

# ホウ酸輸送体 BOR1 のホウ素濃度に応答した 局在/分解メカニズムの解析

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学分野 天野太郎

## 1. 背景と目的

ホウ素は植物における必須元素のひとつである。植物体内のホウ素を厳密に制御するため、ホウ素/ホウ酸輸送体 BOR1 が重要な役割を担う。BOR1 は、ホウ素欠乏条件では根の各細胞で中心柱側の細胞膜に極性を持って局在し、ホウ素十分条件ではエンドサイトーシスされ、液胞で素早く分解される。BOR1 の細胞質に面すると予測されるラージループ領域の2つのチロシンモチーフは極性を持った局在と分解の両方に必要と報告されている。そのため、これらのチロシンモチーフを認識し、細胞内タンパク質輸送に重要な役割を担う AP 複合体が BOR1 の局在/分解に重要な役割を担うと考えられた。しかし、BOR1 の局在と分解の詳細な分子メカニズムは未だ明らかになっていない。

## 2. 方法

はじめに、BOR1 の C 末端に GFP を融合した BOR1-GFP を、シロイヌナズナ培養細胞 ALEX に一過的に発現させる新規実験系を確立した。そして、新たに BOR1 タンパク質にアミノ酸置換変異を導入した変異型 BOR1-GFP を一過的に発現させ、さらなる詳細な BOR1 の局在/分解のメカニズムの解明を目指した。また、BOR1 の局在/分解に重要であると予測された AP 複合体の機能阻害タンパク質と BOR1-GFP を植物体において共発現させ、AP 複合体の BOR1 の細胞内輸送への寄与に関しての解析を行った。

## 3. 結果および考察

培養細胞においてもホウ素濃度に応答した BOR1 の局在の変化やエンドサイトーシスが起ることを確認し、本実験系が BOR1 のホウ素濃度に応答した細胞内輸送メカニズムを解析するために有用であることを示した。ALEX を用いた解析の結果、BOR1 のラージループ領域の455番目と456番目の連続する2つのロイシン残基がホウ素濃度に応答した局在と分解に重要であることを新たに明らかにした。この2つのロイシン残基を含むペプチド配列は、膜タンパク質の細胞内輸送において重要なジロイシンモチーフを形成している。また、モチーフを認識し、膜タンパク質の細胞内輸送に重要である AP 複合体の  $\mu$  サブユニット機能阻害型タンパク質を用いた解析を行った。トランスゴルジネットワーク (TGN) から細胞膜や液胞への輸送に参与する AP1 が BOR1 の TGN 以降の分解輸送経路に重要な役割を担うことが示唆された。

## 4. まとめ

BOR1 と AP 複合体の直接的な相互作用を解析したが結論を得るに至らなかった。今後、チロシンモチーフとジロイシンモチーフと AP 複合体の結合を介した BOR1 の細胞内輸送の全貌の解明が期待される。