

様式 C - 7 - 1

平成29年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	教授		
	氏名	橋本 隆		

1. 研究種目名 基盤研究(B)(一般) 2. 課題番号 17H03698

3. 研究課題名 微小管を介した環境ストレス応答

4. 研究期間 平成29年度～令和元年度 5. 領域番号・区分 -

6. 研究実績の概要

環境変化やストレスに対して適応するため、植物細胞は多様なストレス感受システムと細胞内シグナル伝達経路を進化させてきた。本研究では、浸透圧ストレスで瞬時に活性化されて微小管細胞骨格を一過的に消失させる鍵酵素PHS1の活性制御機構とその生理的意義を明らかにする。PHS1は中央部にチューブリンをリン酸化するキナーゼ領域を持ち、C末端にMitogen-activated protein kinase (MPK)を特異的に脱リン酸化させ不活性化させると報告されているMPKフォスファターゼ領域を併せ持つ。

本年度は、大腸菌で発現、精製した組換えタンパク質を用いて、PHS1の自己リン酸化部位の同定を行った。以前に全長のシロイヌナズナPHS1を用いた同様の実験ではリン酸化されたアミノ酸残基が検出されなかったため、今回はMPKフォスファターゼ領域を欠失したシロイヌナズナとゼニゴケのPHS1活性化型変異体をATP存在下で反応させた。リン酸化ペプチドの回収効率を上げるため、反応後のPHS1たんぱく質をトリプシンとLysCの2種のプロテアーゼで別個に部分分解した。その結果、複数のPHS1アミノ酸残基がリン酸化されることが判明した。その中には、推定活性化ループ近傍のセリン、スレオニン残基も含まれていたため、それらのアミノ酸残基を全てアラニンに置換した変異型PHS1を作製した。この変異型PHS1が精製チューブリンをリン酸化するかどうかを調べたところ、非変異型PHS1とほぼ同等のリン酸化活性をもつことが判明した。すなわち、粘菌のアクチン・フラグミンキナーゼ（PHS1と相同性をもつ）の類推から推定された活性化ループのリン酸化はPHS1のリン酸化酵素の活性化には必須でないことが明らかとなった。

7. キーワード

乾燥ストレス チューブリン リン酸化 MAPキナーゼ 活性化 植物

8. 現在までの進捗状況

区分 (3) やや遅れている。

理由
当初は一般のキナーゼの活性化に重要だと考えられている推定活性化ループの存在するセリン又はスレオニン残基が自己リン酸化されることによりPHS1が活性化される制御機構を想定し、実験計画を構築した。しかし、この予想に反して推定活性化ループのセリン・スレオニン残基のリン酸化はPHS1の活性化に必須ではないことが判明した。そのため、実験計画を再度練り直す必要が生じた。

2 版

9. 今後の研究の推進方策

本年度の実験結果を踏まえ、実験計画を一部修正した。まず、研究の後半で主に行う計画であったMPKの同定実験を前倒しを行い、同定したMPKを用いたPHS1のリン酸化について実験を行う。さらに、推定活性化ループのセリンやスレオニン残基以外のアミノ酸残基にも着目し、それらアミノ酸残基の置換変異型PHS1を複製して、そのチューブリン・リン酸化活性を測定することにより、活性化に重要なアミノ酸残基を明らかにしてゆく。

10. 研究発表（平成29年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著論文 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 J.H. Wong, and T. Hashimoto	4. 巻 17
2. 論文標題 Novel Arabidopsis microtubule-associated proteins track growing microtubule ends.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Plant Biol.	6. 最初と最後の頁 33
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12870-017-0987-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takatani S, Ozawa S, Yagi N, Hotta T, Hashimoto T, Takahashi Y, Takahashi T, Motose H	4. 巻 7
2. 論文標題 Directional cell expansion requires NIMA-related kinase 6 (NEK6)-mediated cortical microtubule destabilization.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7826
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-08453-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 K. Soga, C. Yamazaki, M. Kamada, N. Tanigawa, H. Kasahara, S. Yana, K.H. Kojo, N. Kutsuna, T. Kato, T. Hashimoto, T. Kotake, K. Wakabayashi, and T. Hoson	4. 巻 162
2. 論文標題 Modification of growth anisotropy and cortical microtubule dynamics in Arabidopsis hypocotyls grown under microgravity conditions in space.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Physiol. Plant.	6. 最初と最後の頁 135-144
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pp1.12640	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 橋本 隆
2. 発表標題 Microtubule-mediated stress responses in plants
3. 学会等名 Actin and Microtubule Cytoskeleton: Bridging Scales from Single Molecules to Tissues (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 橋本 隆
2. 発表標題 Microtubule-mediated stress responses in plants
3. 学会等名 Plant Cell & Developmental Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 橋本 隆
2. 発表標題 Temporal remodeling of plant microtubule cytoskeleton by fluctuating stresses
3. 学会等名 Plant Cell and Developmental Biology: Approaches to Multiscale Biosystems (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

1 1. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

【研究代表者・所属研究機関控】

日本学術振興会に紙媒体で提出する必要はありません。

2 版

1 4 . 備考

植物細胞機能 (橋本研)
<https://bsw3.naist.jp/hashimoto/>