

# シロイヌナズナにおいて SPOT1/KNS3 は ハウ酸チャネルの小胞体からの搬出に重要である

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学 中村 俊介

## 1. 諸言

シロイヌナズナハウ酸チャネル NIP5;1 は、根の最外層の細胞の細胞膜土壌側に局在し、低ホウ素土壌からのハウ酸の効率的な吸収を担っている。先行研究により GFP-NIP5;1 が小胞体 (ER) に留まる変異株 (ER 型変異株と呼ぶ) が獲得されていた。NIP5;1 のような膜タンパク質は、ER で合成された後 COP II 小胞による搬出によってゴルジ体へと輸送され、目的の生体膜まで輸送される。新生膜タンパク質の COPII 小胞への積み込みには COPII コートタンパク質 SEC24 との直接的な結合が要求される。しかし、直接結合できない新生膜タンパク質はカーゴレセプターを介して SEC24 と結合すると考えられている。植物では後者の例はこれまで報告されていない。本研究では、ER 型変異株の中でアリアルである 3line (line1-3, 10-6, 15-2) の原因遺伝子の同定と機能解析から、NIP5;1 の ER からの搬出機構解明を目指した。

## 2. 方法

- 1) 3line の次世代シーケンスデータ解析およびゲノムラフマッピングにより原因候補遺伝子を絞った。候補遺伝子の T-DNA 挿入株に GFP-NIP5;1 を形質導入し、局在の観察を行った。
- 2) 1) で同定された原因遺伝子 *At5g58100* (*SPOT1/KNS3*) がコードする SPOT1/KNS3 の機能の特異性を調べるために、SPOT1/KNS3 機能欠損株における膜タンパク質 (PIN2, PEN3, PIP2, NIP1;2, NIP6;1) の局在を免疫染色法および GFP 融合タンパク質を用いて解析した。
- 3) SPOT1/KNS3 の細胞内局在を明らかにするために、mCherry-SPOT1 とオルガネラマーカールの共局在解析を行った。

## 3. 結果/考察

- 1) 変異原因候補遺伝子は *At5g58100* (*SPOT1/KNS3*) のみに絞られた。*SPOT1/KNS3* の T-DNA 挿入株において GFP-NIP5;1 は細胞膜だけでなく ER に局在した。これより、*SPOT1/KNS3* が原因遺伝子である可能性が非常に高いことが示唆された。
- 2) ハウ酸チャネル NIP6;1 のみが NIP5;1 と同様に細胞膜だけでなく ER に異常局在した。よって、SPOT1/KNS3 はハウ酸チャネル特異的に機能する可能性が示唆された。
- 3) mCherry-SPOT1 は ER とゴルジ体に局在した。

以上の結果より、SPOT1/KNS3 がハウ酸チャネルの ER からの搬出に重要であることが明らかになった。

## 4. 今後

SPOT1/KNS3 が ER-ゴルジ体間のハウ酸チャネル特異的カーゴレセプターであることを証明するため、SPOT1-NIP5;1 間および SPOT1-COP11 coat protein 間の相互作用解析を試みている。