

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔平成29年度研究進捗評価用〕

平成26年度採択分  
平成29年3月6日現在

気孔装置解析による植物独自の高次情報処理のパラダイム提案  
Higher-Order Functions of Stomatal Guard Cells in Plant  
Environmental Adaptation



課題番号：26221103

射場 厚 (IBA KOH)

九州大学・大学院理学研究院・主幹教授

研究の概要

気孔を植物の高次情報処理・発信の主軸器官として捉え、そこで外部環境と植物体内の状況の把握と処理を担う因子や他器官（細胞）とのコミュニケーションに携わる因子の発掘及び新メカニズムの発見にチャレンジする。気孔における高次情報処理システムの分子実体を明らかにすることにより、植物独自の情報統括処理のパラダイムを提案する。

研究分野：植物生理学

キーワード：気孔、CO<sub>2</sub>、環境応答、葉緑体

1. 研究開始当初の背景

気孔は体内と大気環境とをつなぐ通路として、植物がガス交換を行うための器官である。光合成において外気からCO<sub>2</sub>を取り込むために気孔を開くことが必要だが、水分損失や病原菌の侵入を防ぐためには閉じなければならない。どのように気孔を開くのがよいかは環境条件によって異なり、生存のためには厳密な制御が必要である。そのために、気孔は、光や湿度、CO<sub>2</sub>、オゾンといった大気成分、生物的エリッター刺激などの外部環境情報と、全身の代謝バランスなどの生体情報の集積地となっている。植物個体の成長や生存に最適な体内環境を維持するように、気孔はこれらの情報を統合し、ガス交換効率を最適化する高度の情報処理システム（高次情報処理システム）を備えていると考えられる。

2. 研究の目的

高次情報処理は多様な環境で植物が生き延びるための要であるが、その分子実体に迫る研究は極めて乏しい。そこで、生体情報の集積地となっている気孔における高次情報処理の仕組みを明らかにすることによって、植物における情報統御のパラダイムについての提案を行なう。

3. 研究の方法

以下に挙げる4つの研究アプローチから、気孔装置における多重環境情報処理の接点を見だし、植物独自の高次情報処理システムの事例としての分子実体に迫る。

(1) 気孔の高次情報処理中枢としての孔辺

細胞葉緑体の機能の解明

(2) 膜交通因子 PATROL1 を介した孔辺細胞・副細胞間コミュニケーションによる気孔機能制御の解明

(3) 高精度環境試験機を用いた気孔応答変異体スクリーニングによる新規CO<sub>2</sub>シグナル伝達因子および高次情報処理に関わる因子の探索

(4) SLAC1 陰チャンネルにおけるCO<sub>2</sub>情報感知・処理機構の解明

(5) SCAP1 転写因子を介した気孔成熟・機能化機構の解明

4. これまでの成果

(1) 気孔には他の表皮系細胞に存在しない葉緑体の特異的に存在する。孔辺細胞における葉緑体の機能について不明な点が多く、その形成メカニズムも分っていない。この葉緑体の機能と形成機構を解明するために、シロイヌナズナ気孔CO<sub>2</sub>非感受性変異体集団の中から孔辺細胞葉緑体を失った変異体 *gles1* を単離した。*gles1* の表現型解析から、この葉緑体が光とCO<sub>2</sub>の2つの環境情報を選別する機能を持っていることが明らかになった。また、GLES1 因子は、CO<sub>2</sub>シグナル伝達系の因子と相互作用する可能性があることが分かった。

(2) 気孔開口を駆動するプロトンポンプ AHA1 の細胞膜への局在化を行う膜交通因子 PATROL1 の発見により、気孔開閉運動においてAHA1の膜交通を介した新たな制御メカニズムの存在が示唆されている。エキソサイトーシス

エンドサイトーシスに関わる因子、セカンドメッセンジャーなどに対する特異的阻害剤を作用させたときの CO<sub>2</sub> 濃度または光強度変化に伴う気孔応答性を調べた結果、特定のホスホイノシタイド分子種の量的変動が PATROL1 機能に関わっていることが分かった。このホスホイノシタイド分子種の合成阻害剤は気孔開閉応答を阻害するが、阻害剤耐性シロイヌナズナ変異株を単離し、その原因遺伝子の同定と機能解析を進めている。

(3) 従来の人工気象機では気孔の湿度応答と CO<sub>2</sub> 応答を独立させて測定する環境を作り出すことが困難であった。安定した湿度環境を維持し、乾燥シグナル (ABA) 伝達系と CO<sub>2</sub> シグナル伝達系が相互干渉しないような環境設定ができる高精度環境試験機を作製し、気孔応答変異株の網羅的スクリーニングを行った。このスクリーニングによって、気孔の CO<sub>2</sub> 応答のみが欠損した変異株、ABA 合成とその応答が正常であるが気孔の環境応答で湿度応答のみが欠損した変異株などを単離した。これらの原因遺伝子の同定と機能解析を進めている。

(4) 気孔閉鎖を駆動する陰イオンチャンネル SLAC1 に CO<sub>2</sub> シグナル受信部位が存在し、細胞膜貫通領域の 2 つのアミノ酸残基がそのシグナル受信に関与していることを明らかにした。SLAC1 には乾燥シグナル (ABA シグナル) を受信する部位があることは報告されていたが、それとは異なる部位で CO<sub>2</sub> を受信していることが分かった。このことは、SLAC1 チャンネルが気孔閉鎖シグナルである CO<sub>2</sub> シグナルを乾燥シグナルから区別し、かつ、それらの情報を統合して植物の環境適応のために機能していることを示している。

(5) SCAP1 は、気孔分化の成熟過程において機能を獲得するための様々なプロセスを統御する転写因子であり、欠損すると多数の気孔関連因子の発現が攪乱され、気孔の開閉応答能が完全に失われる。形質転換植物やトランジェントアッセイなどによる SCAP1 遺伝子のプロモーター削り込み解析などから、DREB 転写因子の一つが直接的な制御因子の候補として挙げられた。現在、RNAi や ChIP アッセイなどにより確定を行っている。

## 5. 今後の計画

・孔辺細胞または副細胞、それぞれの細胞でのみ PATROL1 を発現させた場合の PATROL1 や AHA1 の挙動や気孔開閉運動への影響について調べる。2 つの細胞間でエキソサイトーシス/エンドサイトーシスを引き起こす情報伝達物質、また、そのシグナル伝達経路について調べ、気孔開閉制御における役割について考察する。

・ SLAC1 タンパク質の X 線結晶構造解析を行い、チャンネル活性調節機構について考察する。また、シロイヌナズナ SLAC1 の CO<sub>2</sub>、ABA シグナルの受容に関わるリン酸化部位の情報を用いて、イネ SLAC1 における対応リン酸化部位を推定する。それらのリン酸化部位のアミノ酸を置換した改変型 SLAC1 を SLAC1 機能欠失株 (*slac1* 変異株) に導入し、ドミナントネガティブ形質転換イネを作成する。高精度環境シミュレーターを用いた準フィールド環境におけるこの形質転換イネの環境適応力を評価する。

・ SCAP1 の発現は気孔形成の終盤に限られている。SCAP1 を異所的に発現させると植物は白化することからも、SCAP1 の発現は時空間的に制御されていることが予想される。SCAP1 の発現を制御している上流因子を同定することで、気孔成熟 (機能化) の分子的なルートマップを作成する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)  
Hashimoto-Sugimoto, M., Negi, J., Monda, K., Higaki, T., Isogai, Y., Nakano, T., Hasezawa, S., Iba, K. Dominant and recessive mutations in the Raf-like kinase HT1 gene completely disrupt stomatal responses to CO<sub>2</sub> in Arabidopsis. *J. Exp. Bot.* 67:3251-3261. (2016)

Monda, K., Araki, H., Kuhara, S., Ishigaki, G., Akashi, R., Negi, J., Kojima M., Sakakibara, H., Takahashi, S., Hashimoto-Sugimoto, M., Goto, N., Iba, K. Enhanced stomatal conductance by a spontaneous *Arabidopsis* tetraploid, Me-0, results from increased stomatal size and greater stomatal aperture. *Plant Physiol.* 170:1435-1444. (2016)

Yamamoto, Y., Negi, J., Wang, C., Isogai, Y., Schroeder, J.I., Iba, K. The transmembrane region of guard cell SLAC1 channels perceives CO<sub>2</sub> signals via an ABA-independent pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 28:557-567. (2016)

Engineer, C., Hashimoto-Sugimoto, M., Negi, J., Rappel, W-J., Iba, K., Schroeder, J. CO<sub>2</sub> sensing and stomatal conductance regulation: advances and open questions. *Trends Plant Sci.* 21:16-30. (2016)

ホームページ等

<http://www.biology.kyushu-u.ac.jp/~plant/>