

1. 研究課題名：光を求めて動く葉緑体の運動機構の解明  
- 青色光受容体フォトロピンの役割 -

2. 研究者氏名：加川 貴俊

3. 研究のねらい：

動き回ることができない植物は、外界の環境を上手に感知し、様々な方法で対応している。特に周りの光を認識し、「もやし」のように伸長したり、光の方向に曲がったりしている。細胞内でも葉緑体の光環境に依存した定位運動が知られている。しかしながら、どんなタンパク質が光を受容しているかは知られていなかった。本研究ではこの葉緑体の位置を決めている光受容体を同定し、これらの光受容体が植物の生存における重要性を明らかにした。

4. 研究結果：

光合成装置としての葉緑体は、弱い光環境のもとでは効率よい光合成を行うために、光をできるだけ受容しようと細胞表面に分散して、この反応は集合反応と呼ばれている。一方強い光環境下では、その光による葉緑体の損傷を防ぐために、葉緑体は光から逃げる位置に移動しており、逃避反応と呼ばれている。また暗黒下ではこれらと異なった場所に位置している。これらを称して葉緑体光定位運動といわれている。

(1) 突然変異体の単離と同定

葉の一部分に強光を照射することで、逃避反応を肉眼で確認できる実験系を開発した。この方法を利用して、シロイヌナズナの逃避反応が起きない突然変異体を単離した。しかし、この変異体は集合反応は正常だった。遺伝学的解析を行い、この変異はシロイヌナズナめばえの光屈性の光受容体であるフォトロピン1遺伝子(PHOT1)のオルソログであるフォトロピン2遺伝子(PHOT2)であった。すでに全ゲノムが解読されたシロイヌナズナでは、これらの他にはフォトロピンはない。そこで、phot1phot2 の二重変異体を作成し、葉緑体光定位運動を調べた。この二重変異体では、逃避反応のみならず集合反応も認められなかった。この結果から、集合反応の光受容体は phot1 および phot2 であることが明らかになった。phot2 変異体は野生株と比較して、強光耐性が著しく低いことから、逃避反応は強光ストレスの回避メカニズムとして働いていることが示された。

(2) フォトリポピンの性質

フォトロピンはN末端側に2つの LOV (light oxygen voltage) ドメイン、C末端側にはキナーゼドメインがある。1つの LOVドメインには、光受容を担う発色団としてFMNが1つ結合していた。LOVドメインだけでも光受容を持っていた。組み換えフォトロピンを昆虫培養細胞で発現させると、光依存的な自己リン酸化をすることが認められた。(1) で得られた phot2-2 変異体はキナーゼドメインに変異が起きている突然変異体なので、逃避反応はフォトロピンのリン酸化活性が必須と思われる。

(3) フォトリポピンの生理学的役割

葉緑体光定位運動において、phot2 は逃避・集合両反応を、phot1 は集合反応のみの光受容体とし、役割分担をして機能していた。そこで、フォトロピンが関与する他のシロイヌナズナの光反応でも役割分担が認められるかを探索した。

暗所で生育した phot1 変異体のめばえは、弱光下では光屈性を起こさなかったが、強光下では光屈性が起きた。しかも phot2 変異体のめばえの光屈性は正常ではあったが、二重変異体では強光下でも光屈性は認められなかった。これらの結果は、弱光下では phot1 が、強光下では phot1 及び phot2 の両者が光受容体として機能していることを示している。明所で生育しているシロイヌナズナの葉柄や花茎も光強度依存的に phot1 と phot2 の同様な役割分担があった。

気孔の開口も青色光により誘導されることが知られている。phot1 や phot2 変異体では気孔開口運動は起きるが、二重変異体では起きない。つまり、青色光による気孔開口運動の光受容体がフォトトロピンである phot1 と phot2 ではほぼ同等に役割を分担していることが示された。

#### (4) まとめ

フォトトロピンは葉緑体光定位運動のみならず、光屈性や気孔開口といった生理現象の光受容体であった。光屈性や葉緑体光定位運動は直接より良い光合成を行うために、より多くの光を受容するための反応である。気孔開口運動は、二酸化炭素と酸素のガス交換を行うために気孔を開く運動であり、より多くの光合成産物を作り出すのに重要な反応である。このように、植物が効率よい光合成を調整するために、フォトトロピンは外界の光環境を認識する光受容体として統合的に機能している。

#### 5.自己評価：

葉緑体光逃避反応の光受容体フォトトロピンを同定できた。さらにこの光受容体が光屈性・葉緑体光集合反応・気孔開口運動といった青色光反応の光受容体であったことは、非常に驚くべき結果であり、国際的にインパクトある成果を得ることができた。さらに、葉緑体逃避反応が植物の生存に大変重要であることを示せたことを含めて、研究開始時の到達目標に到達できたと思っている。これは今後の発展の起点となろう。

#### 6.研究総括の見解：

植物の葉緑体は強光下では逃避し、弱光下では分散して受光効率を上げる。シロイヌナズナについて、この動きを支配するフォトトロピン遺伝子の PHOT1 と PHOT2 を同定した。phot2 変異では逃避が、phot1 phot2 二重変異では葉緑体の展開が不能となる。この二重変異体では光屈性と気孔の開口も停止する。またその分子構造から、フォトトロピンが光の強弱を認識する受容体として統合的に機能すると考察した。この成果は、環境の光強度を認識し、光受容体の葉緑体と二酸化炭素取込みのための気孔を連動して開閉するメカニズムの解明につながるものと期待され、光合成に関連して行う植物操作法に新たな可能性を与えるものである。

#### 7.主な論文等：

1. Kagawa, T., and Wada, M. (2000). Blue light-induced chloroplast relocation in Arabidopsis thaliana as analyzed by microbeam irradiation. Plant Cell Physiol. 41, 84-93.
2. Kagawa, T., Sakai, T., Suetsugu, N., Oikawa, K., Ishiguro, S., Kato, T., Tabata, S., Okada, S., and Wada, M. (2001). NPL1, a phototropin homologue, controls the chloroplast high-light avoidance response in Arabidopsis. Science 291, 2138-2141.
3. Sakai, T., Kagawa, T., Kasahara, M., Swartz, T. E., Christie, J. M., Briggs, W. R., Wada, M., and Okada, K. (2001). Arabidopsis nph1 and npl1: Blue light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98, 6969-6974.
4. Kinoshita, T., Doi, M., Suetsugu, N., Kagawa, T., Wada, M., and Shimazaki, K. (2001). The phot1 and phot2 photoreceptors redundantly mediate blue light regulation of stomatal opening in Arabidopsis. Nature 414, 656-660.
5. Kagawa, T., and Wada, M. (2002). Blue light induced chloroplast relocation. Plant Cell Physiol. 43, 367-371.

#### その他

受賞 葉緑体光定位運動機構の解明、日本植物学会奨励賞、平成 13 年 10 月  
招待講演 4 件