

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究 (S)

研究期間：2008~2012

課題番号：20227001

研究課題名 (和文) 葉緑体光定位運動における新規アクチン構造の機能解析

研究課題名 (英文) Functional Analysis of Newly-found Actin Structure Involved in Chloroplast Photorelocation Movement

研究代表者

和田 正三 (WADA MASAMITSU)

九州大学・大学院理学研究院・特任教授

研究者番号：60011681

研究分野：植物生理学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：葉緑体、アクチン繊維、光応答、フォトトロピン、シロイヌナズナ、シダ

1. 研究計画の概要

葉緑体光定位運動は、植物が効率良く光合成を行なうためのみならず、強光下での光障害を避けるために必須の生理現象である。従来、細胞内に既存のアクチン繊維を介した運動と考えられていたが、我々は、今迄に報告の無い新規の葉緑体光定位運動に働く葉緑体アクチン(cp-actin)繊維を発見した。葉緑体独自の細胞小器官移動様式としての cp-actin 繊維の構造と機能の解明を通して葉緑体運動のメカニズムを明らかにする。

2. 研究の進捗状況

(1) 研究方法：時間的・空間的分解能の高いライカ共焦点レーザー顕微鏡 SP5 を購入し、葉緑体運動誘導に必須な、細胞の一部に光照射するための改変を行なった。これにより、cp-actin 繊維の詳細な挙動、我々が選抜した cp-actin 繊維の重合・維持・制御に関わるタンパク質因子 phot1, phot2, CHUP1, KAC1, KAC2, WEB1, PMI2 などの詳細な解析が可能となった。また共同研究により全反射顕微鏡による cp-actin 繊維の解析、クライオ電顕、タンパク質因子の結晶解析を行なった。

(2) 成果：

①cp-actin 繊維：cp-actin 繊維は強光照射後 30 秒以内に約 0.5 μ m のフラグメントに分解された後消失し、その後 30 秒以内には葉緑体の移動方向前半部で重合が開始されること、この脱重合・重合過程では cp-actin 繊維の一端に常に CHUP1 が点状に観察されることが明らかになり、CHUP1 が cp-actin 繊維の重合中心である可能性が強く示唆された。

②CHUP1：CHUP1 は葉緑体の外包膜上に存在し、光条件に依存したダイナミックな分

布変化をすることが分った。弱光下では葉緑体周縁部に小さい粒状に点在するが、強光照射で粒は解消され、葉緑体全体に均一に分散した後、葉緑体同士が接する部分に単一の巨大な粒として出現する。その後の暗黒下で、巨大粒は脱リン酸化によって徐々に消失し、同時に葉緑体と細胞膜間の cp-actin 繊維上に現れる。この一連の変化は phot2 依存であり、phot2 と CHUP1 の結合が酵母ツーバイブリッド法で観察されている。

③その他の因子：KAC1, KAC2, WEB1, PMI2 は cp-actin 繊維の維持や制御に働くこと、JAC1-J ドメインは結晶構造解析から HsP70 を介して作用することが示唆された。

④ミオシン：葉肉細胞で発現する主なミオシン XI 4 重変異体ではミトコンドリア等の細胞小器官は移動不能となるが、葉緑体運動、cp-actin 繊維の挙動は正常であり、葉緑体運動にミオシン XI の関与は無いと考えられた。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に達成している。

(理由) ①葉緑体の移動方向は、phot2 依存のリン酸化・脱リン酸化によって CHUP1 が葉緑体移動方向前半部に分布を移し、その結果 cp-actin 繊維の重合位置が規定されることによって決まることを明らかにした。

②同定した多数の因子の機能・相互作用の解析から、phot による光受容から葉緑体の運動に至る信号伝達の概要を明らかにした。

③ミオシン関与を強く否定する結果を得て、cp-actin 繊維研究の新規性を示した。

これらの結果 (特に①、③) は研究当初の予想を越えた結果であり、3 年間の研究でここ迄来られるとは思わなかった。

4. 今後の研究の推進方策

- ① CHUP1, KAC1 複合体構成要素の解明。野生型, 変異体等から免疫沈降で得た試料を質量分析機で同定し、比較・解析する。
- ② CHUP1 リン酸化部位の決定。Phot2 依存的リン酸化部位の決定と、その役割を解明する。
- ③ CHUP1 (またはその複合体) の cp-actin 重合能の解明。アクチンの専門家と共同研究を開始している。
- ④ cp-actin 繊維の微細構造の解明。高圧急速凍結試料の超薄切片法、フリーズエッチング法、クライオ電顕等による。専門家と共同研究を行なっている。

5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 17 件)

- ① Kodama, Y., N. Suetsugu, S.-G. Kong, M. Wada. Two interacting coiled-coil proteins, WEB1 and PMI2, maintain the chloroplast photorelocation movement velocity in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107: 19591-19596, 2010. 査読有
- ② Suetsugu, N., N. Yamada, T. Kagawa, H. Yonekura, T. Q. P. Uyeda, A. Kadota, M. Wada. Two kinesin-like proteins mediate actin-based chloroplast movement in Arabidopsis thaliana. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107: 8860-8865, 2010. 査読有
- ③ Takano, A., N. Suetsugu, M. Wada, D. Kohda. Crystallographic and functional analyses of J-domain of JAC1 essential for chloroplast photorelocation movement in Arabidopsis thaliana. Plant Cell Physiol. 51:1372-1376, 2010. 査読有
- ④ Kadota, A., N. Yamada, N. Suetsugu, M. Hirose, C. Saito, K. Shoji, S. Ichikawa, T. Kagawa, A. Nakano, M. Wada. Short actin-based mechanism for light-directed chloroplast movement in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106:13106-13111, 2009. 査読有
- ⑤ Oikawa, K., A. Yamasato, S.-G. Kong, M. Kasahara, M. Nakai, F. Takahashi, Y. Ogura, T. Kagawa, M. Wada. Chloroplast outer envelope protein CHUP1 is essential for chloroplast anchorage to the plasma membrane and chloroplast movement. Plant Physiol. 148: 829-842, 2008. 査読有

[学会発表] (計 41 件)

- ① Wada, M. Factors controlling the existence of chloroplast actin filaments involved in

chloroplast movement. Gordon Research Conference on "Photosensory Receptors & Signal Transduction". Il Ciocco, Italy. April 18 -23, 2010. (Invited speaker)

- ② Wada, M. The mechanism of chloroplast photorelocation movement 9th IPMB Congress, St.Louis, Missouri, USA, October 25 - 30, 2009. (Invited speaker)

- ③ Wada, M. Chloroplasts move towards or away from light, why and how? 15th International Congress on Photobiology, Dusseldorf, Germany, July 18-23, 2009. (Presidential lecture as the President)

- ④ Wada, M. The mechanisms of chloroplast photorelocation movement. Keystone Symposium 'Plant Sensing, Response and Adaptation to the Environment', Org. by S. Kay & J. Chory, Big Sky, Montana, USA, January 11-16, 2009. (Invited speaker)

- ⑤ Wada, M. Photoperception and the mechanism of chloroplast photorelocation movement. The Ins and Outs of Chloroplasts, Osaka University, Osaka, October 14, 2008. (Plenary lecture)

[図書] (計 3 件)

- ① Wada, M., S-G. Kong. Analysis of chloroplast movement and relocation. In: Arabidopsis Methods in Molecular Biology, Ed. RP Jarvis, Humana Press, New York. in press
- ② Suetsugu, N., M. Wada. Chloroplast photorelocation movement. In: Plant Cell Monographs, The Chloroplast-Interaction with Environment. Ed. AS Sandelius and H Aronsson, Springer, Berlin Heidelberg. Pp. 235-266, 2009.

[その他] (計 8 件)

報道関係情報

- ① 西日本新聞 学校教育欄「理科大好き＝葉緑体」2010年1月12日
- ② 岐阜新聞 サイエンスズームアップ欄「強い光から逃げる葉緑体」2010年1月7日
- ③ Science 326:1058 MEETINGBRIEFS 欄「Chloroplast shuffle」2009年11月20日
- ④ 朝日新聞 科学欄「葉緑体に新たな運動機構」2009年8月11日

ホームページ

<http://wadalab.biology.kyushu-u.ac.jp/>