

Molecular Mechanism of Al Inducible Malate
Excretion of *Arabidopsis thaliana*

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2020-07-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: WU, LIUJIE メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/78473

氏 名 (本 国 籍)	WU LIUJIE (中華人民共和国)
学 位 の 種 類	博士 (農学)
学 位 記 番 号	農博甲第 7 1 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 3 1 年 3 月 3 1 日
研 究 科 及 び 専 攻	連合農学研究科 生物資源科学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学 位 論 文 題 目	Molecular Mechanism of Al Inducible Malate Excretion of <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナのアルミニウム誘導性リンゴ酸放出の 分子機構)
審 査 委 員 会	主査 岐阜大学 教授 山 本 義 治 副査 岐阜大学 教授 小 山 博 之 副査 静岡大学 教授 森 田 明 雄

論 文 の 内 容 の 要 旨

多くの植物は根から有機酸を放出して様々な環境変化に適応する。この現象は、1970 年代にシロバナルーピンの低栄養土壌適応戦略として提唱されて以来、様々な観点で研究が進み、今日では「多面発現」形質の典型例に位置づけられている。根圏で有機酸は、錯体形成による有害金属の無毒化と難溶性塩の可溶化、炭素供給による根圏微生物叢の形成を担う。これは、不良な土壌での生存と免疫獲得による植物病害の軽減を介した、環境適応における重要な形質である。本研究は、このような背景を持つ根の有機酸放出のモデル系の一つである、シロイヌナズナ *AtALMT1* によるアルミニウム誘導リンゴ酸放出の分子機構を調べたものである。

1. アルミニウム (Al) 応答性リンゴ酸放出の化学遺伝学解析

シロイヌナズナのアルミニウム耐性に必須な *AtALMT1* は、Al により転写活性化されると共に、細胞膜上の未知の経路で輸送が活性化される。先行研究では、STOP1 を含む複数の転写因子による転写制御と、リン酸化や Al の直接結合による輸送活性化などが見出されているが、Al の認識機構は不明であった。この研究では、ヒトの創薬研究の化合物作用点推定にも用いられる化学遺伝学解析により、Al 応答性シグナルを解析した。凡そ 260 種の化合物 (各種のシグナル伝達経路タンパクの阻害剤) の中から、3 種の作用点異なる物質を発見した。そのうち、脂質代謝酵素阻害剤は転写及び輸送を阻害し、カルシウム依存型タンパク質リン酸化酵素阻害剤は後期転写誘導のみを阻害し、タンパク質脱ユビキチン化酵素の阻害剤はリンゴ酸輸送活性のみを阻害した。後者の 2 つは、Ca シグナル経路依存性を持ち *AtALMT1* の転写活性化を担う CAMTA 転写因子の誘導制御の阻害と、*AtALMT1* タンパク質の分解制御による輸送活性阻害と推定されたが、一つ目の脂質代謝阻害剤 (PIK-75) は未知である Al 初期シグナルを阻害すると考えられた。

2. PIK-75 による Al シグナル阻害機構の解析

ヒトタンパクにおける PIK-75 は、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)の阻害剤で、生体膜上のシグナル分子を産生する PI3K カスケードの阻害剤であるが、シロイヌナズナのタンパク質との相同性や in silico docking assay では、シグナル分子である IP3(イノシトール 3 リン酸)を生成する PI4K/PLC 経路の PI4K も阻害すると推定された。そこで、これまでに植物科学領域で使用された実績がある、PI3K 及び PI4K の特異的阻害剤と、PI4K 変異体、PI3K 遺伝子発現抑制組換え体を用いて、Al 誘導性の転写及び輸送活性化の阻害を検討した。このうち、輸送活性化は AtALMT1 を恒常的に発現する組換え体で、転写誘導が関与しない短時間の Al 活性化リンゴ酸輸送活性の阻害を解析した。その結果、PI4K の阻害及び変異は、AtALMT1 の転写誘導を阻害し、さらに PLC (phospholipase C) の阻害も同様に阻害することから、Al 誘導遺伝子の転写は IP3 の生成が関与すると推定した。この転写抑制は、STOP1 制御遺伝子や STOP1 非制御の Al 誘導遺伝子に共通であることから、Al の初期シグナルは IP3 産生経路であると考えられる。一方、PI3K と PI4K の阻害は共に、AtALMT1 の Al 活性化を阻害することから、細胞膜上のイノシトールリン酸複合脂質がチャネル活性化を制御すると考えられた。

本研究では、農業上の有用形質であるリンゴ酸放出の活性化機構の極めて上流の因子を同定したものであるが、PI3K 及び PI4K の関与は Al が一因であるアルツハイマー病の初期への関与が疑われていることから、生物の Al 応答・障害研究に対して有益な知見を与えると考える。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者 WU LIUJIE は、アルミニウム初期シグナルの解明を目指して、大規模な薬理学解析 (Chemical Genetics) を行い、AtALMT1 の転写発現及び活性化に、Lipid シグナルが必須であることを明らかにした。対象としたアルミニウム障害は、酸性土壌での生育阻害の原因となるもので、植物は様々な耐性機構を誘導して対応する。その活性化機構は、活性酸素や代謝物の変動に起因する後期応答、植物ホルモンシグナルや Ca シグナルとのクロストークなどの、ストレス中期、後期の応答現象を説明する機構と、アルミニウム検知を含む初期シグナルに分けることができる。

WU は、AtALMT1 の転写とチャネル活性化が、フォスファチジルリン酸の生成を介していることを見出した。この知見は、未解明であった、アルミニウムシグナルの最上流の分子機構の一つを解明するものであり、ストレス応答の切り分け (特異的な応答を決める分子機構によるもの) などの研究に発展しうるものである。審査委員会は、上記の内容が学術的に充分であることを確認した。

基礎となる学術論文

- 1) Wu, L. Kobayashi, Y. Wasaki, J and Koyama, H: Organic acid excretion from roots: a plant mechanism for enhancing phosphorus acquisition, enhancing aluminum tolerance, and recruiting beneficial rhizobacteria. Soil Science and Plant Nutrition.

64(6), 697-704, 2018.

- 2) Wu, L. Sadhukhan, A. Kobayashi, Y. Ogo, N. Tokizawa, M. Agrahari, R., K. Ito, H. Iuchi, S. Kobayashi, M. Asai, A and Koyama, H: Involvement of phosphatidylinositol metabolism in aluminum-induced malate secretion in Arabidopsis. Journal of Experimental Botany. In press.

既発表論文

該当なし