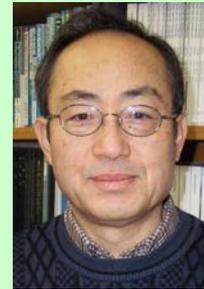


気孔孔辺細胞における光情報のイオン輸送への変換機構

The transduction of light signal to ion transport
in stomatal guard cells

島崎 研一郎 (Shimazaki Ken-ichiro)

九州大学・大学院理学研究院・教授



研究の概要

気孔孔辺細胞は青色光を受容し、その情報をイオン輸送に変換し最終的に気孔開口を引き起こす。この過程は植物の光合成に重要であるのみならず、すべての反応が孔辺細胞の中で完結し、植物細胞における光情報伝達研究の優れたモデル系である。本研究では、この過程に関与するタンパク質成分を同定し、その機能を解明することを目標としている。

研究分野：植物生理学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物生理・分子

キーワード：気孔、光情報伝達、環境応答、フォトリポシン、細胞膜H⁺-ATPase

1. 研究開始当初の背景

孔辺細胞の青色光情報伝達系に関して、光受容体であるフォトリポシン、情報伝達体、効果器としてのH⁺-ATPaseが解明されている。しかし、まだ多くの情報伝達体が未解明である。この情報伝達系はすべての反応がこの細胞内で完結する事から、植物細胞の光情報伝達解明のための研究材料として優れている。

2. 研究の目的

植物細胞の光情報伝達はフィトクロム、クリプトクロムなどの光受容体が知られ、多くの研究がなされている。孔辺細胞の光情報伝達系は光受容体フォトリポシンとその効果器が解明された、最も研究の進んだ対象の1つである。本研究では、孔辺細胞をモデル材料として、青色光情報伝達系の成分を同定し、その機能を解明する事を目的とする。

3. 研究の方法

相互作用するタンパク質は Two-hybrid 法等を、リン酸化タンパク質を同定するため、リン酸化プロテオーム、2-D DIGE 法、14-3-3 タンパク質のオーバレイアッセイ法等を用いる。青色光による気孔開口の変異株の取得には、サーモグラフィー法を用いる。得られた変異株の原因遺伝子の特定にはポジショナルクローニング法を用いる。得られたタンパク質の機能解明には生化学的、細胞生物学的、生理学的手法を組み合わせて用いる。

4. これまでの成果

異なる手法により得られた3つの機能成分について述べる。

(A) タイプ1プロテインフォスファターゼ (PP1) の調節サブユニットの同定と機能：気孔孔辺細胞の青色光情報伝達系で働くPP1の調節サブユニットをtwo-hybrid法により単離し、その機能解析を行った。得られた新規タンパク質は結合モチーフであるRVxFに相当する配列とGRAMドメインを持っており、PRSL1と命名した。*prs11* 変異株では青色光による気孔開口、水素イオン放出、細胞膜H⁺-ATPaseのリン酸化が阻害されていた。一方、この変異株でカビ毒素、フジコッキンによる気孔開口、水素イオンの放出は阻害されず、さらに、フォトリポシン(*phot1*と*phot2*)の自己リン酸化も影響を受けていなかった。この結果は、PRSL1がPP1部位で特異的に働く事を示している(図1②)。In vitroの実験ではPRSL1はPP1c(PP1の触媒サブユニット)活性には変化を与えなかった。しかし、PP1cとPRSL1を共発現させるとPP1cが細胞質により多く局在し、PP1cだけでは核に局在した。この事はPRSL1がPP1cを細胞質に局在させ、PP1の機能発揮に寄与すると推定された。*prs11* 変異株ではフォトリポシン依存の他の応答、光屈性、葉緑体運動、葉の平滑化は影響されず、PRSL1は気孔反応に特異的に働く事を示している。

(B) PP1 はアブシジン酸 (ABA) 情報伝達系とのクロストーク部位になる：PP1 はフォトトロピンから細胞膜H⁺-ATPaseへの情報伝達を仲介するのに加えて、ABA情報伝達系で生成するフォスファチジン酸 (PA) により阻害されることを見いだした (図1)。PAはPP1c活性を阻害し、青色光による気孔開口、細胞膜H⁺-ATPaseのリン酸化を阻害した。この結果はPP1cが青色光情報伝達を正に制御するのみならず、ABAからの気孔閉鎖シグナルを受容し、気孔開口の情報伝達を止め、気孔閉鎖を促し効率よく水分不足に対処するためのクロストーク点になる事を示している。このような働きは、日中に水分不足に見舞われた時に特に重要である。

(C) 気孔の青色光情報伝達に関する新規キナーゼの発見：青色光による気孔開口の変異体のスクリーニング法を確立した。この方法を用いて、気孔の青色光を完全に消失した変異株の取得に成功した。この変異株では、細胞膜H⁺-ATPaseやフォトトロピン活性は正常であった。マッピングにより、この原因遺伝子が新規のキナーゼをコードする事を解明し、BLUS1 と名付けた (図1①)。さらに、BLUS1 がフォトトロピンに依存してリン酸化され、その部位が情報伝達に必須であることを示した。また、このキナーゼは阻害剤を用いた実験によりPP1 より上流に存在する事がわかった。このタンパク質は細胞質に発現しており、青色光照射により約1分でリン酸化され、このリン酸化はフォトトロピンの自己リン酸化の時間変化と似ていた。フォトトロピンの基質である可能性が考えられる。

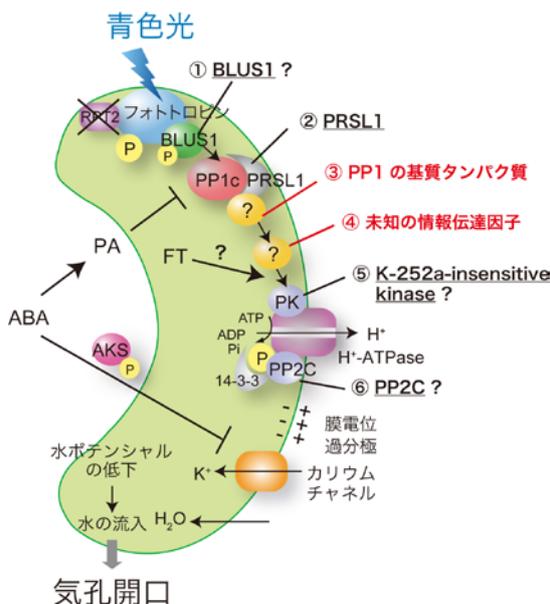


図1. 解明されつつある情報伝達体

5. 今後の計画

サーモグラフィーによる変異体の取得を引き続き行い、その原因遺伝子の同定を進める。また、得られた成分の機能解明を行う。

既に得られた、BLUS1 について詳細な機能解明を進める。当面、BLUS1 がフォトトロピンの直接の基質となりうるか、BLUS1 キナーゼの活性制御機構、このキナーゼの基質の探索を行う。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

・ Functional analysis of the activation loop of phototropin 2 in Arabidopsis. Inoue S, Matsushita T, Tomokiyo Y, Matsumoto M, Nakayama KI, Kinoshita T, and Shimazaki K. Plant Physiol.、有、156: 117-128 (2011)

・ FLOWERING LOCUS T regulates stomatal opening. Kinoshita T, Ono N, Hayashi Y, Morimoto S, Nakamura S, Soda M, Kato Y, Ohnishi M, Nakano T, Inoue S and Shimazaki K. Current Biology、有、21: 1232-1238 (2011)

・ Tissue-Autonomous Promotion of Palisade Cell Development by Phototropin 2 in Arabidopsis. Kozuka T, Kong S-G, Doi M, Shimazaki K and Nagatani A. Plant Cell、有、23: 3684-3695 (2011)

・ The Arabidopsis PHYTOCHROME KINASE SUBSTRATE2 protein is a phototropin signaling element that regulates leaf flattening and leaf positioning. de Carbonnel M, Davis P, Roelfsema M R G, Inoue S, Schepens I, Lariguet P, Geiser M, Shimazaki K, Hangarter R, and Fankhauser C. Plant Physiol.、有、152: 1391-1405 (2010)

・ Phosphatidic acid inhibits blue light-induced stomatal opening via inhibition of protein phosphatase 1. Takemiya A, and Shimazaki K. Plant Physiol.、有、153: 1555-1562 (2010)

・ Measurement of changes in cytosolic Ca²⁺ in Arabidopsis guard cells and mesophyll cells in response to blue light. Harada A, and Shimazaki K. Plant Cell Physiol.、有、50: 360-373 (2009)

・ Identification and Functional Characterization of Inhibitor-3, a Regulatory Subunit of Protein Phosphatase 1 in Plants. Takemiya A, Ariyoshi, C., and Shimazaki K. Plant Physiol.、有、150: 144-156 (2009)

ホームページ等

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

<http://www.bio.nagoya-u.ac.jp/~plant4/research.html>