

平成 23 年 5 月 12 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20770031

研究課題名（和文）

光屈性の分子メカニズム解明：青色光受容体フォトトロピンによる小胞輸送制御

研究課題名（英文）

Molecular mechanism of phototropism:

Regulation of vesicular trafficking by blue light receptor, phototropin.

研究代表者

鈴木 友美 (SUZUKI TOMOMI)

京都大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：10362435

研究成果の概要（和文）：

植物は動物のように食べ物を求めて動き回ることは出来ません。そのため植物は自分の生育する場所で、より効率よく栄養を得るために、自らの形態を変化させます。「光屈性」もそのような形態変化の一つで、光を求め、植物は光の方向に体を屈曲させます。では、どのように植物は光を感じ、どのような「しくみ」で屈曲させているのか。今回の研究では、その「しくみ」を構成する因子の一つが明らかになりました。

研究成果の概要（英文）：

The plant cannot move around for nutrient like the animal. Therefore, to obtain nutrient more efficiently in the place where the plant is grown, it changes an own morphology. "Phototropism" is one of such the morphological changes, and the plant bends the body in the direction of the light to obtain light energy efficiently. Then, how does plant sense the light, and how is the mechanism of the tropism? In this research, a part of the mechanism of the phototropism was clarified.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野： 生物学

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：環境応答、青色光受容体、光屈性、シロイヌナズナ、小胞輸送

1. 研究開始当初の背景

動くことの出来ない植物にとって、光は光合成に必要なエネルギー源だけでなく、発生・形態形成や生理応答を調節する重要な「環境シグナル」である。「環境シグナル」としての光は、光合成を行うような高エネルギーのものではなく、短時間で有効且つ、低エネルギーのものが多。このことから、植物は僅かな光変化を的確に感知し、生存環境に適応するための巧妙な機構を幾つか獲得してきたと考えられる。高等植物において、その構成成分の一つである光受容体は3種類（フィトクロム・クリプトクロム・フォトトロピン）存在しており、変異体を用いた遺伝学的解析等により各受容体が感知する光波長や、生理作用が明らかとなっている。

フォトトロピンは 450nm 付近の青色光を感知し、光屈性・葉緑体定位運動・気孔開口を誘引する因子である。これまでに単細胞緑藻類から高等植物において phot の存在が報告されており (Onodera *et al.*, 2005)、シロイヌナズナでは、光屈性を示さない変異体の解析から *PHOTOTROPIN 1 (PHOT1)* 遺伝子が取得された (Huala *et al.*, 1997; Liscum and Briggs, 1995)。phot1 は、N 末端側にフラビンを発色団として結合する発色団領域と C 末端側の Ser/Thr キナーゼ領域からなる素タンパク質であり、細胞膜と結合して存

在すると言われている。*PHOT1* のホモログとして *PHOTOTROPIN 2 (PHOT2)* が取得され (Jarillo *et al.*, 1998)、変異体の解析から phot1 と同様の生理反応に加え、強光下での葉緑体の逃避反応に特異的に関与していることが明らかとなった (Kagawa *et al.*, 2001)。様々な遺伝学的解析によりフォトトロピン反応に関与する因子が幾つか取得されている。CHUP1 (Oikawa *et al.*, 2003)、JAC1 (Suetsugu *et al.*, 2005)、PMI1 (Deblasio *et al.*, 2005) は葉緑体の配置そのものに必須な因子であり、これら変異体では光に応答した葉緑体運動が観察されない。NPH3 (Motchoulski and Liscum, 1999)、RPT2 (Sakai *et al.*, 2000) は植物に特有な分子ファミリー (BTB/POZ) に属し、*PHOT1* の N 末端領域と物理的に相互作用する。これら変異体は *PHOT1* を介した光屈性を示さなくなる。光屈性のメカニズムに関しては、青色光によって誘導されるオーキシンの濃度勾配が細胞伸長を制御すると考えられている (Iino, 2001)。オーキシンの極性輸送は、排出キャリアーである PIN の細胞内偏在によって生じると考えられ (Friml, 2003)、重力刺激によってこの偏在が小胞輸送を介して変化することが明らかとなっている (Geldner *et al.*, 2001, 2003)。青色光照射によっても PIN の局在変化が推測されるが、その詳細に関しては明らかとなっていない

い。

上述のように様々な因子が取得・解析されてはいるものの、フォトトロピンの細胞膜結合様式及び相互作用因子を含めた詳細な情報伝達機構に関しては未だ不明である。本研究では、環境に応答した植物の形態変化の一つである「光屈性」に着目し、そのメカニズムを分子レベルで明らかにしようと試みた。

2. 研究の目的

植物は光合成によって光エネルギーを利用して空気中の CO_2 からデンプンなどの炭水化物を合成し、反応課程で生じた酸素を空气中に放出する。そのため光合成効率の向上は、炭素固定による食料生産性の向上や高栄養価の食料開発だけでなく、温室効果ガスの一つである CO_2 の吸収など地球規模の環境改善に繋がると考えられる。光合成に必要な光はクロロフィルによって受容される一方、光の種類や強弱などの光環境はフィトクロム、クリプトクロム、フォトトロピンなどの光受容体によって感知されることが知られている。光受容体の中でも青色光を受容するフォトトロピンは、「葉緑体定位運動・光屈性・気孔開口・葉の偏平化」など光合成の効率化に寄与する応答に関わっている。このフォトトロピンの情報伝達機構を知ることによって、光合成能の効率的な向上を目指せるのではないかと考えた。

3. 研究の方法

本研究課題では以下の2項目について焦点を絞り解析を行う。

まず第1に、「植物はどのようなしくみで光に向かって曲がるのか？」という疑問を明

らかにすべく、フォトトロピン分子そのものに着目し、「フォトトロピンの光受容後の分子機構」について解析する。具体的にはフォトトロピンが関与する反応と相互作用因子、そして局在について分子生物学的、生化学的、細胞生物学的解析を駆使した研究により明らかにする。特に、局在に関しては、光受容体が機能する細胞内の場を明らかにするための新規手法を開発することで、詳細な局在場所とそれに関わる因子の取得を行う。以上の研究により、光屈性をはじめとするフォトトロピン応答の分子メカニズムが明らかになるだけでなく、細胞生物学において新規手法・新規概念が確立される可能性があるを期待している。

第2に、我々がフォトトロピン相互作用因子として取得した小胞輸送関連因子の分子機構を調べることで「フォトトロピンによる小胞輸送制御」について明らかにする。特に、生化学的活性と局在の制御について詳細に調べる。生体分子の輸送を担う小胞輸送は生物において重要な生命現象であり、植物だけでなく生物学全般において最も注目される現象の一つである。生物のホメオスタシスの維持に重要な役割を担っている小胞輸送が、光環境刺激によって調節を受けるという概念は非常に興味深く、フォトトロピン情報伝達機構の解明だけに留まらない生命現象の解明に貢献できる可能性がある。

4. 研究成果

青色光受容体フォトトロピンによる光屈性の分子メカニズム解明に向け、本研究課題においては以下の成果を得るに至った。

(1)「植物はどのようなしくみで光に向かって曲がるのか？」という疑問を明らかにすべく、フォトリポピン分子そのものに着目した「フォトリポピンの光受容後の分子機構」についての解析を行った。その結果を以下に示す。

① 機能ドメインの特定

シロイヌナズナの **phot1**、**phot2** は分子構造が非常に似ており、N 末端側に光受容ドメイン、C 末端側にキナーゼドメインを有する。両者は似た生理応答を示すものの、光感受性や一部の応答に関して異なる反応を示す。その性質の特異性に関わる領域を明らかにするために、**phot1**、**phot2** 各々の N 末端側・C 末端側をスワップさせたキメラタンパク質を植物体で発現させ、その生理応答を詳細に解析した。その結果、光感受性には N 末端側の構造が重要であること、C 末端側のキナーゼは機能的に取替可能であることなどを明らかにした(発表論文①、学会発表⑦参考)。

② フォトリポピンキナーゼの特異性

上述①の結果から、フォトリポピンのキナーゼ領域に置いては特異性が観察されなかった。そこで、フォトリポピンが属する AGC VIII キナーゼ群に属する幾つかのキナーゼを植物体で異所的に発現させることで、キナーゼ領域の特異性に関わる領域の特定を試みた。その結果、生理応答における各キナーゼの特異性は観察されるものの、一部のキナーゼにおいては他のキナーゼと情報伝達系において重複することが明らかとなった(学会発表③参考)。今後、情報伝達のクロストークに関してより詳細に解析を行う。

③ リン酸化基質の候補取得

キナーゼタンパク質であるフォトリポピンのリン酸化ターゲットは未だ見つからない。構造及び生理応答からフォトリポピンの情報伝達系にはリン酸化反応及び基質が

関与していると推測される。そこで、青色光処理した芽生えから全タンパク質を抽出し、フォトリポピン依存的にリン酸化されるタンパク質のプロテオーム解析を行った。その結果、13 個の候補因子の取得に成功した(学会発表④参考)。今後、これら候補因子がフォトリポピンの直接的なターゲットであるかを確認することで、フォトリポピン情報伝達系の下流を明らかにする。

④ 細胞内局在の経時変化

シロイヌナズナ **phot2** は青色光依存的に細胞膜からゴルジ体に局在変化することが既に明らかとなっている(Kong, *et al.*, 2006)。**phot2** の細胞内局在の詳細な解析を行ったところ、連続的青色光照射によりゴルジ体に局在した **phot2** は数時間で再び細胞膜に局在が戻ることが明らかとなった。その局在は、青色光を照射する前の暗所における局在と全く同じであった(学会発表②参考)。この結果は、フォトリポピンの光に対する脱感作であると推測され、今後そのメカニズムに関して詳細な解析を行う。

(2) フォトリポピン相互作用因子として取得した小胞輸送関連因子に焦点を絞った「フォトリポピンによる小胞輸送制御」についての解析では、以下の結果を得ることに成功した。

① ドミナント変異の過剰発現体の解析

取得された小胞輸送関連因子のドミナント変異型を植物体で過剰発現し、フォトリポピン応答に対する影響を観察したところ、光屈性などの幾つかのフォトリポピン応答に影響がでることが明らかとなった(学会発表⑥参考)。これらの結果は、小胞輸送関連因子がフォトリポピン情報伝達系の下流因子であることを示しており、今後は情報伝達系における分子レベルでの役割について明らか

にする。

② 細胞内局在への影響

フォトリポピンが青色光依存的に細胞膜からゴルジ体に局在変化することから、小胞輸送関連因子がその局在に影響するのか調べた。その結果、フォトリポピンの局在変化そのものには関与していないことが明らかとなった。しかし、小胞輸送関連因子の局在そのものがフォトリポピン依存的に変化するという興味深い結果を得た（学会発表②参考）。今後は、局在変化の生理的役割を明らかにすることで、フォトリポピンによる小胞輸送制御のメカニズムについて明らかにする。

以上の解析結果によって、光屈性の分子メカニズムの一端が明らかになった。今後さらなる解析を行うことで、植物の光合成能の効率的向上を目指せるのではないかと考えている。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 1 件）

- ① Aihara Y, Tabata R, Suzuki T, Shimazaki K, Nagatani A. “Molecular basis of the functional specificities of phototropin 1 and 2” *Plant Journal*, 査読有, Vol. 56, 2008, 364-675

〔学会発表〕（計 10 件）

- ① 吉川由希子、岡義人、望月伸悦、鈴木友美、長谷あきら 「フィトクロム A の N 末端側領域の構造と phyA の特殊機能の関係」 第 52 回 日本植物生理学会年会（2011 年 3 月 20 日 仙台 東北大学川内北キャンパス）
- ② 岡本圭史、ほか 8 名 「ミオシンは光と

重力に対する環境応答のブレーキとして働く」 第 51 回 日本植物生理学会年会（2010 年 3 月 21 日 熊本 熊本大学黒髪北キャンパス）

- ③ 遠藤求、村上匡史、谷川善康、鈴木友美、荒木崇、長谷あきら 「phyB シグナル伝達経路に関わる新規因子 PHL」 第 51 回 日本植物生理学会年会（2010 年 3 月 21 日 熊本 熊本大学 黒髪北キャンパス）
- ④ 山本和彦、鈴木友美、長谷あきら 「AGC VIII キナーゼ過剰発現植物体のフォトリポピン表現型の解析」 第 51 回 日本植物生理学会年会（2010 年 3 月 20 日 熊本 熊本大学 黒髪北キャンパス）
- ⑤ 相原悠介、ほか 9 名 「青色光フォトリポピンの “Flippase-kinase” としての役割の解明」 第 51 回 日本植物生理学会年会（2010 年 3 月 20 日 熊本 熊本大学 黒髪北キャンパス）
- ⑥ 鈴木友美、岡島公司、徳富哲、長谷あきら 「青色光受容体 phot による低分子量 G タンパク質 ARF1 の制御」 第 51 回 日本植物生理学会年会（2010 年 3 月 19 日 熊本 熊本大学 黒髪北キャンパス）
- ⑦ 岡本圭史、上田晴子、田村謙太郎、嶋田知生、鈴木友美、長谷あきら、西村いくこ 「ミオシン変異体の葉柄は光と重力に過剰に応答して屈曲する」 第 50 回 日本植物生理学会年会（2009 年 3 月 23 日 名古屋 名古屋大学東山キャンパス）
- ⑧ 遠藤求、村上匡史、鈴木友美、長谷あきら 「phyB による花成遅延を抑制する新規花成因子 PHF」 第 49 回 日本植物生理学会年会（2008 年 3 月 22 日 札幌 札幌コンベンションセンター）

- ⑨ 鈴木友美、長谷あきら 「フォトトロピン相互作用因子 ARF1 の青色光応答における役割」 第 49 回 日本植物生理学会年会 (2008 年 3 月 20 日 札幌 札幌コンベンションセンター)
- ⑩ 相原悠介、鈴木友美、長谷あきら 「シロイヌナズナ phot1・phot2 の生理応答特異性に関するドメイン機能解析」 第 49 回 日本植物生理学会年会 (2008 年 3 月 20 日 札幌 札幌コンベンションセンター)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

http://www.bot.kyoto-u.ac.jp/j/1_seiri.html

<http://physiol2.bot.kyoto-u.ac.jp/~nagatani/HP3/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 友美 (SUZUKI TOMOMI)

京都大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：10362435

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：