The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Intracellular positioning of chloroplasts in aquatic angiosperm Vallisneria gigantea : Blue-light perception and chloroplast anchoring
Author(s)	酒井, 友希
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58017
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【6】

氏　　名	酒　井　友　希（さかい　ゆうき）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２３３３５　号
学位授与年月日	平成21年 9 月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学　位　論　文　名	Intracellular positioning of chloroplasts in aquatic angiosperm Vallisneria gigantea : Blue-light perception and chloroplast anchoring （水棲被子植物オオセキショウモにおける葉緑体の細胞内位置決定：青色光の受容および葉緑体のアンカーについて）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　柿本　辰男 （副査） 教　授　米崎　哲朗　　准教授　高木　慎吾

論　文　内　容　の　要　旨

オオセキショウモは淡水産の単子葉植物で、葉の表皮細胞では、葉緑体の光定位運動が見られる。葉緑体は、弱い光の下で光の入射方向と直角な細胞上面に集まり（集合反応）、強い光の下で光の入射方向と平行な細胞側面に移動する（逃避反応）。集合反応には赤色光が、逃避反応には青色光が有効であり、葉緑体の運動が弱光下と強光下で異なる光受容系の制御を受けている点が特徴的である。また、葉緑体の光定位運動はアクチン細胞骨格に依存していることが示されている

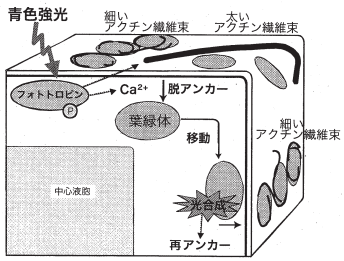
まず、遠心力に対する抵抗性から葉緑体のアンカー状態の評価を行なった。暗順応した細胞の細胞上面では葉緑体はアンカーされており、青色強光によってこのアンカーが解除されることを見つけた（脱アンカー）。さらに、細胞上面から細胞側面へと移動した葉緑体は、光合成に依存して細いアクチン繊維束に取り巻かれ、再びアンカーされることが示唆された（再アンカー）。

葉緑体の脱アンカーは、赤色光や青色弱光では引き起されず、また青色強光照射開始から1分以内に起こる速い反応であることが分った。阻害剤を用いた解析から、葉緑体の脱アンカーに細胞内ストアからの Ca^{2+} 放出が関与していること、インタクトなアクチン細胞骨格が必要であることが分かった。以上より、葉緑体の脱アンカーは、青色強光に依存した葉緑体逃避反応の初期過程であると結論した。

青色強光による葉緑体の脱アンカーおよび逃避反応の光受容体は植物特有の青色光受容体フォトトロピンであると予想された。そこで、オオセキショウモでは分子実体が明らかにされていなかったフォトトロピンの同定を試み、2種類の完全長cDNA配列 *VALLISNERIA GIGANTEA PHOTOTROPIN 1* および *2* を同定した。これらの配列がコードするタンパク質には、フォトトロピンファミリーに保存されているLOVドメイン及びキナーゼドメインが存在した。葉の細胞膜画分において、シロイヌナズナフォトトロピン抗体により分子量120 kDのポリペプチドが検出された。*In vitro* でのリン酸化解析から、120 kDポリペプチドが青色光特異的にリン酸化されることが示され、フォトトロピンであることが示唆された。以上より、オオセキショウモにおいてフォトトロピンが青色光受容体として機能していることが明らかになった。

これらのことから、以下のような葉緑体逃避反応のメカニズムのモデルを提案した。

1. 青色強光により、フォトトロピンを介して細胞質内 Ca^{2+} 動員がおこる
2. 葉緑体がアクチン細胞骨格に依存して脱アンカーされる
3. 葉緑体は太く長いアクチン繊維束を軌道として細胞上面から移動する
4. 細胞上面から移動してきた葉緑体は、細胞側面で光合成に依存して細いアクチン繊維束に取り巻かれ、再アンカーされる



細胞上面での葉緑体を「逃がす」システムと細胞側面での葉緑体を「とどめる」システムとが協調して働くことによって、青色強光下において葉緑体の再配置が効率よく起こる。

論文審査の結果の要旨

酒井友希さんは、淡水産単子葉植物オオセキショウモを材料として、葉の表皮細胞における光に依存した葉緑体逃避反応を解析した。まず、葉緑体逃避反応の初期過程と考えられる葉緑体の脱アンカー過程について光生物学的解析を行ない、葉緑体脱アンカーが青色強光特異的にひき起こされる速い反応であること、細胞質のカルシウムイオン濃度変化が関与する可能性を示した。次に、青色光によってもたらされる葉緑体の再配置について、これまで知見の無かった細胞側面に注目し、アクチン細胞骨格の構築と葉緑体アンカーとの関係を解析した。結果に基き、細胞上面と側面とで異なる光受容系が協調的に働き、アクチン細胞骨格の構築変化を介して葉緑体の再配置を効率的に実現するというモデルを提唱した。さらに、葉緑体脱アンカー反応の光受容体候補としてフォトトロピンに注目し、葉のmRNAから合成したcDNAより、二種類のフォトトロピンの全長配列を同定することに成功した。また、生化学的に調製した膜画分を用いて、フォトトロピンの特徴である青色光に依存したリン酸化を示す120 kDのポリペプチドを見出し、リン酸化の時間経過や光量依存性から、葉緑体脱アンカーの光受容体として機能する可能性を示した。

生理現象を独自の方法で解析することから研究を開始し、青色光受容体の実体の同定、生化学的な解析にまで至った点が高く評価された。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。