

令和元年6月3日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15194

研究課題名(和文) C4植物における光に依存した気孔開口の分子機構の解明

研究課題名(英文) Basic research on investigate light response of stomata in C4 plant

研究代表者

Wang Yin (Wang, Yin)

名古屋大学・高等研究院(WPI)・特任助教

研究者番号：20725692

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：気孔は2つの孔辺細胞により構成され、主に陸上植物の葉の表皮に存在する小さな穴である。気孔の青色光への応答は、多くのC3植物において気孔開度を調節するより重要な応答である。しかし、申請者は、C4植物ではC3植物で一般に見られる青色光に依存した気孔開口が見られないことを見出した。植物の進化上、C4植物はC3植物から進化したと考えられており、青色光応答性の欠損とC4植物の進化には関連性がある可能性が考えられる。本課題では、C4植物における青色光に依存した気孔開口機能欠損の分子機構を解明することを目的として、様々な研究手法によりC4植物気孔の特性の解析を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、C4植物において青色光に依存した気孔開口機能が欠損することは全く知られていなかった。気孔の青色光への応答性はシダ植物、裸子植物、被子植物のすべてのC3植物で見出されている。C4植物は、進化の歴史の中で、C3植物より後に登場した。このことは、C3植物が一度獲得した青色光に対する応答能をどのように封印したのか？進化的な視点からも大変興味深い問題である。本研究の成果は、C4植物における気孔の基礎理論を理解することに役立つだけでなく、食糧やバイオ燃料植物として重要作物の多いC4植物における気孔応答や光合成を改善する将来的な応用研究に非常に有用な知見を提供すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The blue-light response, independent of leaf photosynthesis, is a critical response on regulating stomatal opening in many C3 plant. However, the applicant found that in C4 plant, the stomata probably lack this blue-light response. This research proposal is planned to investigate this novel phenomenon in details, and explore possible reasons why do stomata of C4 plant lack blue-light response.

In this study, physiological and biosynthetic analysis of stomatal opening reaction defects dependent on blue light in C4 plants was carried out. Monocotyledonous and dicotyledonous leaves and three subtypes of C4 plant including Arabidopsis, rice, corn, sorghum, guinea grass, Amaranthus, C3 or C4 species each of the Flaveria genus were used in this study. By performing an experimental method such as immunostaining of the gas exchange system and isolated epidermis or guard cells, the main causes of stomatal opening reaction defect dependent on blue light were analyzed in detailed.

研究分野：生命科学

キーワード：気孔 C4植物 光応答 フラベリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

気孔は2つの孔辺細胞により構成され、主に陸上植物の葉の表皮に存在する小さな穴である。葉の表面は空気と水に対しほぼ不透過性であることから、気孔は大気と葉の内部との間のCO₂、O₂、及び水蒸気のガス交換のための主要な経路となっている。気孔開口によるガス交換は、植物の光合成と蒸散の中で最も本質的なプロセスの一つである。光は気孔開口を刺激する主な因子の1つであり、また様々な機構が種々の光波長に応答した気孔開口の根底にある。赤色光は、葉肉および孔辺細胞葉緑体における光合成や細胞間隙CO₂濃度の低下を介して気孔開口を引き起こすと考えられている。

一方で、C₄型光合成を行うトウモロコシ (*Zea mays*) やソルガム (*Sorghum bicolor*) は非常に重要な食糧であり、近年バイオ燃料植物としても注目されているが、これまでC₄植物の気孔応答については詳細が調べられていなかった。そこで、C₄植物における気孔応答を調べたところ、興味深いことに、C₄植物においては青色光に依存した気孔開口が見られないことを発見した強い赤色光の背景に弱い青色光パルスを照射すると、シロイヌナズナ (C₃植物) の気孔コンダクタンスはすぐに増加するが、トウモロコシ (C₄植物) では青色光による増加が見られなかった。また、単離表皮においても青色光による気孔開口が見られなかった。さらに、その他の単子葉C₄植物であるソルガムや双子葉C₄植物であるアマランサスやフラベリアにおいても同様な結果が得られており、C₄植物に共通した普遍的な現象であると考えられる。しかしながら、これまでC₄植物が青色光に依存した気孔開口が欠損することについては報告がなく、どのようにして青色光に対する応答能を欠損したのか、その分子機構は不明である。

2. 研究の目的

これまでの気孔の光応答性の研究は、主にC₃植物を用いた研究であり、C₄植物の気孔の光応答性に関する研究はほとんどない。本研究はC₄植物の気孔の機能を詳細に解析して、C₃植物とC₄植物の気孔応答の違いを明らかにする。また、C₃植物とC₄植物の孔辺細胞の遺伝子発現プロファイルを解析するより、C₄植物における青色光に依存した気孔開口機能欠損の分子機構を解明する。

3. 研究の方法

これまでの研究より、C₄植物では、青色光に依存した気孔開口反応が欠損していることが明らかとなってきた。本研究では、トウモロコシ、フラベリア属のC₃植物及びC₄植物を実験材料として用い、C₄植物における青色光に依存した気孔開口反応欠損の生理・生化学的解析、青色光に依存した気孔開口反応欠損に関わる因子の同定、同定した因子の青色光に依存した気孔開口における役割の解明を行い、この現象の分子機構と生理的意義を明らかにする。

4. 研究成果

(1) C₄植物における青色光に依存した気孔開口反応欠損の生理・生化学的解析を行った。単子葉と双子葉及びC₄植物の3サブタイプの代表種共計10種類の植物(シロイヌナズナ、イネ、トウモロコシ、ソルガム、ギニアグラス、アマランサス、フラベリア属のC₃又はC₄種各2種)を用い、ガス交換システムや単離表皮又は孔辺細胞の免疫染色などの実験手法を行って、C₄植物の特殊な気孔開口反応と青色光に依存した

気孔開口反応欠損の主な原因について詳細的に解析した。

(2) 単離したフラベリアの C3 植物と C4 植物の孔辺細胞プロトプラスト用い、遺伝子発現の網羅的比較として次世代シーケンサーを用いた RNAseq を行った。

(3) 両植物間で発現量の大きく異なる因子を同定し、その中に三つの候補因子の配列を調べて、RT-PCR で発現量の違いを確認した。また、一つの候補因子を用い、シロイヌナズナに導入して、気孔の青色光応答の生理機能を確認した。

(4) 同定した一つの候補因子の C4 種フラベリアに形質転換用プラスミドを作成し、C4 種フラベリアに導入し、形質転換体を得られた(関西学院大学の宗景先生の協力より)。そして、形質転換体の T1 種子を収穫して、次の T2 植物を用いて、気孔青色光応答の回復を調べる、C4 植物における青色光に依存した気孔開口機能欠損の分子機構の解明に近づいている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

Yin Wang, Toshinori Kinoshita、Measurement of Stomatal Conductance in Rice、Bio-protocol、査読有、Vol 7, Iss 08、2017、pp. 1-6

DOI:10.21769/BioProtoc.2226

Lawson Tracy, Terashima Ichiro, Fujita Takashi, Wang Yin、Coordination Between Photosynthesis and Stomatal Behavior、The Leaf: A Platform for Performing Photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration (Including Bioenergy and Related Processes)、査読有、Vol, 44、2018、pp. 141-161

https://doi.org/10.1007/978-3-319-93594-2_6

[学会発表](計 3 件)

Yin WANG, 戸田陽介, 藤茂雄, Wenxiu Ye, 木下俊則、気孔開閉と植物光合成の関連研究、植物学会(招待講演)、2017年9月

Wang Yin、Stomata with a big impact、IOE Symposium on Ecological Research, Institute of Ecology (IOE), Peking University (招待講演)、2018年6月

Wang Yin、Frontier researches in plant stomata、International Young Scholar Forum on Botany, Institute of Botany, CAS (招待講演)、2018年9月

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：宗景ゆり（関西学院大学）

ローマ字氏名：Munekage Yuri

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。