

シロイヌナズナにおけるホウ素の吸収と輸送に関する分子遺伝学的研究

生物資源科学専攻 応用分子生物学講座 分子生物学 藤川 哲平

1. 目的

1) シロイヌナズナのホウ酸輸送体 BOR1 は、低ホウ素条件下で根の細胞において細胞膜上に偏って存在し、B の根から地上部への輸送に寄与していると考えられている。また、BOR1 は B 十分条件下においては、590 番目のリジン塩基のエピキチン化を介して分解される。先行研究において、ハイグロマイシンホストトランスフェラーゼ (HPT) を融合した BOR1-GFP-HPT を発現する形質転換体においては、HPT を融合していないものよりも弱い極性を示すこと、B 依存的な分解を抑え、弱い極性を示す BOR1 (K590A)-GFP-HPT を発現する形質転換体は、B 過剰条件下において野生型と比べ根および地上部の生育が改善することが明らかにされた。本研究では、耐性を示した形質転換体において BOR1 (K590A)-GFP-HPT がどのような役割を果たすことで耐性を獲得したのか、解明を試みた。

2) シロイヌナズナのホウ酸チャネル NIP5;1 の 5' UTR は、B 濃度依存的に mRNA の分解を引き起こすことが知られている。NIP5;1 の 5' UTR にレポーターを繋ぐことで、シロイヌナの植物体の細胞内における B 濃度の可視化を試みてきた。本研究では、シロイヌナズナが B を吸収する際の根の経時的な B 濃度の変化を調べることで B 吸収におけるカスパリー線の役割の解明を目指した。

2. 方法

1) リジン塩基を置換していない BOR1-GFP-HPT を導入した形質転換体は過剰な B に耐性を示さない。野生型株、BOR1-GFP-HPT または BOR1 (K590A)-GFP-HPT を導入した形質転換体をそれぞれ 2 系統ずつ、ホウ素濃度の異なる培地で育成し、地上部と根のホウ素含有量を ICP-MS を用いて測定した。

2) NIP5;1 5' UTR::ElucPEST を野生型株およびカスパリー線欠損変異株に導入した形質転換体を用いて、低ホウ素条件下で育成したシロイヌナズナをホウ素十分条件に移行した際の経時的な濃度の変化を EM-CCD カメラにて検出した。

3. 結果・考察

1) 地上部においては、BOR1-GFP-HPT または BOR1 (K590A)-GFP-HPT を導入した形質転換体の B 濃度は、B を極めて欠乏させた条件下以外では、下野生型の B 濃度よりも有意に高かった。一方で根においては、培地の B 濃度に関わらず形質転換体と野生型株との間に有意な差はみられなかった。この結果から、BOR1-GFP-HPT の恒常的な発現は根から地上部への B の輸送をより活発にすることが強く示唆される。然しながら、BOR1 (K590A)-GFP-HPT だけでなく BOR1-GFP-HPT 導入株においても地上部の B 濃度が上昇していたことから、このことはホウ素耐性への直接的な影響は無いと考えられる。BOR1 (K590A)-GFP-HPT は B 過剰条件下において、地上部でも葉の表皮細胞の細胞膜に局在していることが分かっており、B をアポプラストへと排出されることで細胞内への過剰な B の蓄積が防がれ、過剰な B への耐性を獲得しているのではないかと推測される。

2) 野生型株においては、根の中心領域において長時間、低 B 状態が維持されるが、カスパリー線欠損変異株においては、速やかに根の中心まで B 濃度が上昇した。B 吸収において、カスパリー線はアポプラスティックな B の中心柱への流入を制限していることが示唆された。