

シロイヌナズナホウ酸トランスポーターBOR1 の分解および細胞膜上偏在に関する研究

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学 田中泰生

1. はじめに

植物のホウ酸アニオン排出型トランスポーターBOR1は、ホウ酸濃度の低い環境で根の表皮および内皮の細胞膜で働き、中心柱側に極性をもって局在することで導管への効率的ホウ酸輸送に寄与している。一方でホウ酸濃度の高い環境では、BOR1はエンドサイトーシスにより素早く細胞内に取り込まれ、液胞で分解される。近年、BOR1の細胞質側にあるC末領域のアミノ酸残基が偏在や分解に重要であることが報告され、さらに、その領域に相互作用するとされるタンパク質が酵母ツーハイブリッドスクリーニングにより複数同定された(吉成, 修士論文)。本研究では、これらの相互作用タンパク質がBOR1の偏在や分解に関与しているかを調べた。

また、シロイヌナズナのBOR1遺伝子からは、第2, 第3エキソンの間のイントロンが選択的スプライシングによって切り取られるか否かで、2種類のmRNAが生成される。これまでに局在や分解などが研究されてきたBOR1 (BOR1.1) に対し、ペプチド鎖が25アミノ酸残基分長いもう一方のスプライスバリエント (BOR1.2) については未知な部分が多い。そこで本研究では、これらmRNAの量的関係と、スプライスバリエントの局在の違いについて調べた。

2. 方法

1) BOR1のC末領域への相互作用タンパク質として同定されたDHU1とEX070C1, それに加えてEX070C1のホモログであるEX070D1, EX070H1に関して実験を行った。まず、これら遺伝子のT-DNA挿入破壊株を確立し、様々な濃度のホウ酸を含む培地で生育させてその様子を野生型と比較した。次に、それらの変異体でBOR1-GFPを発現させ、根においてBOR1-GFPの局在と分解を観察した。

2) リアルタイムPCRによりBOR1.1およびBOR1.2 mRNAの定量を行った。加えて、BOR1遺伝子のスプライスサイトに変異をもつBOR1-GFP遺伝子を植物に導入し、BOR1.2-GFPを発現する形質転換植物の作出を試みた。

3. 結果と考察

1) DHU1遺伝子破壊株ではホウ酸濃度に限らず、野生型に比べて新鮮重が減少することがわかった。EX070C1, EX070D1, EX070H1遺伝子破壊株ではホウ酸濃度に応答した表現型の差は見られなかった。一方、これら全ての変異体でBOR1-GFPを発現させてその蛍光を観察したが、BOR1-GFPの局在や分解の異常は観察されなかった。以上の結果から、BOR1の相互作用タンパク質であるDHU1とEX070C1, およびEX070C1のホモログであるEX070D1, EX070H1はBOR1の偏在や分解には関与しないことが示唆された。

2) 2種類のBOR1 mRNAについての定量PCRにより、その量比を明らかにした。

4. 今後の課題

シロイヌナズナBOR1遺伝子の選択的スプライシングに関し、BOR1.1-GFPとBOR1.2-GFPの局在を比較したい。