

## 根の伸長とオーキシン応答におけるイネ細胞壁タンパク質 THRGP の機能解明

木田 朋宏 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 岩井 宏暁 (筑波大学 生命環境系)

## 【背景と目的】

植物細胞が持つ細胞壁は、セルロースなどの多糖類による複雑な構造を有しているが、その他に細胞壁タンパク質と呼ばれる構造タンパク質もまた、構成成分の一つとして挙げられる。構造タンパク質には不溶化することで構造強化し細胞壁の緩みを止めるものが知られており、その代表例は維管束植物が持つエクステンシンである。そして単子葉植物においては、特有の細胞壁タンパク質である THRGP (Threonine hydroxyproline-rich glycoprotein) が存在する。THRGP はエクステンシンと同様に、不溶化する構造を持つ。そしてイネの THRGP である *OsTHRGP* はゲノム中に1コピーのみ存在し、根や葉、葉鞘の栄養器官で発現することがわかっている。本研究で作出された *OsTHRGP* RNAi 発現抑制体 (*OsTHRGP*KD: 日本型イネ Nipponbare) を観察したところ、*OsTHRGP* 量の低下により、葉鞘と葉身の結合部分であるラミナジョイントの細胞壁の緩みの阻害されなかったことで、その角度が拡大する表現型が見られた。また、ラミナジョイントの角度が非常に広いインド型イネ (Kasalath) では、最も *OsTHRGP* 量が低下しており、ラミナジョイント角度と *OsTHRGP* の偏差蓄積には関係性があることが示されている。一方、根において、*OsTHRGP*KD の根が渦を巻いたように伸長するという回旋転倒運動の異常が見られた。根の回旋転倒運動は、オーキシン応答を必要とする植物の根の成長運動である。以上のことから、この回旋転倒運動の異常は、根における細胞壁タンパク質 THRGP の発現・蓄積とオーキシン応答との関係性が示唆される。そこで本研究では、イネの根における細胞壁タンパク質 THRGP とオーキシン応答機構の関係性について、オーキシン輸送阻害等による根の表現型への影響を調査した。根のオーキシン応答における細胞壁タンパク質の新たな機能を明らかにすることを目的としている。

## 【材料と方法】

## ・研究材料

イネ (*Oryza sativa*)

品種は日本型イネ Nipponbare の正常株 (Nipponbare-WT) および *OsTHRGP*-KD#7、#15 (Nipponbare)、そしてインド型イネ Kasalath の正常株 (Kasalath-WT) を用いた。*OsTHRGP*KD#7 は *OsTHRGP* の発現量が正常株に比べて、ラミナジョイント部分において、70%ほどに抑制されて中間的形質を示し、#15 は50%以下に抑制された強い表現型を示す。Kasalath は、*OsTHRGP* の発現量が Nipponbare-WT に比べて約10%以下に抑えられていることが分かっている。

## ・研究方法

Nipponbare-WT、*OsTHRGP*KD の#7、#15、そして Kasalath-WT を、3日間の吸水を経て2日間の水耕栽培で生育させた後、コントロール、オーキシン (インドール酢酸: IAA) 処理、オーキシン極性移動阻害剤 (N-1-ナフチルフラミン酸: NPA、トリヨード安息香酸: TIBA) 処理でさらに1日間水耕栽培で生育させた。生育後の根の表現型を回旋転倒運動に着目して観察した。

## 【結果と考察】

水耕栽培後の根を観察し比較すると、コントロール区で根の回旋転倒運動の異常が観察されたのは *OsTHRGP*-KD#15 のみであった。IAA 処理区では#7と#15に根の異常が観察された。そして、オーキシン輸送阻害剤である NPA 処理区では全ての品種において根の回旋転倒運動の異常が観察された。反対に、TIBA 処理区では全ての品種において根の異常が観察されなかった。

Nipponbare-WT と Kasalath-WT では、オーキシン輸送阻害剤である NPA を加えた場合、*OsTHRGP*KD と同様な渦巻きの根の異常が観察され、一方 *OsTHRGP*KD では、オーキシン添加でも阻害でも、根の回旋転倒運動に異常が起こった。そのため根の組織における適切なオーキシン量の制御が、THRGP が正常に働くためには重要ではないかと考えられる。*OsTHRGP*KD では細胞壁タンパク質 THRGP の局在が失われたことで、根の片側における細胞壁伸張性が不安定となり、回旋転倒運動異常を起こした可能性がある。細胞壁タンパク質 THRGP はオーキシン量の適切な制御による細胞壁調節を行うことで、根の伸長の最適化にはたらくのではないかと考えている。根の回旋転倒運動に異常が起こった部位において、縦断面切片を作成し、*OsTHRGP* の局在の免疫組織化学を用いた顕微鏡観察を行う予定である。また、Kasalath-WT はラミナジョイント部分での *OsTHRGP* 発現量が Nipponbare-WT に比べて10%以下に抑えられているにもかかわらず、根においては同じような表現型を示した。したがって、Kasalath-WT における *OsTHRGP* 量の低下と異常は地上部でのみ生じ、根では Nipponbare-WT と同様の機能を有している可能性がある。

そして、NPA 処理区と TIBA 処理区とで観察結果が異なったことは、NPA と TIBA ではターゲットの PIN タンパク質が異なることが原因として考えられる。こちらも、現在進行中である Nipponbare-WT を用いた実験により、NPA および TIBA を投与した個体における *OsTHRGP* の発現部位を明らかにする予定である。