

光環境応答に異常がみられるシロイヌナズナ変異体の解析

2006年3月修了 先端生命科学専攻 生命応答システム分野

学生証番号 46512 臼杵裕之 (指導教員 園池公毅 助教授)

(光合成、光環境、光受容体、LHCII、FtsH プロテアーゼ、光化学系 II、熱放散)

序論

植物は自らの意志で適した環境に移動する能力に乏しいために、絶えず変化する環境に対応する機構を発達させてきた。光は光合成を駆動する基質として重要であるが、一方で必要以上の光エネルギーは植物にとってストレスとなる。光エネルギーが過剰に供給される環境では、このような光酸化ストレスから身を守るため、吸収する光エネルギー量を調節することが重要である。植物はその戦略の一つとして、大量に存在する光捕集タンパク質複合体 LHCII の量を調節していると考えられている。例えば、強光下では LHCII のタンパク質量が減少することが知られているが、これは過剰な光エネルギーの吸収を回避するため、吸収する光エネルギー量を制限していると解釈できる。このような非常にダイナミックな変化を見せる LHCII の制御機構や生物学的意義について分かっていることは実は少ない。本研究は、まず、強光下で LHCII が減らせないシロイヌナズナ変異体として同定された *ftsH6* のクロロフィル蛍光を測定して光合成能をモニターすることによって、これまでに得られなかった LHCII 制御機構の意義を示すことを目的とした。次いで、クロロフィル蛍光が野生型と異なるもう一つの変異株の解析を行なった。*ftsH6* のクロロフィル蛍光測定により、アンテナ系への変異の影響は、クロロフィル蛍光のパラメーターの変化として感度よくとらえることができることがわかった。そこで、本研究室においてクロロフィル蛍光を指標にして野生型と蛍光挙動が有意に異なる変異株として単離された 32-11-13 変異体の解析も行なった。

結果と考察

LHCII 分解の意義

パルス変調蛍光測定により、強光順化(HL)させた野生型 (WT)と *ftsH6* (MT)の光合成パラメーターを測定した。Fv/Fm は吸収された光エネルギーのうち光化学反応に利用できる最大の割合 (最大量子収率) を示す指標であり、この値の減少は光阻害が起きていることを示している。変異体が野生型より有意に低い値を示したので (表 1)、LHCII の量が減らないことで過剰に光エネルギーを吸収してしまい、光阻害が起きたと考えられる。植物は、過剰な光エネルギーを熱として散逸することで光化学系 II を光ストレスから守る熱放散というメカニズムを持っており、この反応が誘導されている程度を NPQ という指標でみることができる。変異体と野生型で NPQ を比較すると、野生型よりも顕著に低い値を示し、NPQ を誘導する機能が低下していることがわかった (図 1A)。また Fv'/Fm' は、ある光条件下 (励起光) において、電子伝達の可能な光化学系 II (PSII) 反応中心が利用できる光エネルギーの割合 (量子収率) を示している。弱い励起光条件(50)では野生型より低い値を示し (図 1B)、これは光阻害による PSII 最大量子収率(Fv/Fm)の減少によって説明できる。一方で強い励起光(500)では差が見られなかったが、これは NPQ の減少が示す熱放散の低下によって熱として散逸されるはずのエネルギー成分が、本来は低いはずの Fv'/Fm' を上昇させる方向に働いたためと解釈できる。以上のことから、強光順化した *ftsH6* では、光ストレスによって NPQ の機能が低下した LHCII を分解できないために、二次的に光阻害が生じたと考えられる。つまり、LHCII の分解は LHCII の品質を管理することによって PSII を守る重要な機構と考えられる。

	Fv/Fm
WT	0.785 ± 0.009
MT	0.713 ± 0.001

表 1 PSII の最大量子収率 (Fv/Fm) の比較

暗順応させた植物体のクロロフィル蛍光を測定した。強光順化した野生型 (WT) と変異体 (MT) の平均値と標準偏差。(n=3)

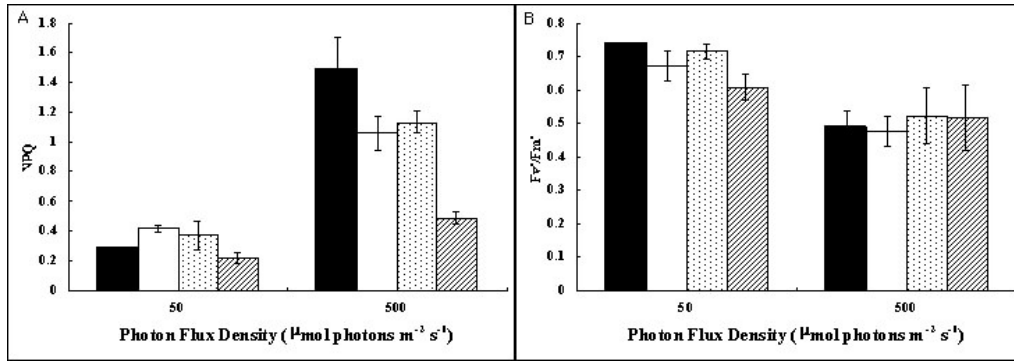


図1 野生型と *FtsH6* 変異体の光合成パラメーター
暗順応させた植物体を横軸で示した励起光強度の光を照射してクロロフィル蛍光を測定した。(A) NPQ、(B) F_v/F_m' のパラメーターを示した。(黒：野生型弱光生育、白：野生型強光生育、点：変異体弱光生育、斜線：変異体強光生育、弱光、強光はそれぞれ 50、300 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

32-11-13 変異体の解析

本研究室で単離された 32-11-13 変異体を、暗所、弱光、中光の3種類の光強度で生育させたところ、弱光のみで野生型より胚軸が長く伸長する表現型が見られた(表2)。過去の報告で、胚軸の伸長は光受容体や植物ホルモンにより制御を受けていることが知られており、同様に弱光条件のみで胚軸の伸長に変化が見られる変異体としてクリプトクロームの変異体がある、32-11-13 変異体も青色光受容体が関与する反応に異常がある可能性が考えられる。さらに 32-11-13 変異体は、形態異常を示す条件を同じ弱光条件でのみ NPQ を過剰に誘導していることがわかった(図2)。NPQ の指標で表される熱放散は3種のキサントフィル(ゼアキサンチン、アンテラキサンチン、ピオラキサンチン)がその役割を担っており、強光条件ではピオラキサンチンはアンテラキサンチンを経由してゼアキサンチンに転換されて蓄積し、ゼアキサンチンで吸収された光エネルギーは熱として逃がされる(NPQ の誘導)。青色光反応として知られている反応の一つに気孔開口反応があり、これには青色光受容体としてフォトトロピンが関与している。一方で、ゼアキサンチンが光受容体として気孔開口に関与しているとの報告もある。32-11-13 変異株では、光形態形成とキサントフィルサイクルが同じ変異によって異常を示すことから、この変異体はゼアキサンチンの異常な蓄積によって NPQ が過剰に誘導される一方、青色光受容体として働くゼアキサンチンの異常が胚軸の伸長に影響を及ぼす、との可能性を考えている。

Plant and growth light condition	Hypocotyl length (mm)
WT grown at 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$	0.97 ± 0.21
MT grown at 50 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1.93 ± 0.15
WT grown at 150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1.17 ± 0.06
MT grown at 150 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1.13 ± 0.15

表2 胚軸の長さ
播種後7日目の個体の胚軸長の平均値と標準偏差。
(n=10)

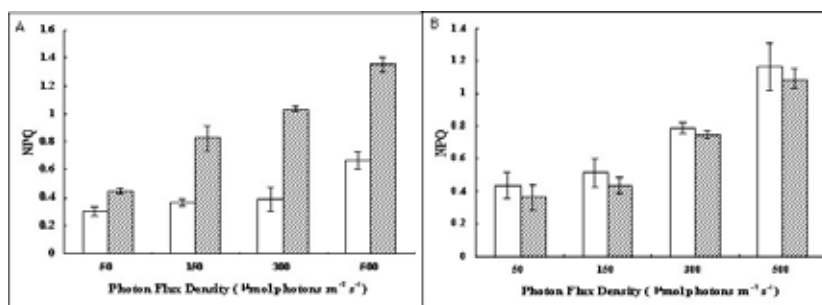


図2 NPQ の誘導
弱光(A)、中光(B)条件で生育させた植物体を暗順応させてから、横軸で示した励起光強度でクロロフィル蛍光を測定した。白：野生型、斜線：変異体。(n=3)