

研究成果報告書

研究テーマ (和文) AB		ホスホイノシタイドが制御する植物細胞の形態形成メカニズムの解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Studying on the mechanism for the cell morphogenesis by phosphoinositides in plant			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) ヒラノ	名) トモコ	研究期間 B	2019～ 2021年
	漢字 CB	平野	朋子	報告年度 YR	2021年
	ローマ字 CZ	Hirano	Tomoko	研究機関名	京都府立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		平野 朋子 京都府立大学生命環境科学研究科・准教授			
<p>概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)</p> <p>まず、「FAB1による新生チューブリンのフォールディング」モデル仮説の検証のため、蛍光タグをつけた FAB1, PFD3, EB1b が共発現するライン[FAB1-GFP/PFD3-TagRFP/EB1b-Cypet]を作製し、三者のダイナミクスの観察における条件検討を行った。また、精製 FAB1 と精製 PFD1/2/3/4/5/6 複合体と、PURE システムを使って in vitro で合成した蛍光標識チューブリンを用意し、これらを混ぜて反応させた結果、微小管重合が促進されることを、共焦点レーザー顕微鏡を用いた観察と、微小管重合反応吸光度法によって確かめた。</p> <p>次に、「FAB1 が結合した小胞が、モータータンパク質 KINESIN12 によって、微小管上を輸送されるか」を検証するため、微小管標識タンパク質 Cypet-TUB6 と 2xCitrine-KINESIN12A と FAB1A-TagRFP の共発現ライン [2xCitrine-KINESIN12A/FAB1A-TagRFP/Cypet-TUB6]を作製した。そして、FAB1 結合小胞と KINESIN12 が共局在する2つの可能性(場合)、「細胞分裂の際、FAB1 が結合した小胞は、KINESIN12 が FAB1 と結合することで、フラグモプラスト上を輸送される」、「細胞外への分泌のための経路として、ゴルジ体、トランスゴルジネットワーク、前期エンドソーム後期エンドソームを経由して細胞膜への経路」について、検証した。</p> <p>根端の細胞分裂時フラグモプラストの観察では、FAB1 と KINESIN12 の高頻度な共局在はみられなかった。そこで、KINESIN12AとKINESIN12Bのダブルノックダウンのバックグラウンドで、酵素 FAB1 の産物である PI (3, 5) P2 を標識するラインを作製し観察すると、異常な根毛の膨張が起こり、PI (3, 5) P2 が細胞膜に局在できなくなっていることを確かめた。これらのデータから、FAB1-KINESIN12 のシステムが使われる場合は、「分化細胞における後期エンドソームの細胞膜への輸送時」の可能性が非常に高いことが分かった。</p>					
キーワード FA	FAB1	KINESIN12	微小管		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

To verify our hypothesis, “*de novo* tubulin is folded by FAB1”, we observed the dynamics of PFD3, FAB1, and microtubule in the line expressing those proteins tagged the fluorescent proteins [FAB1-GFP/PFD3-TagRFP/EB1b-Cypet]. Or we confirmed the polymerization of tubulin by the reaction of purified FAB1 and PFD1/2/3/4/5/6 complex, and fluorescence-labeled tubulin synthesized *in vitro*.

Next, to verify “FAB1-bound vesicles are transported on microtubules by the motor protein KINESIN12,” we observed the root tip or root hair in the co-expression line of KINESIN12, FAB1, and tubulin tagged the fluorescent proteins [2xCitrine-KINESIN12A/FAB1A-TagRFP/Cypet-TUB6].

The co-localization of FAB1 and KINESIN12 were rarely observed in phragmoplasts of root division cell. However, we observed the abnormal root hair like a balloon and no detection of PI(3,5)P2 on plasma membrane in double knockdown line of KINESIN12A and KINESIN12B.

Although we have found the novel secretion pathway, “the vesicle transport to plasma membrane via late endosomes in differentiated cells”, these data shows that the FAB1-KINESIN12 system may be used for it.