

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	植物の気孔開閉を制御する神経伝達調節因子ホモログ PATROL1 の相互作用因子解析				
研究テーマ (欧文) AZ	Studies on PATROL1 interactors for understanding molecular mechanisms of stomatal movement regulation				
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓)ヒガキ	名)タクミ	研究期間 B	2016 ~ 2018 年
	漢字 CB	桧垣	匠	報告年度 YR	2018 年
	ローマ字 CZ	Higaki	Takumi	研究機関名	熊本大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	熊本大学・准教授				
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)	<p>PATROL1 は植物の気孔開口に必要なプロトンポンプ AHA1 の細胞膜への局在化に關与する膜交通因子であり、孔辺細胞と副細胞において協調的に機能することで気孔開閉を制御する可能性が示されている。本研究では、共免疫沈降法に基づく PATROL1 相互作用因子解析を実施し、PATROL1 が微小管の構成タンパク質であるチューブリンと相互作用する可能性を見出した。そこで生細胞内での PATROL1 とチューブリンとの相互作用を検討するため、ライブセルイメージングにより両者の共局在性を検討した。まず、GFP-PATROL1 と RFP-TUA5 を同時に発現するシロイヌナズナ形質転換体を確立し、スピニングディスク式共焦点レーザー顕微鏡を用いて孔辺細胞と敷石細胞を観察した。その結果、細胞表層において GFP-PATROL1 で標識されるドット状の構造の一部が表層微小管と共局在していることを見出した。この共局在性を評価するため、輝度ピークの位置が表層微小管領域に含まれる GFP-PATROL1 ドットを表層微小管と共局在するドットと定義し、その割合を画像解析により算出した。その結果、表層微小管と共局在する GFP-PATROL1 ドットの割合は表層微小管領域が細胞面積に占める割合よりも有意に高く、GFP-PATROL1 ドットと表層微小管の共局在性が示された。また、微小管が PATROL1 の局在に及ぼす影響を調べるためチューブリン重合阻害剤により微小管を破壊したところ、細胞表層部に局在する PATROL1 ドットはほぼ完全に消失し、代わりに細胞質内に GFP-PATROL1 で標識される顆粒状の構造が出現することを見出した。以上の結果から、表層微小管は PATROL1 の局在制御を介して気孔開口運動に寄与する可能性が示唆された。</p>				
キーワード FA	気孔	微小管	イメージング	画像解析	

(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}	Quantitative confocal imaging method for analyzing cellulose dynamics during cell wall regeneration in <i>Arabidopsis mesophyll</i> protoplasts.							
	著者名 ^{GA}	Kuki et al.	雑誌名 ^{GC}	Plant Direct					
	ページ ^{GF}	E00021	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	-
雑誌	論文標題 ^{GB}	Actin reorganization triggers rapid cell elongation in <i>Arabidopsis</i> roots.							
	著者名 ^{GA}	Takatsuka et al.	雑誌名 ^{GC}	Plant Physiology					
	ページ ^{GF}	1130~1141	発行年 ^{GE}	2	0	1	8	巻号 ^{GD}	178
雑誌	論文標題 ^{GB}	PtdIns(3,5)P2 mediates root hair shank hardening in <i>Arabidopsis</i> .							
	著者名 ^{GA}	Hirano et al.	雑誌名 ^{GC}	Nature Plants					
	ページ ^{GF}	888~897	発行年 ^{GE}	2	0	1	8	巻号 ^{GD}	4
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}

A membrane trafficking factor, PATROL1, is suggested to regulate plasma membrane localization of the proton pump AHA1 that is essential for stomatal opening. In this study, we found the possibility that tubulin interacts with PATROL1 by coimmunoprecipitation analysis. To investigate the relationship between PATROL1 and tubulin in living cells, we performed dual observation of GFP-PATROL1 and RFP-TUA5 in guard cells and pavement cells in *Arabidopsis thaliana* seedlings with a spinning-disk confocal laser scanning microscope. We found that GFP-PATROL1 dots colocalized with cortical microtubules localizing just beneath plasma membranes. Our original image analysis framework quantitatively confirmed the colocalization. In addition, we also checked the effects of treatment with propyzamide, a tubulin polymerization inhibitor, on the localization of GFP-PATROL1. We observed that propyzamide treatment disrupted the GFP-PATROL1 dots near the plasma membranes. Propyzamide treatment also caused GFP-PATROL1-labeled spherical bodies in cytoplasm. These results suggested that cortical microtubules might contribute to stomatal opening movement via regulation of PATROL1 localizations.