

# シロイヌナズナカリウム輸送体HAK5のカリウム濃度に応じた細胞内輸送

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学分野 永田大地

## 1. 背景

カリウムは植物の多量必須元素であり, その欠乏は植物の生育を著しく阻害する。シロイヌナズナの根では, 高親和性カリウム輸送体 HAK5 はカリウム濃度が 100  $\mu\text{M}$  以下で吸収に寄与する主要な輸送体であり, カリウム欠乏条件における植物の生育に大きく貢献している。HAK5 はカリウム濃度に応じてその発現が制御されていることが報告されている。カリウム欠乏条件ではエチレンの生合成が促進され, エチレンは活性酸素 (ROS) の生合成を促進する。そして ROS に引き起こされるシグナル応答によって HAK5 の転写が促進される。また, HAK5 の翻訳後制御についてはカリウム欠乏条件で細胞膜に局在し, カリウム十分条件では他の膜コンパートメントに局在することが示唆されている。しかしながら, HAK5 のカリウム濃度依存的な細胞内局在変化の詳細は明らかになっていない。

## 2. 方法

そこで本研究では, シロイヌナズナ HAK5 のカリウム濃度に応じた翻訳後制御機構の解明を目的に, 以下の二つの実験を行った。一つ目の実験では内生 HAK5 の蓄積量のウェスタンブロッティング解析を行った。二つ目の実験では GFP-HAK5 をシロイヌナズナ植物体や培養細胞 ALEX 株に発現させてカリウム濃度依存的な細胞内局在を視覚的に解析した。

## 3. 結果と考察

内生 HAK5 のウェスタンブロッティング解析の結果, カリウム欠乏条件からカリウム十分条件に移植して 120 分後以降に HAK5 の蓄積量の低下がみられた。HAK5 プロモーター制御下で GFP-HAK5 を植物体に発現させたところ, カリウム欠乏条件では根の伸長領域における表皮細胞の細胞膜で発現していた。また, 形質転換植物をカリウム欠乏条件からカリウム十分条件に移植すると, 移植後 120 分で細胞膜における GFP 蛍光の低下が観察された。そして 180 分後には細胞質内にドット状の GFP 蛍光や液胞内に GFP 蛍光が観察された細胞もあった。しかしこの実験では, カリウムによる転写制御と HAK5 の分解制御とを分離することができない。そこで転写制御の影響を除いて恒常的に発現させるために *Ubiquitin10* プロモーター制御下において GFP-HAK5 を発現する形質転換植物を作出し用いたところ, コルメラ細胞においてカリウム欠乏条件からカリウム十分条件に移植後 180 分で細胞膜の蛍光が弱まった。またシロイヌナズナ培養細胞 ALEX 株においても, カリフラワーモザイクウイルス 35S RNA プロモーター制御下で GFP-HAK5 を発現させたところ, カリウム欠乏条件では細胞膜に, カリウム十分条件では液胞内に GFP 蛍光が観察された細胞の割合が高いという結果が得られた。以上の結果より, HAK5 はカリウム欠乏条件では細胞膜に局在し, カリウム十分条件ではエンドソームを経由して液胞内に送られて分解されることが示唆された。

## 4. まとめ

本研究により HAK5 はカリウム欠乏条件では根の伸長領域の表皮細胞の細胞膜に局在し, カリウム存在下で液胞に送られて分解されることが明らかになった。今後は HAK5 の細胞内輸送経路や, カリウムセンシング機構の解明がなされることを期待する。