

陸上植物の光応答戦略 -陸上植物における葉緑体の運動メカニズムの新機軸-

末次 憲之・和田 正三

九州大学大学院，理学研究院，生物科学部門

〒812-8581 福岡県福岡市東区箱崎 6-10-1

Molecular mechanism of chloroplast photorelocation movement in land plants

Key words: actin, Arabidopsis, chloroplast movement, organelle movement, phototropin

Noriyuki Suetsugu & Masamitsu Wada

Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University

Hakozaki 6-10-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8581, Japan

1. はじめに

植物は光エネルギーを利用して無機物から有機物を合成するが，葉緑体はこの光合成反応の場であり植物に特有な細胞小器官（オルガネラ）である。適度な光の強さでは，光強度が強くなるに伴って光合成量は増大するが，逆に強すぎる光は葉緑体にダメージを与えてしまう。そのため葉緑体は光を効率よく利用できるよう周囲の光環境に応じて細胞内を移動する（葉緑体光定位運動）。葉緑体は弱い光に対しては集まり（集合反応），強すぎる光からは逃げる（逃避反応）（図1）。

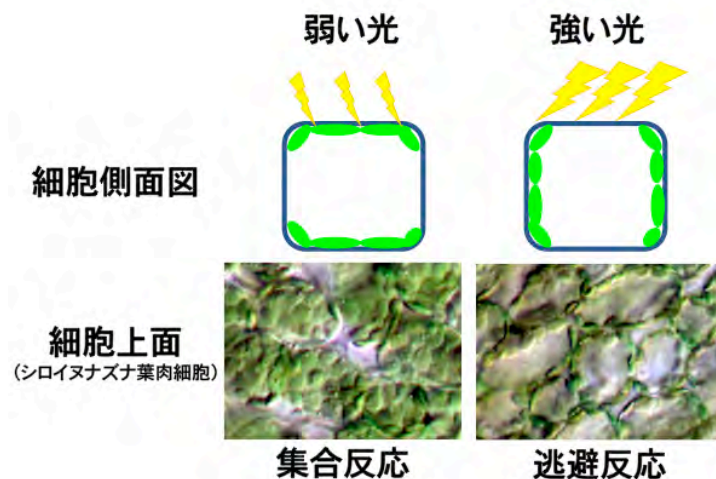


図1. 葉緑体光定位運動

葉緑体光定位運動は一部の紅藻類，ケイ藻類，黄金藻類にもみられるが，緑藻類とストレプト植物（接合藻類，車軸藻類，陸上植物などを含む）を含めた緑色植物にひろくみられる現象である（Senn 1908）。多くの植物において，葉緑体運動は青色光によって誘導される。緑色植物に特有な青色光受容体であるフォトトロピンが葉緑体運動を制御する（Suetsugu & Wada 2007b,

2009) (図2, 3)。

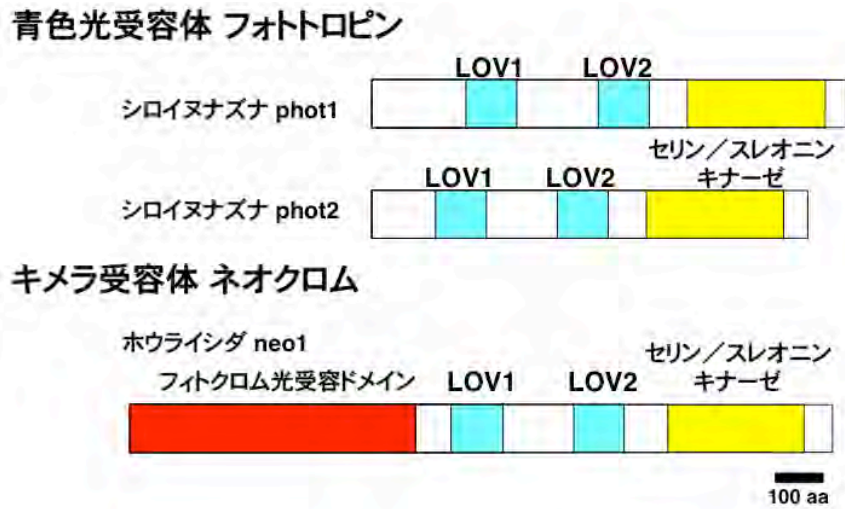


図2. 葉緑体運動を制御する光受容体

フォトリピンは葉緑体運動だけでなく、光屈性、気孔の開口や葉の展開など植物が光利用率を高めるための生理反応を制御することが知られている (Christie 2007)。一部の接合藻類、コケ類、シダ類では青色光だけでなく赤色光によっても葉緑体運動が誘導される。これらの赤色光による葉緑体運動は赤色光受容体フィトクロム依存であり、さらにフォトリピンが関与している (Suetsugu & Wada 2005, 2007a) (図3)。

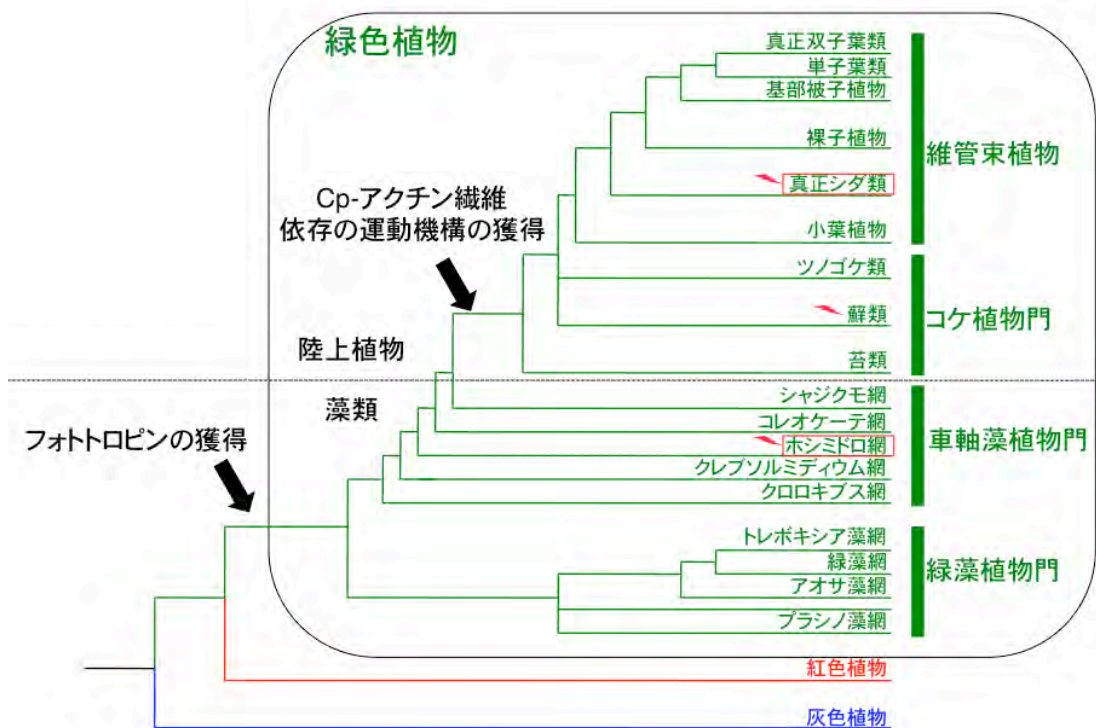


図3. 緑色植物における葉緑体運動機構の進化

系統樹は Bowman et al. (2007)を参考に作成した。赤い稲妻印はフィトクロム依存の赤色光に

よる葉緑体運動をもつ植物を含む分類群で、そのうち赤で囲まれたものはネオクロムを獲得した分類群である。

真核生物のオルガネラ運動はアクチン繊維あるいは微小管という二つの細胞骨格に依存しており、ミオシン（アクチン繊維モーター）やキネシン（微小管モーター）などのモーター分子による運動が主であるが、アクチン繊維の重合による推進力を使って運動する例も知られている（Fehrenbacher et al. 2003）。植物のオルガネラ運動は一般的にアクチン繊維に依存しており（Wada & Suetsugu 2004）、少なくともミトコンドリア、ゴルジ体、ペルオキシソーム、小胞体の運動はミオシンに依存していることが最近明らかとなった（Sparkes 2010）。葉緑体運動はごく一部の例外を除いてアクチン繊維に依存しているが、ミオシンの関与は明らかではない（Suetsugu et al. 2010a）。

近年のシロイヌナズナを用いた研究から、光受容体をはじめとした様々な葉緑体運動の制御因子が同定された（Suetsugu & Wada 2007b, 2009）。さらに生細胞におけるアクチン繊維の観察により、葉緑体に特異的なアクチン繊維の動態が明らかとなってきた（Suetsugu et al. 2010a, Kong & Wada 2011）。このアクチン繊維の動態やその制御因子はコケ類やシダ類にも存在するので、陸上植物の進化の初期過程で発達したメカニズムと考えられる。

本稿では、陸上植物に見られるアクチン繊維に依存した葉緑体運動の制御機構と関与する因子に関して概説する。

2. 葉緑体運動の光受容体フォトリピンファミリー

2-1. フォトリピン

フォトリピンはアミノ末端側に光受容ドメインである LOV (light, oxygen, or voltage) ドメインを2つ持ち、カルボキシ末端側にセリン/スレオニンキナーゼドメインをもつ受容体キナーゼである（Christie 2007）（図2）。過去の詳細な生理学的解析から、葉緑体運動の光受容体は細胞膜に局在することが推察されていたが、実際にフォトリピンは細胞膜に局在している（Christie 2007）。シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) は phot1 と phot2 の2つのフォトリピンを持つ。phot1 と phot2 はともに集合反応を制御し（Sakai et al. 2001）、主に phot2 が逃避反応を制御している（Jarillo et al. 2001, Kagawa et al. 2001）（図4）。ホウライシダ (*Adiantum capillus-veneris*) もシロイヌナズナ同様2つのフォトリピンを持ち（Acphot1 と Acphot2）、Acphot2 が逃避反応を制御する（Kagawa et al. 2004）（図4）。ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) には2種類（PpphotA と PpphotB）6つのフォトリピンが存在するが（Kasahara et al. 2004, Rensing et al., 2008）、解析された4つ（PpphotA1, PpphotA2, PpphotB1, PpphotB2）はいずれも集合反応と逃避反応を制御できるが、PpphotA タイプが逃避反応に必須である（Kasahara et al. 2004）（図4）。接合藻類の一種ヒザオリ (*Mougeotia scalaris*) は2つのフォトリピンを持つが、今のところヒザオリでの機能は明らかでない（Suetsugu et al. 2005b）（図4）。

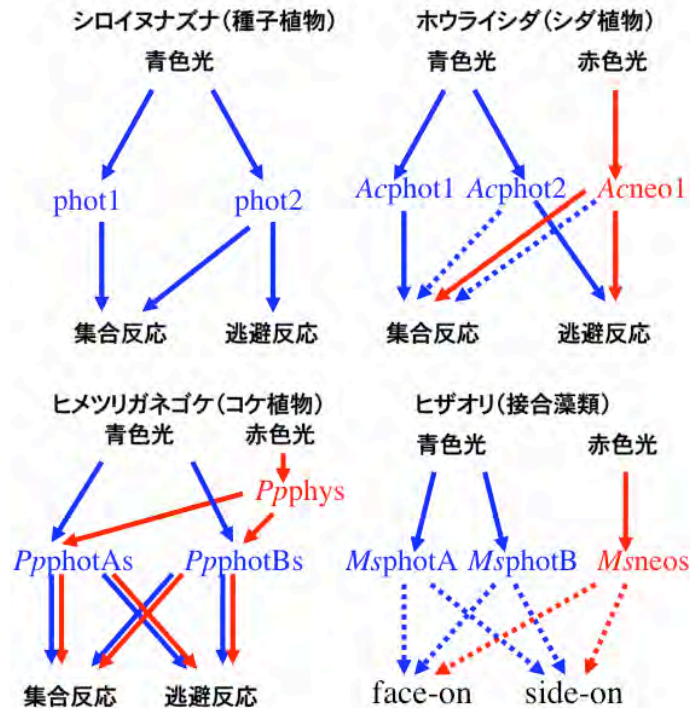


図4. 緑色植物における光受容体システム

青色矢印は青色光反応，赤色矢印は赤色光反応を示す。実線は証明されており，破線は証明されていないが可能性が高い。ヒザオリは扁平な巨大葉緑体を一つだけ細胞内に持ち，弱光下では扁平な面を入射光に垂直に（face-on），強光下では光を避けるように入射光に平行に向ける（side-on）。

緑藻類のクラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) は葉緑体運動を行わないがフォトトロピン (*Crphot*) を持っている。シロイヌナズナの *phot1/phot2* 変異体（集合反応と逃避反応を欠損している）で *Crphot* を発現させると，集合反応と逃避反応ともに回復したので (Onodera et al. 2005)，フォトトロピンは本質的に集合反応と逃避反応の両方を制御する機能を持っているようである。実際に，シロイヌナズナの *phot2* 変異体でも非常に強い光で逃避反応が誘導されるが，この反応が *phot1* 依存であることが最近報告された (Luesse et al. 2010)。ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) のようにフォトトロピンを一つしか持たない植物では，フォトトロピンが集合反応と逃避反応の両方を制御する能力が不可欠である。陸上植物の進化の後期，木生植物の隆盛により深い森林が形成されると，林床にニッチを求める植物にとっては，より弱い光環境下でも光を多く吸収できるよう，集合反応の光感受性が高くなる必要があった。しかし弱い光に対する感受性が上がると逃避反応もより弱い光で誘導されてしまい (例えば Aihara et al. (2008) の *phot1* の光受容ドメインと *phot2* のキナーゼドメインを持つキメラフォトトロピン)，適度な光強度条件下での光吸収効率が下がる。そこで集合反応の能力は高く，逃避反応への感受性は低い光受容体が必要となった。多くの植物はフォトトロピンを複数持つが，遺伝子重複後一方はもともとの集合反応と逃避反応を両方持つタイプとして残り，もう一方は集合反応に特化した高感度のタイプへと変化したと考えられる。ホウライシダやシロイヌナズナの *phot1* はほとんど集合反応に特化したタイプであるが，ヒメツリガネゴケの *PpphotB* はその中

間段階と言える。フォトトロピンのアミノ酸配列による分子系統解析から、フォトトロピン遺伝子の重複はそれぞれの分類群で独立に起きたらしい。例えば種子植物の *phot1* と *phot2* の遺伝子重複は裸子植物と被子植物の分岐の前で起こっており、コケ植物セン類では独自に *photA* と *photB* に分かれた。

2-2. フォトトロピンファミリーによる赤色光反応の制御

一部の接合藻類（ヒザオリと *Mesotaenium caldariorum*）、ヒメツリガネゴケ、多くの現生シダ類では青色光だけでなく赤色光によっても葉緑体運動が誘導される（Suetsugu & Wada 2005, 2007a）（図3, 4）。フォトトロピンは赤色光を吸収しないので、他の種類の光受容体の関与は明白であった。赤色光による効果は遠赤色光によって可逆的に打ち消されるので、フィトクロムが関与することが示唆されていた。しかし、葉緑体運動に関与するフィトクロムは青色光受容体同様細胞膜に局在することが示唆されていたが、一般的にフィトクロムは核あるいは細胞質に局在し機能することが知られている点で矛盾があった（Fankhauser & Chen 2008）。我々はホウライシダからフィトクロム遺伝子をクローニングする過程で、フォトトロピンのアミノ末端側にフィトクロムの光吸収ドメインが結合したキメラ光受容体ネオクロムを発見した（Nozue et al. 1998）（図2）。ネオクロムはフォトトロピンの機能ドメインをすべて保持していたので、細胞膜に局在し葉緑体運動を制御するフィトクロムの実体である可能性が強く示唆された。実際に、ホウライシダの赤色光による光屈性と葉緑体運動両方を欠損した（青色光反応は正常である）変異体 *rap*（Kadota & Wada 1999）は、調べた限りすべてのラインでネオクロム遺伝子に欠損があった（Kawai et al. 2003）。さらにネオクロム遺伝子を *rap* 変異体に導入すると赤色光による葉緑体運動が回復したので、ホウライシダにおいてネオクロムが葉緑体運動（と光屈性）の赤色光受容体として機能することが明らかとなった（図4）。ネオクロムはホウライシダだけでなく、セイヨウオシダ (*Dryopteris filix-mas*)、コウヤワラビ (*Onoclea sensibilis*) など、ウラボシ科を含む *polypod* シダ類の一群（現生シダの80%以上を占める）からも見つかったが、ゼンマイ (*Osmunda japonica*)、カニクサ (*Lygodium japonicum*)、水生シダ等原始的なシダ類からは今までのところ見つかっていない（Kawai et al. 2003）。*polypod* シダ類では光屈性と葉緑体運動が赤色光によって誘導されるが、原始的なシダでは誘導されない。*polypod* シダ類は約1億年前の白亜紀、被子植物が深い森林を形成していた時代に爆発的に多様化した（Schneider et al. 2004）ので、ネオクロムの獲得がその一因となった可能性は高い（Kawai et al. 2003, Schneider et al. 2004）。

驚くべきことに、我々は接合藻類ヒザオリからもネオクロムを二つ発見した（Suetsugu et al. 2005b）。ヒザオリとシダのネオクロムはタンパク質のドメイン構造はよく似ているが、遺伝子のエクソン・イントロン構造が全く異なる。シダ類のネオクロム遺伝子はまったくイントロンを持たないが、ヒザオリの二つのネオクロム遺伝子は複数のイントロンを持つ。さらに、ヒザオリとシダ類の間の分類群（コケ類、小葉植物類、真囊シダ類、原始的な薄囊シダ類など）にはネオクロムは見つかっていないので、ヒザオリとシダのネオクロムは別起源である可能性が非常に高い（図3）。ヒザオリのネオクロムをホウライシダの *rap* 変異体で発現させると、赤色光による葉緑体運動が回復した（Suetsugu et al. 2005b）。ヒザオリの赤色光反応を制御するフ

イトクロムも古くから細胞膜局在が示唆されているので、ヒザオリでもネオクロムが赤色光による葉緑体運動を制御している可能性が高い (図4)。

ヒメツリガネゴケでも赤色光によって葉緑体運動が誘導されるが (Kadota et al. 2000, Sato et al. 2001), ネオクロム遺伝子は持っていない (Rensing et al. 2008) (図3)。他の植物とは異なり普通のフィトクロムが葉緑体運動を誘導することが知られている (Mittmann et al. 2004, Uenaka & Kadota 2007)。面白いことに、我々はフォトリポピンが赤色光による葉緑体運動を制御することを明らかにした (Kasahara et al. 2004) (図4)。しかし今のところフォトリポピンがどのようにフィトクロムと協調して機能するかは明らかでない。

3. 葉緑体独自のアクチン繊維に依存した運動様式

動物や菌類におけるアクチン繊維に依存したオルガネラ運動の分子メカニズムには主に二通りが知られている。ミオシンによってアクチン繊維の上を滑る運動と、Arp2/3 複合体 (アクチン関連タンパク質 Arp2 と Arp3 を含む複合体) によるアクチン繊維の重合を推進力とする運動である (Fehrenbacher et al. 2003)。緑色植物にはミオシン遺伝子も Arp2/3 複合体関連遺伝子も存在する (Sparkes 2010, Deeks & Hussey 2005) が、今のところ Arp2/3 複合体の植物のオルガネラ運動への関与は明らかではない。少なくとも種子植物において、真核生物に共通なオルガネラ (ミトコンドリア, ゴルジ体, ペルオキシソーム, 小胞体) の運動はミオシンに依存していることが最近明らかになった (Sparkes 2010)。しかしながら葉緑体運動は, Arp2/3 複合体の機能が欠損した変異体でも正常であり (Kadota et al. 2009), また調べられた限りのミオシンのノックアウト変異体でも他のオルガネラ運動の異常にも関わらず正常であった (Suetsugu et al. 2010a) ことから, 葉緑体は他のオルガネラとは異なる様式でアクチン繊維を使い, 運動することが示唆されている。我々は, アクチン結合タンパク質 (タリン, フィンブリンなど) と蛍光タンパク質との融合タンパク質によりアクチン繊維を可視化したシロイヌナズナの形質転換体を用いて, 葉緑体運動時のアクチン繊維の動態を観察した (Kadota et al. 2009)。細胞質に張り巡らされたアクチン繊維やその束の配置や挙動には光照射による大きな変化は見られず, 葉緑体運動に連動するような動態も見られなかった。ところが葉緑体周辺を詳細に観察した結果, 葉緑体上に細かいアクチン繊維が見られ, 葉緑体運動に伴って変化することを発見した。これらの葉緑体周辺に存在する細かいアクチン繊維の構造を cp-アクチン (chloroplast-actin) 繊維と名付けた。葉緑体が静止しているとき, cp-アクチン繊維は葉緑体の全周囲に存在するが, 移動に伴い, 移動方向の前端側に偏在した。葉緑体に強い光が照射されると, 全体に存在した cp-アクチン繊維が一過的に消失し, その後 cp-アクチン繊維は片側に現れはじめ, その量が多くなるにつれて葉緑体は cp-アクチン繊維が多く偏在する側に動き始める (Kadota et al. 2009) (図5)。葉緑体が強光照射部位から逃避を完了した後は, cp-アクチン繊維は全周囲に現れ葉緑体は静止する。

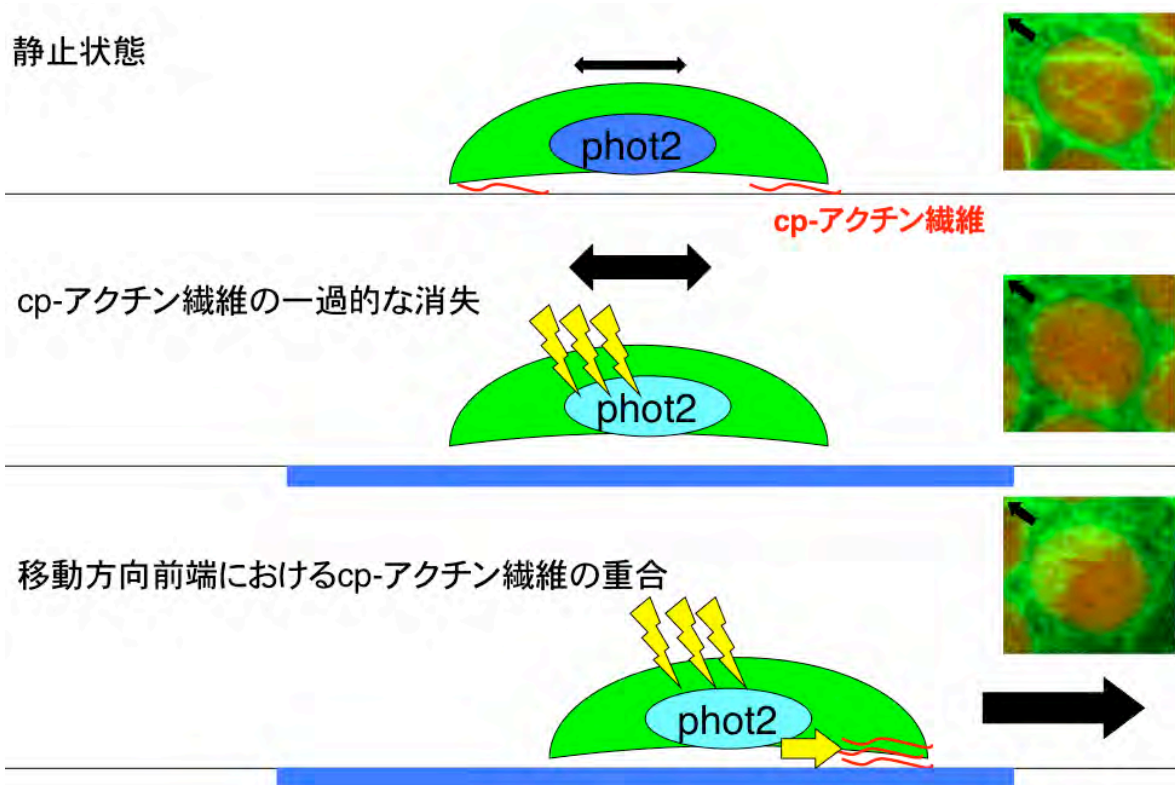


図5. 逃避反応時における cp-アクチン繊維の挙動

逃避運動開始前の静止状態では cp-アクチン繊維は葉緑体の全周囲に存在し、葉緑体はわずかに動きはするがその場にとどまっている（細い双方向矢印）。逃避反応は光の照射部域内（青線の部分）の葉緑体でのみ起こるので、phot2 は葉緑体外包膜あるいは細胞膜の葉緑体に接している部分にあると考えられる。phot2 が光を受容すると、cp-アクチン繊維の一過的な消失が起こり、葉緑体が細胞膜から外れ動きが大きくなる（太い双方向矢印）。その後何らかの信号（黄色矢印）により cp-アクチン繊維が前端側で重合され、結果として葉緑体は光から逃避する（矢印）。写真は GFP-タリンでアクチン繊維を可視化した（緑色）シロイヌナズナにおいて、写真左上矢印方向に逃避運動を起こしている葉緑体（赤色）上での cp-アクチン繊維の動態を示す。

弱光下における集合反応では、cp-アクチン繊維の消失は起こらず、移動方向側の cp-アクチン繊維が増えることによって、光に向かって移動する（図6）。

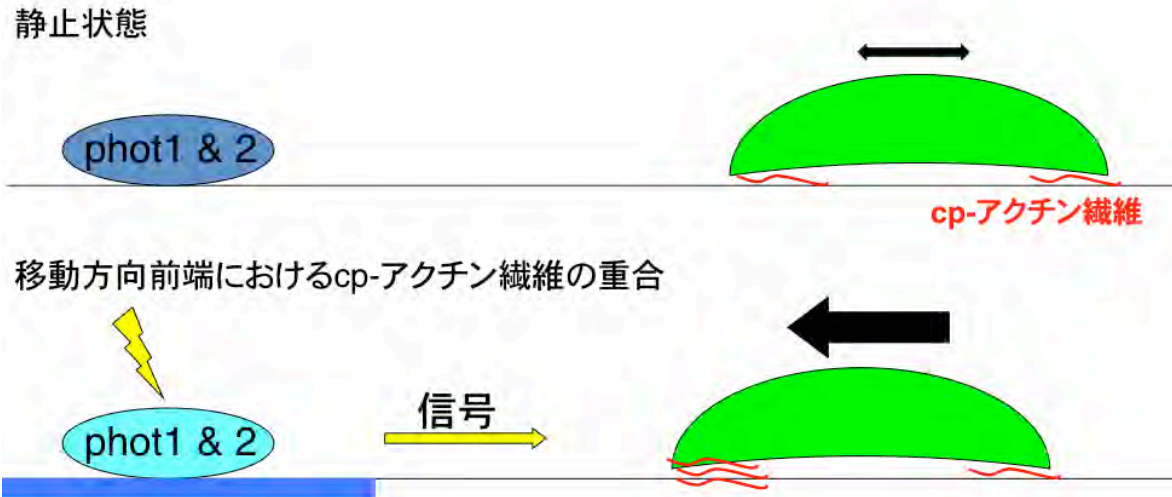


図6. 集合反応時における cp-アクチン繊維の挙動

細胞膜上の phot1 と phot2 が光を受容すると、何らかの信号が発生し、直接光が当たっていない葉緑体にも情報が伝わる。逃避反応とは異なり cp-アクチン繊維の一過的な消失は起こらず、葉緑体上の光照射部位方向前半分で cp-アクチン繊維の重合が起こり、光に向かって集まる (矢印)。

葉緑体の移動速度は、集合反応でも逃避反応でも、前端側と後端側の cp-アクチン繊維の量比に依存しており、量比が大きくなれば速度は速くなる (Kadota et al. 2009)。さらに逃避反応では光強度の上昇に伴って前後の cp-アクチン繊維の量比は増大し、葉緑体は速く動く。これらの結果から、cp-アクチン繊維の挙動は葉緑体の運動方向および速度変化と完全に一致していることが分かる。重要なことに、アクチン繊維依存のオルガネラ運動の阻害剤として知られる 2,3-ブタンジオン 2-モノキシムで処理した細胞では、葉緑体運動は完全に阻害されるが、それでもなお強光照射時に見られる cp-アクチン繊維の一過的消失と片側への偏在化は観察された (Yamada et al. 2011)。この結果は、cp-アクチン繊維の片側への偏在は葉緑体運動の結果ではなく、運動の起因となり得ることを示している。

細胞内で静止している葉緑体は細胞質に浮いているのではなく、アクチン繊維に依存して細胞膜に接着しているが (Takagi et al. 2009)、それでもその場でわずかに動いている。細胞の広い範囲に弱光を照射すると、葉緑体の全周囲で cp-アクチン繊維が増加しそれに伴い葉緑体の動きも弱まった。逆に強光照射では cp-アクチン繊維が消失し、葉緑体は大きく動くようになった (Kadota et al. 2009)。このことは、光強度に依存した cp-アクチン繊維の量の変化が細胞膜への接着の程度を決定していることを示唆している。

光に依存した cp-アクチン繊維の動態変化と葉緑体光定位運動との関連は、フォトリポピン欠損変異体を使った解析によりさらに明らかとなった。phot1 変異体では phot2 に依存した集合反応と逃避反応がともに起こり、cp-アクチン繊維の動態にも野生型と比較して大きな違いが見られなかった (Kadota et al. 2009)。しかし強光照射によって起こる cp-アクチン繊維の消失とその後の偏在化が野生型と比較してわずかに早いタイミングで起こり、その結果として葉緑体が逃避し始めるタイミングも早かった (Ichikawa et al. 2011)。phot2 変異体は逃避反応を欠

損しているため、強光下でも集合反応が誘導される (Jarillo et al. 2001, Kagawa et al. 2001)。この変異体の葉緑体に強光を照射すると、強光が照射された部分での cp-アクチン繊維の消失は起こらず、逆に cp-アクチン繊維の重合が促進され、集合反応が誘導された (Ichikawa et al. 2011, Kadota et al. 2009)。phot1phot2 変異体では cp-アクチン繊維の光依存的な変化は全く起こらず、葉緑体の光定位運動も細胞膜への接着の光制御も見られなかった (Ichikawa et al. 2011, Kadota et al. 2009)。これらの結果から、フォトトロピンは cp-アクチン繊維の動態を制御していることが明らかとなった。

4. cp-アクチン繊維の制御に関わる因子

シロイヌナズナにおける分子遺伝学的解析により、光受容体フォトトロピンだけでなく葉緑体運動の信号伝達系や運動系に関わる様々な因子が同定された (図7)。我々は、これらの因子の変異体において、葉緑体運動に伴う cp-アクチン繊維の動態を詳細に観察することにより、これらの因子が cp-アクチン繊維の制御にどのように関与しているかを推察した。

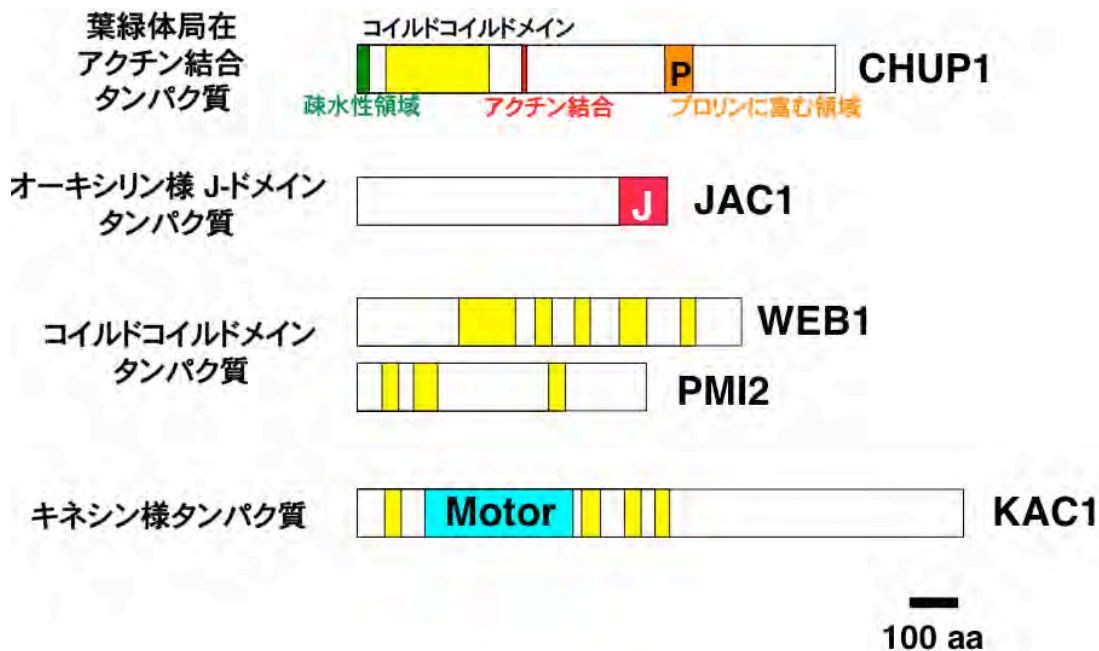


図7, シロイヌナズナにおける葉緑体運動の信号伝達系や運動系に関わる因子

4-1. CHUP1 (chloroplast unusual positioning 1)

我々が単離した変異体の中で *chup1* 変異体は最も形質が強く、葉緑体光定位運動を欠損しているだけでなく、葉緑体が細胞膜から外れてしまい凝集していた (Kasahara et al. 2002, Oikawa et al. 2003)。葉柄細胞を観察すると、野生型では刺激光が照射されない限り葉緑体はその位置をほとんど変えないが、*chup1* 変異体の葉緑体は原形質流動に乗って激しく細胞内を移動していた (Kadota et al. 2009, Suetsugu et al. 2010c)。この変異体では細胞質のアクチン繊維の動態は野生型と変わらないが、cp-アクチン繊維が全くみられなかった (Oikawa et al. 2003, Kadota et al. 2009)。このことは cp-アクチン繊維が、葉緑体の光定位運動のみならず細胞膜への接着にも必須であることをさらに裏付けている。CHUP1 は複数の機能ドメインを持った葉緑体の外包膜

に局在する陸上植物に特異的なタンパク質である (Oikawa et al. 2003) (図7)。アミノ末端側の疎水性領域は葉緑体外包膜局在に必須である (Oikawa et al. 2003, 2008, Schmidt von Braun & Schleiff 2008)。その後ろ側のアミノ末端側半分のコイルドコイルドメインは、葉緑体が細胞膜に接着するために必要であり (Oikawa et al. 2008)、また試験管内の実験結果では二量体化にも必要である (Lehmann et al. 2011)。コイルドコイルの次にはアクチン結合部位が存在し、試験管内でのアクチン繊維結合能が確認された (Oikawa et al. 2003)。カルボキシ末端側はプロリン残基に富む領域と陸上植物の CHUP1 の間で非常に保存性の高い領域を含む (Oikawa et al. 2003)。プロリン残基に富む領域は動物等のアクチン重合に関わる因子にも見られ、アクチン分子と結合し、その重合を促進するプロフィリンと結合する領域であることが知られている (Holt & Koffer 2001)。実際に CHUP1 はプロフィリン結合能をもつ (Schmidt von Braun & Schleiff 2008)。以上のことから CHUP1 は葉緑体に局在し、cp-アクチン繊維の重合に関与する因子である可能性が高いが、今のところその証拠は無い。

4-2. KAC(kinesin-like protein for actin-based chloroplast movement)

集合反応の変異体のスクリーニングの過程で *kac1* 変異体が単離されたが、集合反応をほとんど欠損しているだけでなく、逃避反応の速度も野生型と比べて遅かった (Suetsugu et al. 2010c)。シロイヌナズナには *KAC1* によく似た遺伝子 *KAC2* が存在する。*kac2* 変異体の葉緑体運動は正常であったが、*kac1kac2* 二重変異体では葉緑体光定位運動が全く見られず、葉緑体が細胞膜から外れるという *chup1* 変異体とよく似た形質を示した。実際に *chup1* 変異体同様 *kac1kac2* 二重変異体では cp-アクチン繊維が全くみられず、*kac1* 変異体の cp-アクチン繊維の量は野生型と比べて少なかった (Suetsugu et al. 2010c)。驚くべきことに、KAC は微小管モーターとして知られるキネシン様のタンパク質であった (図7)。ところがそのモータードメインは微小管に結合する能力やモーター活性に必須なヌクレオチド加水分解能を欠損していた。KAC のカルボキシ末端は他のタンパク質との相同性は無いが、陸上植物の KAC の間で非常に相同性が高い。この部分は試験管内で弱いながらもアクチン繊維と結合する能力がある (Suetsugu et al. 2010c)。KAC は細胞膜と細胞質に局在するので、cp-アクチン繊維が細胞膜に結合するために必要な因子であると考えられる。

4-3. JAC1(J-domain protein required for chloroplast accumulation response 1)

jac1 変異体は集合反応を完全に欠損しており (Suetsugu et al. 2005a)、逃避反応は野生型よりも弱い光強度で誘導されるが、その速度は遅い (Ichikawa et al. 2011, Kodama et al. 2010)。集合反応を欠損しているため、弱光下で光の方向に向かった cp-アクチン繊維の偏在化は見られなかったが、一部の弱光から逃げる葉緑体では、光と反対側に cp-アクチン繊維が偏在することが観察された (Ichikawa et al. 2011)。面白いことに、*jac1* 変異体では強光照射による cp-アクチン繊維の一時的消失がほとんど観察されなかった。特に細胞全体に強光照射したときには cp-アクチン繊維の消失も偏在化も観察されず、結果として葉緑体逃避反応は起こらず、細胞膜に強く接着していた (Ichikawa et al. 2011)。JAC1 はカルボキシ末端側に分子シャペロンタンパク質にみられる J-ドメインと呼ばれる熱ショックタンパク質を制御するドメインを持つ

(Suetsugu et al. 2005a) (図7)。特にオーキシリンと呼ばれるクラスリン小胞を被覆するタンパク質に相同性が高い (Eisenberg & Greene 2007)。実際に結晶構造解析により、JAC1 の J-ドメインはオーキシリンの J-ドメインと同じ立体構造を持つことが分かった (Suetsugu et al. 2010b, Takano et al. 2010)。JAC1 の J-ドメインが葉緑体運動の制御に必須であることは明らかだが (Takano et al. 2010)、JAC1 自体の機能は分かっていない。

4-4. WEB1(weak chloroplast movement under blue light 1) と PMI2(plastid movement impaired 2)

我々は逃避反応欠損変異体のスクリーニングにより、逃避反応が著しく弱い2つの変異体 *web1* と *pmi2* を単離した (Kodama et al. 2010, Luesse et al. 2006)。これらの変異体では集合反応、逃避反応ともに葉緑体運動の速度が遅く、特に逃避反応の異常が著しかった。実際に強光照射による cp-アクチン繊維の消失がほとんど起こらず、ごくわずかに偏在化が起こるのみであった (Kodama et al. 2010)。両変異体の形質はほとんど同じであり、二重変異体もそれぞれの単一の変異体と変わらないので、WEB1 と PMI2 は非常に密接に機能していることが推察された。WEB1 と PMI2 は、ともにコイルドコイルドメインを持ったタンパク質ファミリー (WEB1/PMI2-related タンパク質ファミリー) に属する (Kodama et al. 2010, 2011) (図7)。遺伝学的解析とタンパク質の構造から予想されたように、酵母ツーハイブリッド系、植物細胞内での二分子蛍光相補 (BiFC) 法などにより WEB1 と PMI2 は結合すること、さらに BiFC 法によって、その結合が細胞質で起こっていることが観察された (Kodama et al. 2010)。遺伝学的解析により WEB1 と PMI2 の機能には JAC1 が必要であることが示唆されたが、WEB1/PMI2 と JAC1 の結合は今のところ検出されていない (Kodama et al. 2010)。強光下での cp-アクチン繊維の動態の異常さが、*jac1*, *web1*, *pmi2* の三つの変異体で似ていることから (Ichikawa et al. 2011, Kodama et al. 2010)、WEB1/PMI2 は JAC1 と近いところで機能している可能性がある。

4-5. その他

上記の他にも PMI1 (plastid movement impaired 1) (DeBlasio et al. 2005) や THRUMIN1 (Whippo et al. 2011) などが葉緑体運動に関与することが知られているが、これらの因子が cp-アクチン繊維の制御に関与するか否かは報告されていない。特に THRUMIN1 は細胞内でアクチン繊維と結合し、さらに試験管内でアクチン繊維の束化を促進することが知られているので (Whippo et al. 2011)、*thrumin1* 変異体における cp-アクチン繊維の動態観察は必須である。

5. おわりに

葉緑体運動は脱核した細胞でも誘導されるので、遺伝子発現を介さない非常に早い単純な系で制御されていることが示唆されている (Wada 1988)。緑色植物は細胞膜に局在する光受容体フォトトロピンによって葉緑体運動を制御するメカニズムを発達させることにより (図3)、遺伝子発現を介さない、細胞膜と葉緑体間という最短距離で迅速に処理できる反応系を獲得した。細胞膜付近での信号伝達に関しては、カルシウムイオンの取り込み等の関与が示唆されているが、未だ確証はない (Suetsugu et al. 2009)。

植物が上陸した初期、陸上植物は直接日光にさらされる環境にあったが、次第に木生シダ、裸子植物、被子植物等が繁茂するようになると、林床でより多くの光を得ることが植物の生存に必須となった。光強度が頻繁に変動する疎林の林床で、効率よい光合成を行い、かつ光損傷を避けられるよう適応するため、植物にとっては絶えず光の方向や強弱を察知し、葉緑体が適切な位置に素早く動くことができるような運動メカニズムが必要であった（図8）。ミオシンによるアクチン繊維に沿った運動は速い速度を維持できるものの（Shimmen & Yokota, 2004）、既存のアクチン繊維に沿った方向にしか移動できず、急な方向転換は困難である。一方、cp-アクチン繊維による運動メカニズムでは、アクチン繊維自体が個々の葉緑体によって自律的に、しかも短時間に再構成されるので、個々の葉緑体は独立に細胞内を自由な方向に動くことができる。葉緑体運動に伴う cp-アクチン繊維の光依存の動態はシロイヌナズナだけでなく、コケ類やシダ類でも見られる（Tsuboi & Wada, 2012, Yamashita et al. 2011）。また cp-アクチン繊維の重合あるいは制御に重要な因子 CHUP1 と KAC は、系統学的には陸上植物の基部に位置するゼニゴケにも存在する（Suetsugu et al. 2010a）。すなわち cp-アクチン繊維依存の葉緑体運動のメカニズムは、植物の上陸初期には既に獲得され、激しく変動する陸上の光環境下で植物が繁栄するための大きな一助となったと考えられる（図3, 8）。

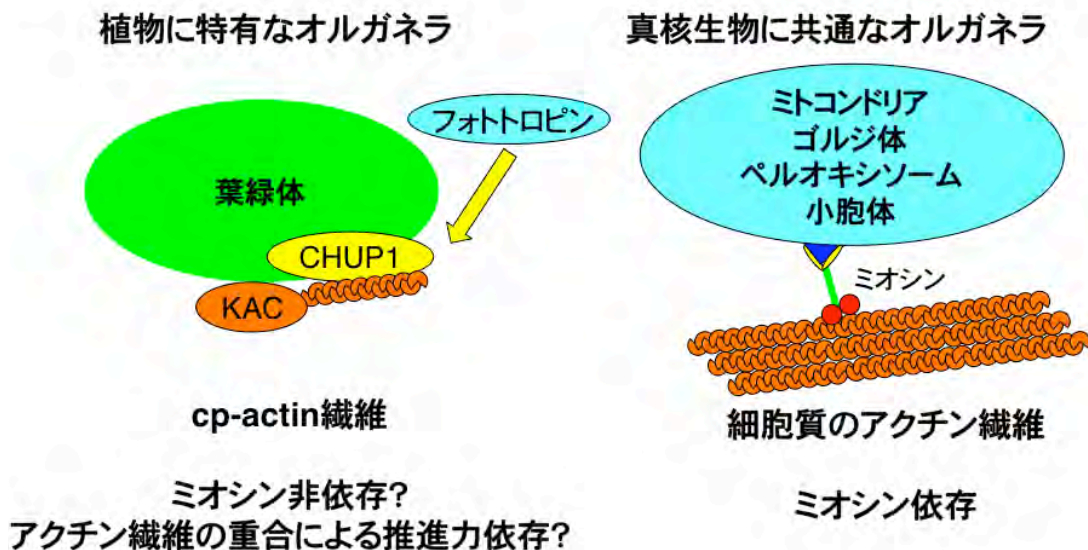


図8. 陸上植物におけるオルガネラ運動

真核植物に共通なオルガネラは、細胞質に既存のアクチン繊維に沿ってミオシン依存の速い運動を行うが、この方式では方向転換が難しい。一方葉緑体は光の強さや方向に応じて cp-アクチン繊維の重合を自分自身で制御することにより、細胞内を自由な方向に動くことができる。光受容体フォトトロピンと cp-アクチン繊維の制御因子である CHUP1 と KAC は陸上植物に共通な因子である。葉緑体がどのように cp-アクチン繊維を利用して運動の推進力を生み出しているかは明らかでない。

引用文献

- Aihara, Y., Tabata, R., Suzuki, T., Shimazaki, K., & Nagatani, A. 2008. Molecular basis of the functional specificities of phototropin 1 and 2. *Plant J.* 56: 364-375.
- Bowman, J.L., Floyd, S.K., & Sakakibara, K. 2007. Green genes-Comparative genomics of the green branch of life. *Cell* 129: 229-234.
- Christie. 2007. Phototropin blue-light receptors. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58: 21-45.
- DeBlasio, S.L., Luesse, D.L., & Hangarter, R.A. 2005. A plant-specific protein essential for blue-light-induced chloroplast movements. *Plant Physiol.* 139: 101-114.
- Deeks, M.J. & Hussey, P.J. 2005. ARP2/3 and SCAR: Plans move to the fore. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6: 954-964.
- Eisenberg, E. & Greene, L.E. 2007. Multiple roles of auxilin and Hsc70 in clathrin-mediated endocytosis. *Traffic* 8: 640-646.
- Fankhauser, C. & Chen, M. 2008. Transposing phytochrome into the nucleus. *Trends Plant Sci.* 13: 596-601.
- Fehrenbacher, K.L., Boldogh, I.R., & Pon, L.A. 2003. Taking the A-train: actin-based force generators and organelle targeting. *Trends Cell Biol.* 13: 472-477.
- Holt, M.R. & Koffer, A. 2001. Cell motility: proline-rich proteins promote protrusions. *Trends Cell Biol.* 11: 38-46.
- Ichikawa, S., Yamada, N., Suetsugu, N., Wada, M., & Kadota, A. 2011. Red light, phot1 and JAC1 modulate phot2-dependent reorganization of chloroplast actin filaments and chloroplast avoidance movement. *Plant Cell Physiol.* 52: 1422-1432.
- Jarillo, J.A., Gabrys, H., Capel, J., Alonso, J.M., Ecker, J.R., & Cashmore, A.R. 2001. Phototropin-related NPL1 controls chloroplast relocation induced by blue light. *Nature* 410: 952-954.
- Kadota, A., Sato, Y., & Wada, M. 2000. Intracellular chloroplast photorelocation in the moss *Physcomitrella patens* is mediated by phytochrome as well as by a blue-light receptor. *Planta* 210: 932-937.
- Kadota, A., Yamada, N., Suetsugu, N., Hirose, M., Saito, C., Shoda, K., Ichikawa, S., Kagawa, T., Nakano, A., & Wada, M. 2009. Short actin-based mechanism for light-directed chloroplast movement in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 13106-13111.
- Kadota, A. & Wada, M. 1999. Red light-aphototropic (rap) mutants lack red light-induced chloroplast relocation movement in the fern *Adiantum capillus-veneris*. *Plant Cell Physiol.* 40: 238-247.
- Kagawa, T., Kasahara, M., Abe, T., Yoshida, S., & Wada, M. 2004. Function analysis of phototropin2 using fern mutants deficient in blue light-induced chloroplast avoidance movement. *Plant Cell Physiol.* 45: 416-426.
- Kagawa, T., Sakai, T., Suetsugu, N., Oikawa, K., Ishiguro, S., Kato, T., Tabata, S., Okada, K., & Wada, M. 2001. *Arabidopsis* NPL1: a phototropin homolog controlling the chloroplast high-light avoidance response. *Science* 291: 2138-2141.
- Kasahara, M., Kagawa, T., Oikawa, K., Suetsugu, N., Miyao, M., & Wada, M. 2002. Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. *Nature* 420: 829-832.

- Kasahara, M., Kagawa, T., Sato, Y., Kiyosue, T., & Wada, M. 2004. Phototropins mediate blue and red light-induced chloroplast movements in *Physcomitrella patens*. *Plant Physiol.* 135: 1388-1397.
- Kawai, H., Kanegae, T., Christensen, S., Kiyosue, T., Sato, Y., Imaizumi, T., Kadota, A., & Wada, M. 2003. Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. *Nature* 421: 287-290.
- Kodama, Y., Suetsugu, N., Kong, S.G., & Wada, M. 2010. Two interacting coiled-coil proteins, WEB1 and PMI2, maintain the chloroplast photorelocation movement velocity in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 19591-19596.
- Kodama, Y., Suetsugu, N., & Wada, M. 2011. Novel protein-protein interaction family proteins involved in chloroplast movement response. *Plant Signal. Behav.* 6: 483-490.
- Kong, S.G. & Wada, M. 2011. New insights into dynamic actin-based chloroplast photorelocation movement. *Mol. Plant* 4: 771-781.
- Lehmann, P., Bohnsack, M.T., & Schleiff, E. 2011. The functional domains of the chloroplast unusual positioning protein 1. *Plant Sci.* 180: 650-654.
- Luesse, D.L., DeBlasio, S.L., & Hangarter, R.A. 2006. Plastid movement impaired 2, a new gene involved in normal blue-light-induced chloroplast movements in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 141: 1328-1337.
- Luesse, D.L., DeBlasio, S.L., & Hangarter, R.A. 2010. Integration of phot1, phot2, and phyB signaling in light-induced chloroplast movements. *J. Exp. Bot.* 61: 4387-4397.
- Mittmann, F., Brücker, G., Zeidler, M., Repp, A., Abts, T., Hartmann, E., & Hughes, J. 2005b. Targeted knockout in *Physcomitrella* reveals direct actions of phytochrome in the cytoplasm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 13939-13944.
- Nozue, K., Kanegae, T., Imaizumi, T., Fukuda, S., Okamoto, H., Yeh, K.C., Lagarias, J.C., & Wada, M. 1998. A phytochrome from the fern *Adiantum* with features of the putative photoreceptor NPH1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 15826-15830.
- Oikawa, K., Kasahara, M., Kiyosue, T., Kagawa, T., Suetsugu, N., Takahashi, F., Kanegae, T., Niwa, Y., Kadota, A., & Wada, M. 2003. CHLOROPLAST UNUSUAL POSITIONING1 is essential for proper chloroplast positioning. *Plant Cell* 15: 2805-2815.
- Oikawa, K., Yamasato, A., Kong, S.G., Kasahara, M., Nakai, M., Takahashi, F., Ogura, Y., Kagawa, T., & Wada, M. 2003. Chloroplast outer envelope protein CHUP1 is essential for chloroplast anchorage to the plasma membrane and chloroplast movement. *Plant Physiol.* 148: 829-842.
- Onodera, A., Kong, S.G., Doi, M., Shimazaki, K., Christie, J.M., Mochizuki, N., & Nagatani, A. 2005. Phototropin from *Chlamydomonas reinhardtii* is functional in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 46: 367-374.
- Rensing et al. 2008. The *Physcomitrella* genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants. *Science* 319: 64-69.
- Sakai, T., Kagawa, T., Kasahara, M., Swartz, T.E., Christie, J.M., Briggs, W.R., Wada, M., & Okada, K. 2001. *Arabidopsis* *nph1* and *npl1*: blue light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 6969-6974.
- Sato, Y., Wada, M., & Kadota, A. 2001. Choice of tracks, microtubules and/or actin filaments for chloroplast

- photo-movement is differentially controlled by phytochrome and a blue light receptor *J. Cell Sci.* 114: 269-279.
- Schmidt von Braun, S. & Schleiff, E. 2008. The chloroplast outer membrane protein CHUP1 interacts with actin and profilin. *Planta* 227: 1151-1159.
- Schneider, H., Schuettpelez, E., Pryer, K.M., Cranfill, R., Magallón, S., & Lupia, R. 2004. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature* 428: 553-557.
- Senn, G. 1908. Die Gestalts- und Lageveränderung der Pflanzen-Chromatophoren. Engelmann, Stuttgart.
- Shimmen, T. & Yokota, E. 2004. Cytoplasmic streaming in plants. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16: 68-72.
- Sparkes, I.A. 2010. Motoring around the plant cell: insights from plant myosins. *Biochem. Soc. Trans.* 38: 833-838.
- Suetsugu, N., Dolja, V.V., & Wada, M. 2010a. Why have chloroplasts developed a unique motility system? *Plant Signal. Behav.* 5: 1190-1196.
- Suetsugu, N., Kagawa, T., & Wada, M. 2005a. An auxilin-like J-domain protein, JAC1, regulates phototropin-mediated chloroplast movement in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 139: 151-162.
- Suetsugu, N., Mittmann, F., Wagner, G., Hughes, J., & Wada, M. 2005b. A chimeric photoreceptor gene, *NEOCHROME*, has arisen twice during plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 13705-13709.
- Suetsugu, N., Takano, A., Kohda, D., & Wada, M. 2010b. Structure and activity of JAC1 J-domain implicate the involvement of the cochaperone activity with HSC70 in chloroplast photorelocation movement. *Plant Signal. Behav.* 5: 8860-8865.
- Suetsugu, N., Yamada, N., Kagawa, T., Yonekura, H., Uyeda, T.Q.P., Kadota, A., & Wada, M. 2010c. Two kinesin-like proteins mediate actin-based chloroplast movement in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 13705-13709.
- Suetsugu, N. & Wada, M. 2005. Photoreceptor gene families in lower plants. In: Briggs, W.R. & Spudich, J.L. (eds.) *Handbook of Photosensory Receptors*. pp. 349-369. Wiley-VCH Verlag, Weinheim.
- Suetsugu, N. & Wada, M. 2007a. Phytochrome-dependent photomovement responses mediated by phototropin family proteins cryptogam plants. *Photochem. Photobiol.* 83: 87-93.
- Suetsugu, N. & Wada, M. 2007b. Chloroplast photorelocation movement by phototropin family proteins in green plants. *Biol. Chem.* 388: 927-935.
- Suetsugu, N. & Wada, M. 2009. Chloroplast photorelocation movement. In: Sandelius, A.S. & Aronsson, H. (eds.) *The Chloroplasts*. Plant Cell Monographs Series. pp. 235-266. Springer Berlin, Heidelberg.
- Takagi, S., Takamatsu, H., & Sakurai-Ozato, N. 2009. Chloroplast anchoring: its implications for the regulation of intracellular chloroplast distribution. *J. Exp. Bot.* 60: 3301-3310.
- Takano, A., Suetsugu, N., Wada, M., & Kohda, D. 2010. Crystallographic and functional analyses of J-domain of JAC1 essential for chloroplast photorelocation movement in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 51: 1372-1376.
- Tsuboi, H. & Wada, M. 2012. Distribution pattern changes of actin filaments during chloroplast movement in *Adiantum capillus-veneris*. *J. Plant Res.* 125: 417-428.
- Uenaka, H. & Kadota, A. 2007. Functional analyses of the *Physcomitrella patens* phytochromes in

- regulating chloroplast avoidance movement. *Plant J.* 51: 1050-1061.
- Wada, M. 1988. Chloroplast photoorientation in enucleated fern protonemata. *Plant Cell Physiol.* 29: 1227-1232.
- Wada, M. & Suetsugu, N. 2004. Plant organelle positioning. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7: 626-631.
- Whippo, C.W., Khurana, P., Davis, P.A., DeBlasio, S.L., DeSloover, D., Staiger, C.J., & Hangarter, R.P. 2011. THRUMIN1 is a light-regulated actin-bundling protein involved in chloroplast motility. *Curr. Biol.* 21: 59-64.
- Yamashita, H., Sato, Y., Kanegae, T., Kagawa, T., Wada, M., & Kadota, A. 2011. Chloroplast actin filaments organize meshwork on the photorelocated chloroplasts in the moss *Physcomitrella patens*. *Planta* 233: 357-368.