

令和 3 年 4 月 5 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19137

研究課題名（和文）植物の多機能輸送体GTR1における輸送基質スイッチング現象の化学的制御

研究課題名（英文）Chemical regulation of the transport substrate switching phenomenon in the plant multifunctional transporter GTR1

研究代表者

上田 実（Ueda, Minoru）

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：60265931

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：植物の膜輸送体タンパク質GTR1は、グルコシノレート輸送体として発見されたが、その後2つの植物ホルモンの輸送体としても機能することが分かった。構造的に全く異なるこれらを基質とする機構を解明するために、変異体タンパク質とアフリカツメガエル卵母細胞を用いた評価系を用いて、各種輸送活性を評価した。その結果、GTR1は二量体としても単量体としても輸送能力を持つが、基質に対応する多量体が存在することを示唆する結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の生理応答をコントロールする植物ホルモンの分布の時空間制御は、植物の機能制御を考える上で極めて重要である。その意味で、植物ホルモン輸送体の基質輸送と基質選択性をコントロールできれば、大きな社会的意義がある。一般的に輸送体の活性を制御する化学物質の開発は難しいが、今回の結果はそれに繋がる可能性をもち、学術的にも興味深い。

研究成果の概要（英文）：The plant membrane transporter protein GTR1 was first discovered as a glucosinolate transporter, but was later found to also function as a transporter of two plant hormones. In order to elucidate the mechanism of using these structurally completely different substrates, we evaluated various transport activities using mutant proteins and an evaluation system using African clawed frog oocytes. The results suggest that GTR1 has the ability to transport both as a dimer and as a monomer, but that there are multimers corresponding to the substrates.

研究分野：天然物ケミカルバイオロジー

キーワード：植物ホルモン 輸送体 ジャスモン酸 ジベレリン

1. 研究開始当初の背景

植物ホルモンは、植物の発生、成長、環境変化や外敵への防御応答など、ほぼ全ての生理機能制御に関わる化学因子である。その植物体内での時空間的分布は、輸送体タンパク質によって厳密に制御されている (*Science* **1998**, 282, 2226; *PNAS* **2010**, 107, 2361; *Nature* **2012**, 483, 341; *Nature Commun.* **2014**, 5, 3274)。我々は、植物の免疫ホルモン ジャスモノイルイソロイシン (JA-Ile) の輸送体 GTR1 を発見した (*Nature Commun.*, **2015**, 6, 6095)。GTR1 は 53 種の膜輸送体が属する NPF ファミリーのメンバーであり、既知の硝酸イオン輸送体 NPF6.3 と同様に膜上で二量体を形成する (*Nature* **2012**, 488, 531; *Plant Signal. Behav.*, **2017**, e1334749)。

2. 研究の目的

我々は偶然、GTR1 が二量体を形成する際、そのパートナーによって輸送基質のスイッチングが起こるという画期的な現象を発見した。例えば、GTR1 ホモ二量体は植物の防御物質グルコシノレートの輸送体として、また GTR1-NPF4.1 ヘテロ二量体は JA-Ile、GTR1-NPF1.2-ヘテロ二量体はジベレリンを、各々輸送する植物ホルモン輸送体として機能する。GTR1 はこれまでの輸送体の概念を一新する新しいタイプの輸送体である。本研究計画では、この発見に基づき、二量体形成の制御によって植物ホルモンなどの生理的に重要な化学因子の体内分布を人為的にコントロールする分子技術の開発を行う。

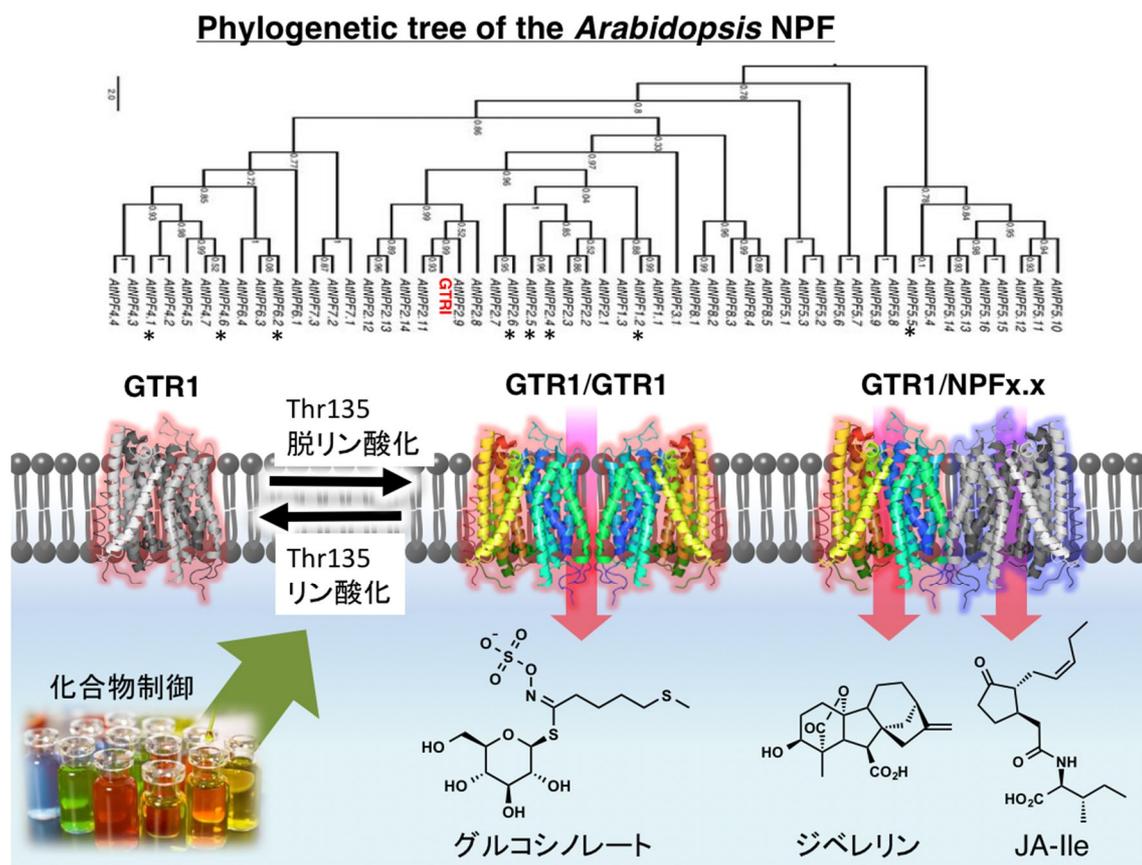


図 (上) NPF ファミリーの系統樹 (*は GTR1 とヘテロ二量体を形成するもの)、(下) ホモ/ヘテロ二量体形成と輸送基質スイッチング

本研究は「二量体形成に基づく輸送基質のスイッチング現象」に基づく、植物輸送体タンパク質機能の薬剤制御に関する計画である。従来の輸送体タンパク質に関する概念と理解を一変

させる可能性をもつ極めてインパクトの大きい研究成果が期待できる

3．研究の方法

応募者らは、GTR1 中の Thr135 がリン酸化されると単量体、脱リン酸化されると二量体となることを確認している。これらの知見に基づき、GTR1 リン酸化酵素 / 脱リン酸化酵素の同定とその特異的阻害剤の探索研究により、GTR1 の二量体形成による輸送基質スイッチングを利用して、植物の最も重要な生理活性物質である植物ホルモンの時空間的分布を制御する分子技術を開発する。酵素阻害剤としては、高い選択性と共に植物に対して低毒性であることが求められる。また、GTR1 と NPF メンバーとの組み合わせ中には、他の植物ホルモン輸送体として機能するヘテロ二量体が含まれる可能性があり、植物ホルモン受容体形成を利用して独自に開発した酵母スクリーニングシステムによって、植物ホルモン輸送能力を持つ組み合わせをスクリーニングする。

4．研究成果

GTR1 とそれ以外の 52 種の NPF ファミリーのメンバーとの組み合わせによる酵母スクリーニングシステムを構築した。植物ホルモン受容体は、2 種のタンパク質間の Protein-protein interaction によって形成される共受容体である。このため、2 種のタンパク質をそれぞれ、ベイトとプレイとした酵母ツーハイブリッドシステムによって検出が可能である。このシステムを酵母に組み込むことで、JA-Ile、ジベレリンの輸送に応答する検出系を構築した。その結果、幾つかの組み合わせで顕著な輸送活性の変化を観察することに成功し、ヘテロ二量体形成による輸送基質の変化を乾燥することができた。今後は、植物体内で同様の現象が起こっていることを証明するための実験系確立が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------