

# 生体分子情報研究領域の研究紹介

私たちの研究領域では、高等植物の可塑性な形態形成過程における分子制御機構を、分子生物学、生化学、遺伝学、逆遺伝学などの研究手法を取り入れ、できる限り生きた植物個体を用いた分子レベルでの解析により明らかにしようとしています。

現在、以下の研究テーマを進めています。

1. PIP5K およびPI(4,5)P<sub>2</sub>シグナルによる植物細胞形態形成の制御
2. ζクラスPLDの細胞内動態と機能
3. mRNA代謝を介した植物の可塑性制御機構



## 1. PIP5K およびPI(4,5)P<sub>2</sub>シグナルによる植物細胞形態形成の制御

ホスファチジルイノシトール 4,5-ビスリン酸[PI(4,5)P<sub>2</sub>]は生体膜を構成する脂質分子であり、位置情報をもつシグナルとして細胞内情報伝達においても重要な役割を果たします。PI(4,5)P<sub>2</sub>の生成酵素であるホスファチジルイノシトール 4-リン酸5-キナーゼ(PIP5K)は、シロイヌナズナではN末端にMORNモチーフを持つBタイプ(PIP5K1~PIP5K9)とMORNモチーフを持たないAタイプ(PIP5K10、PIP5K11)に分類されます。私たちは、BタイプPIP5K遺伝子の制御的役割を遺伝学的、細胞生物学的、および分子生物学的に解析し、植物におけるPI(4,5)P<sub>2</sub>シグナル伝達機構の分子基盤の解明を目指しています。今回、PIP5K7、PIP5K8、PIP5K9 遺伝子を欠失した多重変異体を用いた遺伝学的な解析により、PIP5K遺伝子の機能すなわちPI(4,5)P<sub>2</sub>シグナルが、高浸透圧ストレス下においてエンドサイトーシスを促進させることで主根の伸長に関わることを明らかにしました(Kuroda et al., *Plant J.*, 2021)。

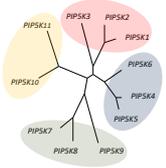


Fig. 1. Phylogenetic tree of *Arabidopsis* PIP5Ks.

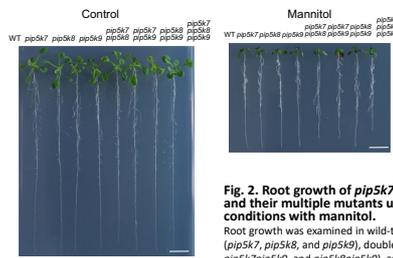


Fig. 2. Root growth of *pip5k7*, *pip5k8*, and *pip5k9* and their multiple mutants under the stressed conditions with mannitol. Root growth was examined in wild-type (WT), and single (*pip5k7*, *pip5k8*, and *pip5k9*), double (*pip5k7/pip5k8*, *pip5k7/pip5k9*, and *pip5k8/pip5k9*), and triple (*pip5k7/pip5k8/pip5k9*) mutant plants. Bars = 1 cm.

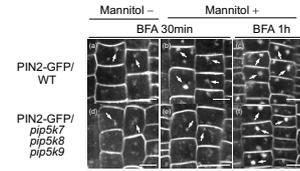


Fig. 3. Endocytic recycling of PIN2-GFP in root meristem epidermal cells of *pip5k7/pip5k8/pip5k9* under mannitol stress.

(a–f) Seedlings expressing PIN2-GFP in the wild-type (WT; a–c) and *pip5k7/pip5k8/pip5k9* (d–f) backgrounds were treated with MS liquid medium containing 25 μM BFA (a and d) or 25 μM BFA and 75 mM mannitol (b, c, e, and f) for 30 min (a, b, d, and e) or 1 h (c and f). The localization patterns of BFA bodies with the GFP fluorescence in root meristem epidermal cells were observed. Arrows indicate representative fluorescence signals of BFA bodies. Bars = 10 μm.

Kuroda et al., *Plant J.*, 2021

## 2. ζクラスPLDの細胞内動態と機能

ホスファチジン酸 (PA) はさまざまな環境ストレス応答の制御に関わると考えられています。私たちはPAの生成酵素であるホスホリパーゼ D (PLD) に注目し、細胞内動態や細胞生物学的機能、およびそれらによる膜動態の制御について解析しています。ζクラスPLDは真核生物に共通して保存されており、phox and pleckstrin homology domain (PX-PHドメイン)を持つことが知られていますが、今回、シロイヌナズナのPLDζ1 およびPLDζ2について、それらの細胞内動態と機能を詳細に観察しました。その結果、植物細胞においてはそれぞれトランスグルタゼネットワークおよび液胞膜に局在しますが、これらの局在の制御にはPX-PHドメインが重要であることを明らかにしました(Shimamura et al., *Plant Mol. Biol.*, 2021)。

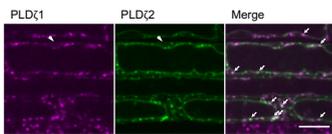


Fig. 1. Expression analyses of PLDζ1p-PLDζ1-mCherry and PLDζ2p-PLDζ2-GFP in the root tip region.

Mature lateral root cap cells harboring both PLDζ1p-PLDζ1-mCherry and PLDζ2p-PLDζ2-GFP were observed to compare the subcellular localization patterns of PLDζ1-mCherry and PLDζ2-GFP. Arrowheads in the mCherry and GFP images indicate dispersed fluorescence signals in the cytoplasmic space. Arrows in the merged image indicate typical punctate structures containing both mCherry and GFP fluorescence signals.

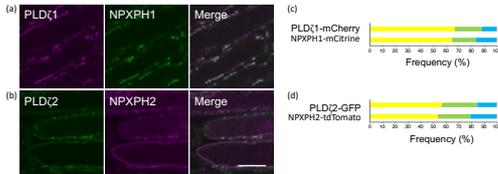


Fig. 2. Comparative analysis of subcellular localization between PLDζ1-mCherry and NPXP1-mCitrine, and between PLDζ2-GFP and NPXP2-tdTomato. (a, b) Subcellular localization patterns were compared between PLDζ1 promoter-driven PLDζ1-mCherry and NPXP1-mCitrine (a) and between PLDζ2 promoter-driven PLDζ2-GFP and NPXP2-tdTomato (b) in mature lateral root cap cells. (c, d) The results of quantitative coincidence analysis of punctate structures containing different fluorescence signals. The % values (mean ± SD, n=3) of coincident puncta with the distance no more than 0.42 μm. Bar = 10 μm.

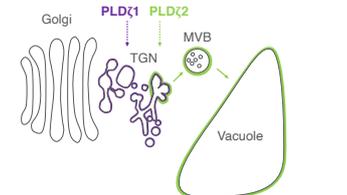


Fig. 3. Model for subcellular localizations of PLDζ1 and PLDζ2. Hypothesized subcellular localization patterns of PLDζ1 and PLDζ2 are schematically illustrated.

Shimamura et al., *Plant Mol. Biol.*, 2021

## 3. mRNA代謝を介した植物の可塑性制御機構

可塑性な形態形成制御モデルとして、植物の光環境応答に着目した研究を行っています。環境応答には、転写因子による遺伝子発現、転写されたRNAの成熟、翻訳されたタンパク質の機能と分解などが関与します。これまでに、環境応答において核に局在するCOP9シグナソーム(CSN)が転写因子の分解を制御することを報告しました。現在私たちは、CSNが転写産物のプロセッシングにも関わる仮説を立て、RNAの選択的スライシングと選択的ポリアダニル化に注目した、新規の環境適応機構を解明する研究を進めています。これまでに、RNA代謝制御因子群をコードする遺伝子を欠失したシロイヌナズナ変異体では、CSNを欠失した変異体の示す表現型と酷似した花粉や胚の形成異常を示すことを発見しました。また、選択的ポリアダニル化を制御する分子機構が動物と植物とで異なる可能性を見出しています。環境に適応する生物が、転写因子の量的制御とRNAの質的制御とをどのように用いるのか、普遍性の高い分子メカニズムについて紐解きたいと考えています。

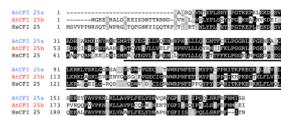


Fig. 1. The two CFI 25 in *Arabidopsis thaliana*. Comparison of amino acids of CFI 25 from *Arabidopsis thaliana* and *Homo sapiens* shows high conservation among species. Black box: conserved residue, grey box: homologous residue, black solid line, NUDIX domain.

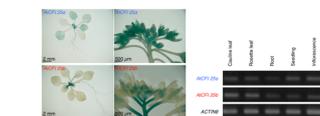


Fig. 2. *AtCFI 25* expresses ubiquitously in *Arabidopsis*. Semi-quantitative RT-PCR analysis of *CFI 25* genes shows ubiquitous accumulation of transcripts in *Arabidopsis thaliana* (right). Promoter activity of *AtCFI 25*<sub>pro::GUS</sub> and *AtCFI 25*<sub>pro::GUS</sub> was detected in the meristem and distinct floral organs (left).

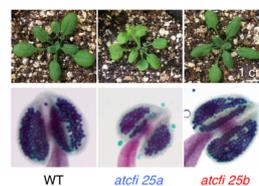


Fig. 3. Loss of function of *AtCFI 25* plants. Loss of function of *AtCFI 25a* but not *AtCFI 25b* function was essential for plant development.

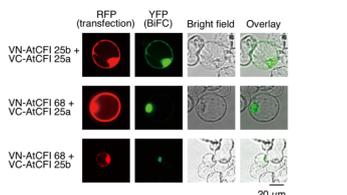


Fig. 4. *AtCFI 25a* and *AtCFI 25b* co-localizes with *AtCFI 68* and with each other. BIFC visualization of *AtCFI 25a*, *AtCFI 25b*, and *AtCFI 68* was transiently transfected to *Arabidopsis thaliana* cell cultured protoplasts.