（明治大学）

論文審査の結果の要旨

申請者は、モデル植物であるシロイヌナズナを用いて、膜交通因子が根の発生を制御する分子機構の研究を行った。植物ホルモンであるオーキシンは、細胞間を方向性を持って輸送され、根の発生や屈性成長などの様々な過程に関与する重要な生長制御物質である。オーキシンの極性輸送には、細胞膜に分布するオーキシン流入タンパク質と、オーキシン排出タンパク質が関与しており、特に PIN-FORMED (PIN) ファミリーのオーキシン排出タンパク質が細胞膜において偏って分布することがオーキシンの輸送の方向性の決定に重要であると考えられている。先行研究により、PIN1 タンパク質の細胞内の輸送にはトランスゴルジ網に局在する膜交通因子 BEN1/BIG5 , BEN3/BIG2 (ARF GEF) と、BEN2/VPS45 (Sec1/Munc18 タンパク質) が同定されていた。さらに、BEN1/BIG5 と BEN2/VPS45 の両方に変異を持つ二重変異体が根の発生に異常を示すことが示されていたが、その発生異常の原因は十分に理解されていなかった。申請者は、これらの膜交通因子の変異体の発生異常の原因を探るため、オーキシン輸送体の極性局在を阻害する遺伝学的操作や、オーキシン量を人為的に増減させる化合物処理を行い、*ben1;ben2* 二重変異体ではオーキシン極性輸送が異常になっていることが根の発生異常の原因であることを示唆する結果を得た。さらに、申請者は BEN2 タンパク質は根の先端部では細胞タイプによらず普遍的に発現しているが、根の発生には特定の組織における BEN2 タンパク質の働きが貢献している可能性があるという仮説を立てた。それを評価するために組織特異的に BEN2 タンパク質を発現する形質転換植物を作出し、根の内部組織において BEN2 タンパク質が働くことが主根の成長と側根形成の抑制に重要であることを見出した。また、申請者の解析により、維管束における BEN2 の機能と PIN1 の極性局在、および根端分裂組織の大きさに相関があることも明らかになっている。これらの結果を総合して、申請者は BEN2/VPS45 が維管束組織において、PIN タンパク質の極性局在を制御し、根の先端側へのオーキシン極性輸送を促進することにより根の発生に貢献しているというモデルを提唱した。また、すでに本論文の主要な結果については *Frontiers in Plant Science* 誌で発表されている。植物の膜交通因子が特定の組織で働くことにより発生に関与することを示した例は少なく、植物の細胞極性が関わる根系の制御の理解に大きく貢献したと評価できる。

よって、本論文は、博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。