

日本植物学会シンポジウム

「光合成生物の多様な光応答戦略」

オーガナイザー

成川 礼

東京大学大学院総合文化研究科

〒153-8902 目黒区駒場 3-8-1

石川 美恵

東北大学大学院生命科学研究科

〒980-8577 仙台市青葉区片平 2-1-1

Various light-responsive strategies in photosynthetic organisms

Key words: algae; cyanobacteria; light environment; photoreceptor; plant

Rei Narikawa

Department of Life Sciences, University of Tokyo

3-8-1 Komaba, Meguro, Tokyo 153-8902, Japan

Mié Ishikawa

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,

2-1-1, Katahira, Aoba-Ku, Sendai, Miyagi 980-8577, Japan

1. シンポジウム実施の経緯

日本植物学会第 75 回大会（東京）にて、シンポジウム「光合成生物の多様な光応答戦略」が行われ、多様な光合成生物の光応答現象を扱う若手研究者 6 名の演者により、最先端の研究成果が発表された。このシンポジウムはオーガナイザーの一人であり、シアノバクテリアの光応答を研究している成川が、光合成生物の光応答について個別の生物の理解に留まらず、多様な光合成生物の光応答戦略についての俯瞰的な理解を目指すために、黄色植物の光応答を研究している石川に声をかけたことに端を発する。それから 2 人で議論を交わし、様々な光合成生物の光応答について、分子レベルから細胞・個体レベルまで研究している若手研究者を精選し、講演を依頼した結果、このシンポジウムが実現した。

2. シンポジウムの狙い

光合成生物にとって光はエネルギーであり、それ故に、光は最重要的情報といえ、高度な

R. Narikawa & M. Ishikawa - 1

光応答機構の存在が示唆される。実際、シアノバクテリアや陸上緑色植物において、光受容体と光応答現象の詳細な解析が進められ、高度な光応答戦略の一端が明らかとなりつつある。一方、紅色植物や黄色植物でも光応答現象は知られているが、その分子機構などについては未だ不明な点が多い。また、シアノバクテリアや陸上緑色植物においてもまだ明らかとなっていない現象や分子機構も多い。光合成生物といつても、その生き様は様々であり、それぞれの生物は独自の光応答戦略で、光環境に適応していると考えられる。多様な光合成生物の光応答戦略について最先端の研究者が発表し、横断的に討論し合うことで、光応答戦略の普遍性と多様性を理解し、俯瞰的な視点で光合成生物の光応答戦略を捉えることができると期待される。また、他の光合成生物の光応答戦略を理解することで、今後の個別の研究へのフィードバックも期待できる。

そこで本シンポジウムでは、シアノバクテリアから、紅色植物、黄色植物、緑色植物までの多様な光合成生物について、最先端で研究に従事している若手研究者が、現在までに理解されている光応答現象やその分子機構を発表した。それぞれの発表や総合討論において、個別の現象や分子機構についてだけでなく、光応答戦略の普遍性と多様性についても活発に議論が行われた。特に、シアノバクテリアは光受容体が非常に豊富であるのに対し、陸上緑色植物では光受容体の数はあまり多くない。陸上緑色植物では限られた数の光受容体がクロストークや階層的な制御を組み合わせることで多様な光応答現象を制御しているのに対し、シアノバクテリアではそれぞれの光受容体が個別の光応答現象を制御しているという全く異なる戦略が示唆された。近年、紅色植物や黄色植物のゲノム解析が進展し、形質転換技術も開発されつつある。将来的には、ゲノム情報を基にした分子生物学的解析により、紅色植物や黄色植物の光応答戦略における分子機構がより深く解明されることで、包括的な理解が進むであろう。

また、このシンポジウムを通じてお互いの研究内容を把握したことの意義深く、今後のさらなる研究交流にも期待がもたれた。シンポジウムで交わされた活発な研究発表と議論が本特集にまとめられているので、本稿を通して、光合成生物の光応答戦略に関する現状の理解ならびに関連研究分野の発展の一助となれば幸いである。

シアノバクテリアの光応答戦略 -補色馴化・走光性・細胞凝集を制御する光応答システム-

成川 礼^{1,2}

1. 東京大学大学院総合文化研究科

〒153-8902 目黒区駒場 3-8-1

2. 科学技術振興機構 さきがけ

〒332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8

Light-responsive strategy in cyanobacteria

-Light-responsive system regulating chromatic acclimation, phototaxis and cell aggregation-

Key words: cyanobacteria; photoreceptor; cyanobacteriochrome; two-component system; c-di-GMP

Rei Narikawa^{1,2}

1. Department of Life Sciences, University of Tokyo

3-8-1 Komaba, Meguro, Tokyo 153-8902, Japan

2. PRESTO, Japan Science and Technology Agency

4-1-8, Honcho, Kawaguchi, Saitama 332-0012, Japan

1. はじめに

シアノバクテリアは様々な生態系において、一次生産者として重要な酸素発生型光合成を行う原核生物である。海水、淡水だけでなく、砂漠などの乾燥土壤も含めた陸地、高温、低温、塩基性環境などの極限環境に生育するものや、動物、植物、菌類などと共生するものもあり、地球上の様々な環境に生育している。また、ある種のシアノバクテリアは環境変動に応答して、細胞を分化させる。例えば、*Anabaena*, *Nostoc*などのシアノバクテリアは窒素飢餓条件下で、ヘテロシストと呼ばれる異質細胞を約10個に1個の割合で形成し、その細胞で窒素固定を専門的に行うようになる。このように様々な環境に適応した多様な種が存在するため、シアノバクテリアには多様、かつ、高度な環境応答機構が備わっていることが期待される。なかでも、光は光合成生物にとって最重要的情報といえ、高度な光応答機構の存在が示唆される。実際、シアノバクテリアでは、古くから多くの光応答現象が知られている。光の方向に向かう、あるいは、逃げる「走光性」、光質に応答して光捕集タンパク質の量比を変える「補色馴化」、光質に応答して光捕集タンパク質からのエネルギー伝達効率を変える「ステート遷移」など様々な光応答現象が存在している。変動する光環境に馴化し、効率よく光合成を行うために、シアノバクテリアにおいてこれらの光応答現象が構築されたと考えられる。

一方、1996年にかずさDNA研究所によって、単細胞性シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 (*Synechocystis*)の全ゲノム配列が決定されたのを皮切りに (Kaneko et al. 1996), 現在までに40種以上の

R. Narikawa - 1

シアノバクテリアのゲノム配列が決定されている。また、多くの種で形質転換技術が確立されているため、ゲノム情報を基盤とした遺伝子破壊による表現型解析が精力的に行われている。その結果、様々な光応答現象について、分子レベルから細胞・個体レベルまでその機構の詳細が明らかとなりつつある（図1）。本稿では、これまでに著者らが解析を行ってきた補色馴化、走光性、細胞凝集を制御する光応答システムについての知見を紹介する。特に、光受容体が受容する光質と制御する光応答現象との相関関係について、適応的意義という観点で議論したい。

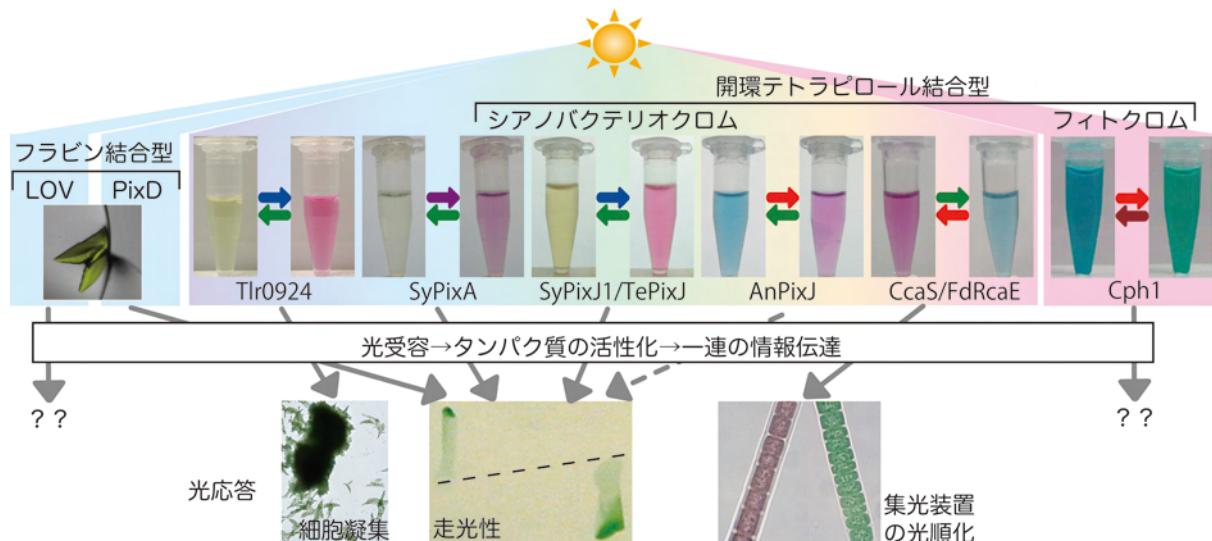


図1 シアノバクテリアの光受容システムの概略

2. シアノバクテリアの光受容体

これまでに、40種以上のシアノバクテリアのゲノム解読が完了しており、ゲノム情報から光受容体の存在を推測することが可能となっている。実際にゲノム情報を調べると、淡水あるいは陸生のシアノバクテリアにおいて、光受容体が豊富に存在することが分かってきた (Ashby and Houmard 2006, Ohmori et al. 2001)。これまでに生物界で知られている光受容体は、レチナール結合型 (ロドプシン), フラビン結合型 (LOVタンパク質, BLUFタンパク質, クリプトクロム), 開環テトラピロール結合型 (フィトクロム, シアノバクテリオクロム), クマル酸結合型 (PYP) に大別される。シアノバクテリアでは、クマル酸結合型以外の全てのタイプの光受容体が見つかっている。特に、LOVタンパク質、クリプトクロム、フィトクロム・シアノバクテリオクロムはほとんどの淡水、陸生のシアノバクテリアに存在している光受容体である (Brudler et al. 2003, Ikeuchi and Ishizuka 2008, Narikawa et al. 2006, Yeh et al. 1997)。一方、BLUFタンパク質やロドプシンは限られた種のシアノバクテリアにのみ存在する (Jung et al. 2003, Okajima et al. 2005)。フラビン結合型光受容体は、フラビンが青色光を吸収するため、青色光受容体として機能する。一方、開環テトラピロールを結合するフィトクロム・シアノバクテリオクロムの場合、多様な光質の光受容体が報告されている。これらの多様な光質の受容は、結合している色素種の違いや光受容機構の違いによって実現されていることが分かりつつある。フィトクロムでは、赤色光と遠赤色光の間での可逆的光変換、シアノバクテリオクロムの場合、青(紫)色光と緑色光の間での可逆的光変換、緑色光と赤色光の間での可逆的光変換などが報告されている (Ikeuchi and

Ishizuka 2008)。

3. 補色馴化を制御する光応答システム

シアノバクテリアの光合成においては、開環テトラピロール分子を結合した超巨大複合体フィコビリソームが、反応中心のクロロフィルが吸収できない光を捕集し、そのエネルギーを反応中心に伝達する (Tandeau de Marsac 2003)。フィコビリソームは主に光化学系 II に光エネルギーを伝達しており、光環境が変動することで、光化学系 I にも光エネルギーを伝達するステート遷移を示す。フィコビリソームはロッドとコアに分けられ、ロッドからコア、コアから反応中心へと光エネルギーを伝達している (図 2A)。その伝達過程では、短波長の光を吸収する色素タンパク質から、長波長の光を吸収する色素タンパク質へと光エネルギーが伝達される。コアにおいては、フィコシアノビリンと呼ばれる開環テトラピロール色素が結合したアロフィコシアニンというタンパク質が赤色光の吸収を担っている。ロッドでは、フィコシアノビリンが結合したフィコシアニンタンパク質が必ず存在し、橙色の光を吸収している。それ以外に、種によっては、さらに短波長の光（主に緑色光）を吸収する色素タンパク質が結合することで、多様な光質を光合成に利用している。なかでも、フィコエリスリンという色素タンパク質は、フィコエリスロビリンという緑色光を吸収する色素を結合している。ある種のシアノバクテリアは、環境中の光質に応じて、フィコシアニンとフィコエリスリンの量比を変動させる（補色馴化）。この補色馴化は 3 つのタイプに分類される (Tandeau de Marsac 1977) (図 2A)。I 型はフィコシアニンとフィコエリスリンの両方を持つが、光質に応じてその量比を変動させない。II 型はフィコシアニンの量は変えずに、フィコエリスリンの量を変動させる。つまり、赤色光下では、フィコエリスリンを減らすことで、細胞は緑色を呈する。一方、緑色光下では、フィコエリスリンの量を増やすことで、細胞は黒っぽい色を呈する。III 型はフィコシアニンとフィコエリスリンの両方の量を変動させる。つまり、赤色光下では、フィコエリスリンを減らす一方でフィコシアニンを増やし、細胞は緑色を呈する。緑色光下では、フィコエリスリンを減らす一方でフィコエリスリンを増やし、細胞は赤色を呈する。このような補色馴化現象は、降り注ぐ太陽光の光質が変動したり、他の光合成生物と光が競合したりする環境の下で、効率よく光合成を行うために適応的であるといえる。

これらの補色馴化現象は古くから知られていたが、III 型補色馴化を示す *Fremyella diplosiphon* において、補色馴化を制御する光受容体が 1996 年に Kehoe らによって初めて遺伝的に同定された (Kehoe and Grossman 1996)。この光受容体をコードする遺伝子 *rcaE* が破壊された株では、赤色光条件下でも、緑色光条件下でも、フィコエリスリンとフィコシアニンの量比が全く変化しなかった。*rcaE* がコードするタンパク質はシアノバクテリオクロム型の色素結合ドメインを持つことから、光受容体であることが示唆されていたが、光受容体としての分光特性は長らく不明であった。

我々の研究グループは近年、*Synechocystis* と *Nostoc punctiforme* において、RcaE と似て非なるシアノバクテリオクロム型光受容体 CcaS を見いだし、その分光特性を調べた (Hirose et al. 2010, Hirose et al. 2008)。その結果、CcaS は緑色光と赤色光の間で可逆的に光変換した (図 1)。CcaS はアウトプットとして、バクテリアの二成分制御系として知られるヒスチジンキナーゼドメインを持ち、その自己リン酸化活性は緑色光によって誘導され、CcaS が緑色光センサーとして機能していることが示唆された (図 2B)。*Synechocystis* はフィコエリスリンを持たず、補色馴化を示さないが、*Synechocystis* では、通常のフィコビリソームにはない特殊なフィコビリソーム遺伝子 (*cpcG2*) の転写を制御していること

が明らかとなっている (Kondo et al. 2007)。一方、*Nostoc* は II 型の補色馴化を示し、*ccaS* 遺伝子破壊株では、緑色光で誘導されるフィコエリスリンの蓄積が起こらず、野生株において緑色光で誘導される量と赤色光で抑制される量の中間的な量の蓄積が、赤／緑色光条件下で等しく観察された。これらのこととは、CcaS が緑色光下ではフィコエリスリンの蓄積を誘導し、赤色光下ではフィコエリスリンの蓄積を抑制していることを示唆している。CcaS の下流には、CcaR というリン酸を受け取って活性化するレスポンスレギュレーター型転写因子が存在する。この *ccaR* 遺伝子破壊株においては、緑／赤色光条件下でともにフィコエリスリンの蓄積が全く起こらなかった。実際、フィコエリスリンに関わる遺伝子群の転写レベルを野生株や *ccaS*, *ccaR* 遺伝子破壊株において調べると、フィコエリスリンの蓄積量と相關した転写量が観察された。これらの事実から、CcaS が光受容体として赤色光と緑色光の量比を感じし、CcaR の転写調節を介して、その環境下で効率良く光合成を行うためにフィコエリスリン量を調節していることが示された。

*Fremyella diplosiphon*においては、RcaE の分光特性は明らかにされていないが、遺伝学的解析から、ヒスチジンキナーゼである RcaE からリン酸を受け取る RcaF, RcaF からさらにリン酸を受け取って活性化するレスポンスレギュレーター型転写因子 RcaC という 3 つのタンパク質間でのシグナル伝達を経て、赤色光条件下でフィコシアニンの転写活性を誘導し、フィコエリスリンの転写活性を抑制することが示唆されている (Gutu and Kehoe 2012)。近年のゲノム解析から、フィコエリスリンやフィコエリスリン同様緑色光アンテナであるフィコエリスロシアニンを持つシアノバクテリアにおいて、RcaE や CcaS が見いだされているが、それらが制御すると予測される遺伝子が種毎に異なっていることが予想される。これらの違いはそれぞれの生物の生育環境の違いに起因するかもしれない。また、それぞれの制御機構に細かな違いはあるが、基本的に緑色光と赤色光の量比に応じて緑色光アンテナと赤色光アンテナの量比を変動させる補色馴化現象は、受容する光質と光合成に利用する光質が一致しており、非常に適応的な現象であることは明白である。

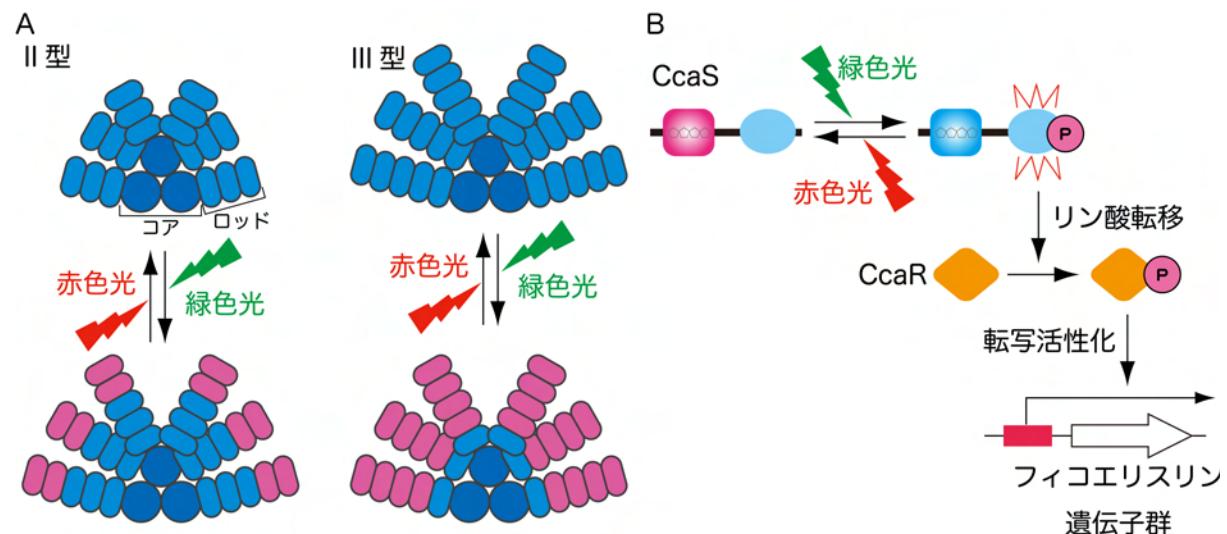


図 2 シアノバクテリアの補色馴化とその制御。A: フィコエリスリン量のみが変動する II 型補色馴化とフィコシアニンとフィコエリスリンの両方の量が変動する III 型補色馴化。B: 二成分制御系 CcaS, CcaR による II 型補色馴化の制御モデル。

4. 走光性を制御する光応答システム

古くから様々なシアノバクテリアで走光性は知られており、光源に向かって移動する正の走光性は、光合成をより活発に行うために重要な生理現象といえる。近年、主に *Synechocystis*において、走光性の仕組みが分子レベルで理解されつつある。シアノバクテリアの運動には、遊泳や物体表面を移動する滑走運動（ほぼ一方向へ一定速度で動く）や、twitching 運動（方向を変えながら間欠的に動く）が知られているが、大腸菌などの運動装置として知られている鞭毛は持たない。その代わり、多くの種が病原細菌のIV型線毛とよく似た線毛の遺伝子を持つ。*Synechocystis*において、それらの遺伝子を破壊すると、特定の線毛やtwitching 運動、自然形質転換能が消失することから、線毛を介した運動、外来DNAの取り込みが考えられている (Yoshihara et al. 2001)。このような役割の遺伝子が既に多数同定されており、線毛本体だけでなく、その形成に必要な遺伝子も同定されている (Bhaya et al. 2000, Okamoto and Ohmori 2002)。

株保存施設から取り寄せた *Synechocystis* の親株には、白色光源に対して正の走光性を示す細胞と負の走光性を示す細胞が混在していたため、それぞれを単離することで、PCC-P 株、PCC-N 株とした。これらの株は遺伝的に均一でないと考えられていたが、最近、次世代シーケンサーを用いた SNP 解析により、実際に複数の変異が確認されている (Kanesaki et al. 2012)。我々の研究グループは主に PCC-P 株を土台として、破壊株の走光性が変化する遺伝子を探索してきた。その結果、多くの遺伝子群が同定されている。中でも、光受容体を含む 3 つのオペロン遺伝子群 *pixG* クラスター, *pixD* クラスター, *pixA* クラスターが同定されている (Narikawa et al. 2011, Okajima et al. 2005, Yoshihara et al. 2000)。

pixG クラスターは、大腸菌等の他のバクテリアにおいて走化性を制御する遺伝子クラスターとの相同意から着目されたクラスターである。これらの遺伝子をそれぞれ PCC-P 株において破壊すると、負の走光性へと転換する (Yoshihara et al. 2000)。走化性制御において化学物質を感知すると考えられている MCP タンパク質と相同性があるタンパク質が PixJ1 である。このタンパク質はアウトプットとして、走化性制御タンパク質と同様、MCP ドメインを持ち、さらにシアノバクテリオクロム型色素結合ドメインを持つ。この PixJ1 タンパク質を精製してその分光特性を調べたところ、青色光と緑色光による可逆的光変換を示した (Yoshihara et al. 2004) (図 1)。この遺伝子クラスターのほとんどは、走化性を制御するバクテリアの遺伝子群と相同関係にあるが、*pixG* のみユニークな遺伝子であった。これは PatA 型のレスポンスレギュレーターというシアノバクテリアに特異的なタンパク質をコードしていた。

pixD クラスターは *pixD* と *pixE* という二つの遺伝子で構成され、*pixD* を破壊すると、やはり正の走光性が負に逆転する (Okajima et al. 2005)。PixD はフラビン結合型 BLUF タンパク質であり、青色光照射により、フラビンの吸収が 10 nm ほど長波長シフトする (図 1)。また、PixD は暗条件下で PixE とタンパク質複合体を形成し、青色光照射によりその複合体が解離することも分かっている。

pixA クラスターは *pixA*, *nixB*, *nixC* という三つの遺伝子で構成されている。PCC-P 株において、これらの遺伝子を破壊すると、*pixA* 遺伝子破壊株においては、正の走光性が負に逆転するのに対し、*nixB*, *nixC* 遺伝子破壊株においては、方向性の逆転は起こらず、むしろ正の走光性の移動距離が野生株に比べて有意に大きくなっていた (Narikawa et al. 2011)。一方、負の走光性を示す PCC-N 株において、これらの遺伝子を破壊すると、*nixB*, *nixC* 遺伝子破壊株においては、負の走光性が正に逆転するのに対し、*pixA* 遺伝子破壊株においては、方向性の逆転は起こらず、むしろ負の走光性の移動距離が野生株に比べて有意に大きくなっていた。PixA タンパク質はシアノバクテリオクロム型色素結合ドメインと

ヒスチジンキナーゼドメインを有する。この色素結合ドメインの分光特性を調べると、紫色光と緑色光の間で可逆的光変換を示した（図1）。NixB と NixC はそれぞれレスポンスレギュレーターであり、これらの遺伝子群がクラスターを形成していることから、一連のシグナル伝達系路で繋がっている可能性が高いが、pixA と nixB, nixC 遺伝子破壊株ではその表現型が逆になっている。NixB, NixC が脱リノ酸化状態で活性化し、リン酸を受け取ることで不活性化しているのかもしれない。

面白いことに pixE と nixC は pixG 同様、PatA 型のレスポンスレギュレーターをコードするパラログ遺伝子であったため、これらの走光性制御クラスター群において、PixG, PixE, NixC が似たような形で走光性の方向性を制御する最終因子である可能性が示唆される。それぞれの光受容体の性質から、どの制御系も紫～青色光に応答することが考えられる。しかしながら、野生株において単色光照射の走光性への影響を調べたところ、*Synechocystis* は橙～赤色光に対して最も強く正の走光性を示すことが分かっている。これらのことから、未だ同定されていない橙～赤色光に応答するメインの走光性制御系が存在し、その制御系のスイッチとして、これらのクラスターが関与していることが示唆される（図3）。これらの光受容体が全て紫～青色光であることの適応的な意義を考察したい。紫～青色光は紫外光に近く、光合成における光阻害を引き起こしやすい光であるため、紫～青色光が存在する時に、橙～赤色光に対する正の走光性を抑制する制御系として役立っている可能性がある。今後これらの光受容体の多重変異株を用い、複数の光質を組み合わせた光（例えば、青色光+赤色光、緑色光+赤色光など）の照射が走光性に与える影響を調べることで、これらの可能性が検証できると考えている。

他のシアノバクテリアのゲノムを調べると、pixG クラスターは多くのシアノバクテリアにおいて存在しているが、pixD クラスターは一部のシアノバクテリアにしか存在せず、pixA クラスターは *Synechocystis* のみにしか存在しない。*Synechocystis* は特に複雑な走光性制御システムを発達させた可能性が示唆される。また、PixJ ホモログを調べると、ヘテロリストを形成するシアノバクテリアの PixJ 群のみ、色素結合ドメインの配列が変わっていた。実際に *Anabaena* sp. PCC 7120 における PixJ ホモログ AnPixJ の分光特性を調べると、青／緑色光可逆的光変換ではなく、緑／赤色光可逆的光変換を示した（Narikawa et al. 2008）。ヘテロリスト形成シアノバクテリアにおいては、pixG クラスターによる走光性制御系が他とは異なる形になっていることが示唆される。

5. 細胞凝集を制御する光応答システム

光合成は光によって駆動される反応と光に依存しない反応とに分けられる。前者は光に律速し、後者は酵素活性に律速するため、低温光条件では、酵素活性が相対的に下がり、光合成生物は強光条件と似たようなストレスを受け、光阻害を引き起こす。好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus*

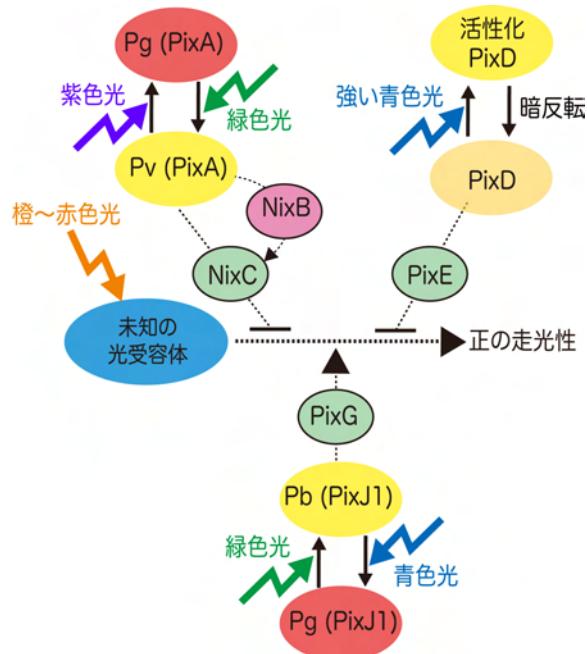


図3 *Synechocystis* における走光性の制御モデル。

vulcanus RKN (*T. vulcanus*) は、至適生育温度が 57°C くらいであり、45°C では通常の生育を示す。*T. vulcanus* を 31°C に移すと、細胞は 24 時間ほどの時間をかけて凝集を引き起こす (Kawano et al. 2011)。低温光条件下での細胞凝集は、一細胞当たりの光照射量を減らすことになるので、光からの回避という積極的な環境馴化とみなすことができる。この凝集細胞に対して、各種の酵素処理（セルラーゼ、グルカナーゼ、プロテアーゼなど）を行うと、セルラーゼ処理によって特異的に凝集が解消された。また、45°C と 31°C で培養した細胞それぞれの蓄積したセルロースを定量すると、31°C で有意にセルロース蓄積が誘導されていた。また、45°C から 31°C へ細胞を移してからのセルロース量のタイムコースを解析すると、24 時間までの間に徐々に蓄積していることが分かった。これらのことから、*T. vulcanus* における低温光条件下での細胞凝集にはセルロースの蓄積が必要であることが分かった。

T. vulcanus のゲノム解析は行われていないが、*T. vulcanus* と近縁（塩基レベルで 99% の配列類似性）な *T. elongatus* BP-1 の全ゲノム配列は決定されている (Nakamura et al. 2002)。*T. elongatus* のゲノム中には、3 つのセルロース合成酵素様遺伝子が存在しており、それらのホモログが *T. vulcanus* にも全て存在していた。そこで、これらの遺伝子の破壊株を作製したところ、*Tvtll0007* という遺伝子の破壊株において、低温光条件下での細胞凝集やセルロース蓄積が検出されなかった。これらのことから、*Tvtll0007* がコードするセルロース合成酵素 *TvTll0007* が低温条件下でセルロースを合成し、細胞凝集を引き起こしていることが示唆された (Kawano et al. 2011)。*TvTll0007* は膜貫通ドメインと活性中心ドメイン以外に、C 末端側に PilZ ドメインを持つ。この PilZ ドメインは、c-di-GMP という環状ヌクレオチドを結合するドメインである。c-di-GMP は近年バクテリアにおいて、バイオフィルム形成などを制御するセカンドメッセンジャー分子として注目を集めている (Mills et al. 2011)。酢酸菌や大腸菌において、実際に c-di-GMP がセルロース合成を制御していることも報告されている。これらのことから、*T. vulcanus* においても、c-di-GMP が PilZ ドメインに結合することで、セルロース合成を制御している可能性が考えられる。近年の解析により、青色光によって活性化されて c-di-GMP を合成する光受容体がこの細胞凝集を制御していることが示唆されている。この光受容体は青色光と緑色光の間で可逆的に光変換し、青色光照射によってできる緑色光吸収型が c-di-GMP を合成する。さらに、この光受容体をコードする遺伝子を破壊すると、青色光依存的に起こる細胞凝集が全く起らなくなつた。これらのことから、光の受容から情報伝達を経て、セルロース合成酵素の活性化を介した細胞凝集の一連の流れが示唆された (図 4)。

この光受容体が青色光で活性化されるが、光質と細胞凝集との関連性を考察したい。4 章でも記述したように、青色光は紫外光に近い光であり、エネルギーも強く、光阻害を引き起こしやすい光であ

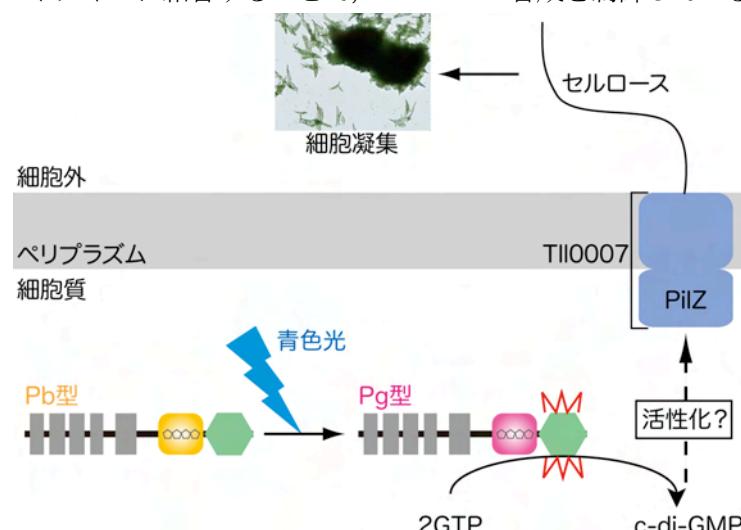


図4 *T. vulcanus* における低温光条件下の細胞凝集の制御モデル

る。この現象が低温光という、光阻害を起こしやすい条件下での現象であることも考えると、青色光の受容により、光を回避する凝集現象を起こすことは適応的であるといえる。また、今回は *T. vulcanus* における解析であるが、シアノバクテリアのゲノム中で、光受容ドメインと c-di-GMP 合成酵素ドメインを併せ持つ光受容体を広く探索すると、その多くはフラビンを結合して青色光を受容する LOV 型光受容体や青／緑間で光変換するシアノバクテリオクロム型光受容体がほとんどであった。これらの事実は、多くのシアノバクテリアにおいて、青色光に応答して細胞凝集を引き起こす現象が存在することを示唆するかもしれない。

6. 今後の展望

シアノバクテリアにおける光応答現象を分子レベルで詳細に理解するために、近年は形質転換が可能なモデル生物を用いた逆遺伝学的解析が主であった。しかしながら、次世代シーケンサーなどの飛躍的な技術進展により、非モデル生物におけるユニークな光応答現象を逆遺伝学的に解析することが以前よりも容易になっている。ゲノム情報を基盤として、シアノバクテリアの多様な光応答現象を順／逆遺伝学的に解析することにより、シアノバクテリアの光応答現象を細胞レベルで俯瞰的に理解できるだろう。一方、多様な光受容体の受容光質を生化学、分光学的に解析することも精力的に行われている (Rockwell et al. 2011, Rockwell et al. 2012)。これら二つの知見が蓄積していくことで、シアノバクテリアの光応答戦略を、分子レベルから細胞レベルまでより深く理解できると期待される。

引用文献

- Ashby, M.K., & Hounard, J. 2006. Cyanobacterial two-component proteins: structure, diversity, distribution, and evolution. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70: 472-509.
- Bhaya, D., Bianco, N.R., Bryant, D., & Grossman, A. 2000. Type IV pilus biogenesis and motility in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803. *Mol. Microbiol.* 37: 941-951.
- Brudler, R., Hitomi, K., Daiyasu, H., Toh, H., Kucho, K., Ishiura, M., Kanehisa, M., Roberts, V.A., Todo, T., Tainer, J.A., & Getzoff, E.D. 2003. Identification of a new cryptochrome class. Structure, function, and evolution. *Mol Cell* 11: 59-67.
- Gutu, A., & Kehoe, D.M. 2012. Emerging perspectives on the mechanisms, regulation, and distribution of light color acclimation in cyanobacteria. *Mol. Plant* 5: 1-13.
- Hirose, Y., Narikawa, R., Katayama, M., & Ikeuchi, M. 2010. Cyanobacteriochrome CcaS regulates phycoerythrin accumulation in *Nostoc punctiforme*, a group II chromatic adapter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107: 8854-8859.
- Hirose, Y., Shimada, T., Narikawa, R., Katayama, M., & Ikeuchi, M. 2008. Cyanobacteriochrome CcaS is the green light receptor that induces the expression of phycobilisome linker protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105: 9528-9533.
- Ikeuchi, M., & Ishizuka, T. 2008. Cyanobacteriochromes: a new superfamily of tetrapyrrole-binding photoreceptors in cyanobacteria. *Photochem. Photobiol. Sci.* 7: 1159-1167.
- Jung, K.H., Trivedi, V.D., & Spudich, J.L. 2003. Demonstration of a sensory rhodopsin in eubacteria. *Mol. Microbiol.* 47: 1513-1522.

- Kaneko, T., Sato, S., Kotani, H., Tanaka, A., Asamizu, E., Nakamura, Y., Miyajima, N., Hirosawa, M., Sugiura, M., Sasamoto, S., Kimura, T., Hosouchi, T., Matsuno, A., Muraki, A., Nakazaki, N., Naruo, K., Okumura, S., Shimpo, S., Takeuchi, C., Wada, T., Watanabe, A., Yamada, M., Yasuda, M., & Tabata, S. 1996. Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. *DNA Res.* 3: 109-136.
- Kanesaki, Y., Shiwa, Y., Tajima, N., Suzuki, M., Watanabe, S., Sato, N., Ikeuchi, M., & Yoshikawa, H. 2012. Identification of substrain-specific mutations by massively parallel whole-genome resequencing of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *DNA Res.* 19: 67-79.
- Kawano, Y., Saotome, T., Ochiai, Y., Katayama, M., Narikawa, R., & Ikeuchi, M. 2011. Cellulose Accumulation and a Cellulose Synthase Gene are Responsible for Cell Aggregation in the Cyanobacterium *Thermosynechococcus vulcanus* RKN. *Plant Cell Physiol.* 52: 957-966.
- Kehoe, D.M., & Grossman, A.R. 1996. Similarity of a chromatic adaptation sensor to phytochrome and ethylene receptors. *Science* 273: 1409-1412.
- Kondo, K., Ochiai, Y., Katayama, M., & Ikeuchi, M. 2007. The membrane-associated CpcG2-phycobilisome in *Synechocystis*: a new photosystem I antenna. *Plant Physiol.* 144: 1200-1210.
- Mills, E., Pultz, I.S., Kulasekara, H.D., & Miller, S.I. 2011. The bacterial second messenger c-di-GMP: mechanisms of signalling. *Cell Microbiol* 13: 1122-1129.
- Nakamura, Y., Kaneko, T., Sato, S., Ikeuchi, M., Katoh, H., Sasamoto, S., Watanabe, A., Iriguchi, M., Kawashima, K., Kimura, T., Kishida, Y., Kiyokawa, C., Kohara, M., Matsumoto, M., Matsuno, A., Nakazaki, N., Shimpo, S., Sugimoto, M., Takeuchi, C., Yamada, M., & Tabata, S. 2002. Complete genome structure of the thermophilic cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus* BP-1. *DNA Res.* 9: 123-130.
- Narikawa, R., Fukushima, Y., Ishizuka, T., Itoh, S., & Ikeuchi, M. 2008. A novel photoactive GAF domain of cyanobacteriochrome AnPixJ that shows reversible green/red photoconversion. *J. Mol. Biol.* 380: 844-855.
- Narikawa, R., Suzuki, F., Yoshihara, S., Higashi, S., Watanabe, M., & Ikeuchi, M. 2011. Novel photosensory two-component system (PixA-NixB-NixC) involved in the regulation of positive and negative phototaxis of cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 52: 2214-2224.
- Narikawa, R., Zikihara, K., Okajima, K., Ochiai, Y., Katayama, M., Shichida, Y., Tokutomi, S., & Ikeuchi, M. 2006. Three putative photosensory light, oxygen or voltage (LOV) domains with distinct biochemical properties from the filamentous cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. *Photochem. Photobiol.* 82: 1627-1633.
- Ohmori, M., Ikeuchi, M., Sato, N., Wolk, P., Kaneko, T., Ogawa, T., Kanehisa, M., Goto, S., Kawashima, S., Okamoto, S., Yoshimura, H., Katoh, H., Fujisawa, T., Ehira, S., Kamei, A., Yoshihara, S., Narikawa, R., & Tabata, S. 2001. Characterization of genes encoding multi-domain proteins in the

- genome of the filamentous nitrogen-fixing Cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *DNA Res.* 8: 271-284.
- Okajima, K., Yoshihara, S., Fukushima, Y., Geng, X., Katayama, M., Higashi, S., Watanabe, M., Sato, S., Tabata, S., Shibata, Y., Itoh, S., & Ikeuchi, M. 2005. Biochemical and functional characterization of BLUF-type flavin-binding proteins of two species of cyanobacteria. *J. Biochem. (Tokyo)* 137: 741-750.
- Okamoto, S., & Ohmori, M. 2002. The cyanobacterial PilT protein responsible for cell motility and transformation hydrolyzes ATP. *Plant Cell Physiol.* 43: 1127-1136.
- Rockwell, N.C., Martin, S.S., Feoktistova, K., & Lagarias, J.C. 2011. Diverse two-cysteine photocycles in phytochromes and cyanobacteriochromes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108: 11854-11859.
- Rockwell, N.C., Martin, S.S., Gulevich, A.G., & Lagarias, J.C. 2012. Phycobilobilin formation and spectral tuning in the DXCF cyanobacteriochrome subfamily. *Biochemistry* 51: 1449-1463.
- Tandeau de Marsac, N. 1977. Occurrence and nature of chromatic adaptation in cyanobacteria. *J. Bacteriol.* 130: 82-91.
- Tandeau de Marsac, N. 2003. Phycobiliproteins and phycobilisomes: the early observations. *Photosynth. Res.* 76: 193-205.
- Yeh, K.C., Wu, S.H., Murphy, J.T., & Lagarias, J.C. 1997. A cyanobacterial phytochrome two-component light sensory system. *Science* 277: 1505-1508.
- Yoshihara, S., Geng, X., Okamoto, S., Yura, K., Murata, T., Go, M., Ohmori, M., & Ikeuchi, M. 2001. Mutational analysis of genes involved in pilus structure, motility and transformation competency in the unicellular motile cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 42: 63-73.
- Yoshihara, S., Katayama, M., Geng, X., & Ikeuchi, M. 2004. Cyanobacterial phytochrome-like PixJ1 holoprotein shows novel reversible photoconversion between blue- and green-absorbing forms. *Plant Cell Physiol.* 45: 1729-1737.
- Yoshihara, S., Suzuki, F., Fujita, H., Geng, X.X., & Ikeuchi, M. 2000. Novel putative photoreceptor and regulatory genes required for the positive phototactic movement of the unicellular motile cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 41: 1299-1304.

単細胞紅藻シゾンにおける光応答戦略 -葉緑体自律的な転写制御-

華岡 光正

千葉大学大学院園芸学研究科

〒271-8510 千葉県松戸市松戸 648

Light-dependent transcriptional regulation in chloroplasts

Key words: chloroplasts, *Cyanidioschyzon merolae*, light response, transcriptional regulation, two-component system.

Mitsumasa Hanaoka

Graduate School of Horticulture, Chiba University

Matsudo 648, Matsudo, Chiba 271-8510, Japan

1. はじめに

葉緑体は、原始的な真核細胞にシアノバクテリアの祖先種が細胞内共生することで誕生したと考えられている。それゆえ葉緑体には、共生に由来する独自のゲノム DNA とその遺伝子発現（転写・翻訳）システムが備わっている。植物の光応答戦略は、一般に核の遺伝子発現を介するものとして理解されているが、少なくとも共生当初においては葉緑体がその機能を担っていたと推定される。本稿では、単細胞紅藻 *C. merolae* における葉緑体遺伝子の転写制御に関する知見について概説し、内部共生後の光環境応答系や遺伝子発現制御系の進化について考察する。

2. 単細胞紅藻シゾン

Cyanidioschyzon merolae (*C. merolae*, 以下シゾンと呼ぶ) は単細胞の紅藻であり、イタリア・ナポリ近郊の硫酸性温泉から単離された。高温・強酸性の極限環境に生息するこの微細藻は、核・ミトコンドリア・葉緑体をそれぞれ 1 個ずつしか持たないなど、非常に単純な細胞構造を示し、その特徴を利用してオルガネラ分裂装置の研究をはじめ、植物細胞生物学のモデルとしての研究が進められてきた (Kuroiwa 2000, Misumi et al. 2005)。



図1 単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (佐藤大地氏撮影) 通常条件で増殖中の細胞 (左) と分裂期細胞の拡大写真 (右) を示した。それぞれDAPIによる染色像と明視野像を示している。Scale barは全て1μmである。

シゾンのミトコンドリア (Ohta et al. 1998), 葉緑体 (Ohta et al. 2003), 核 (Matsuzaki et al. 2004, Nozaki et al. 2007) のゲノムは全て解読されており、イントロンがほとんどない、遺伝子の重複が極めて低いなどの原始的な特徴がゲノム構造からも示され、ポストゲノム研究のモデルとしても注目が集まっている。最近になって、外来 DNA の導入や一過性発現、相同組換えを利用した遺伝子ターゲッティングも可能となっており (Ohnuma et al. 2008, Ohnuma et al. 2009, Imamura et al. 2010), 今後の分子遺伝学研究の発展が期待されている。

3. シゾン葉緑体ゲノム

葉緑体は、シアノバクテリアの内部共生に由来する独自のゲノムを持つ。シゾンの葉緑体にも他の植物と同様に二本鎖環状のゲノムDNAが存在しているが、高等植物の葉緑体ゲノムと比較して、サイズは約150 kbpとほぼ変わらないものの、遺伝子数は243とシロイヌナズナやイネ・タバコなど高等植物（約120遺伝子）の約2倍存在していることが示された（Ohta et al. 2003）。このことは、葉緑体ゲノムにより密に遺伝子が配置していることを示しており、共生前のシアノバクテリアの性質を強く反映していると言える。しかしながら、葉緑体で機能するタンパク質の総数は2000-3000と言われており、葉緑体ゲノム上の遺伝子だけで全ての機能を担うには程遠い。共生によって持ち込まれたシアノバクテリアの遺伝子の大部分は、進化の過程で消失したか核に移行したと考えられている（Leister 2003）。シゾンにおいて多くの葉緑体タンパク質をコードする遺伝子は核ゲノムに存在していることが明らかとなったが、高等植物では核ゲノムにコードされているような多くの遺伝子が未だ葉緑体ゲノム上に残されていることから、より共生当初の様相を示していると考えることができる。

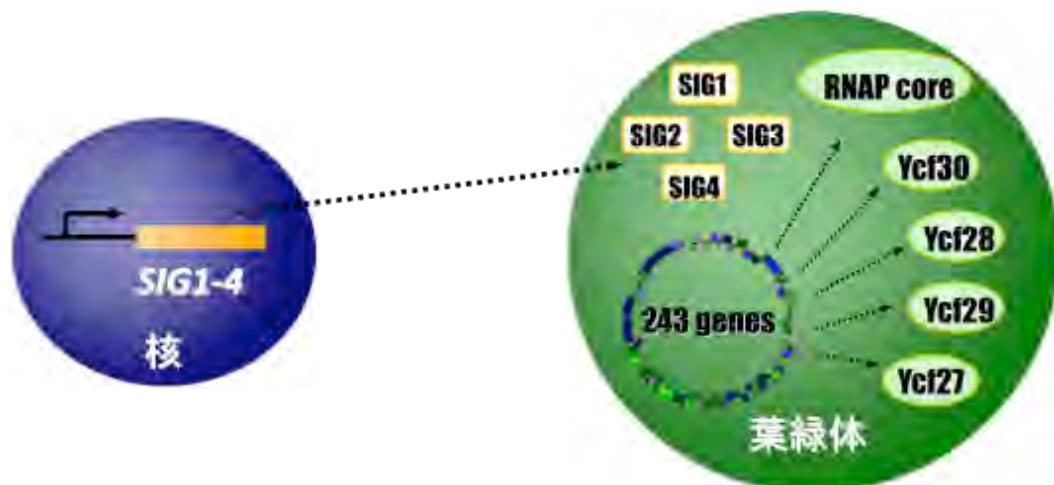


図2 シゾンにおける葉緑体転写制御系の特徴。葉緑体ゲノム上には高等植物の約2倍を超える243遺伝子がコードされており、共にバクテリア由來のRNAポリメラーゼとリボソームにより転写・翻訳される。また、葉緑体ゲノムにコードされる共生体由來の4種の転写因子が存在することも特徴の一つであり、細胞内共生直後により近い状態を反映しているものと予想される。

4. シゾンの葉緑体転写制御

上述の通り、葉緑体で機能するタンパク質をコードする遺伝子は、核ゲノムと葉緑体ゲノムに分かれているため、光合成などの葉緑体機能を正常に構築・維持するために両ゲノムの協調的な遺伝子発現が必須である（Goldschmidt-Clermont 1998）。したがって、環境変化や発達のステージに依存した遺伝子発現制御が重要な役割を果たす。これまでに、光環境に応答した核による葉緑体遺伝子の転写制御に関する研究が様々な植物種で展開されており、特に、葉緑体RNAポリメラーゼのプロモーター認識に関わるシグマ因子の使い分けによる転写制御の実体が、シゾンと高等植物の両方において示されている（Kanamaru et al. 2001, Hanaoka et al. 2003, Ishizaki et al. 2005, Minoda et al. 2005）。

一方で、このような核による葉緑体の転写制御に加えて、シゾンにおいてはシアノバクテリア

由来と考えられる4種の原核生物型の転写因子をコードする遺伝子が、葉緑体ゲノム上にコードされている。これらは Ycf27-Ycf30 と呼ばれ、シゾン以外の紅藻類の葉緑体ゲノムにも存在している (Reith & Munholland 1995, Glöckner et al. 2000)。これらのうち Ycf27 と Ycf29 は、それぞれ OmpR 型と NarL 型に分類される二成分制御系のレスポンスレギュレーターをコードしており、シアノバクテリアの Rre31 (RpaA)・Rre26 (RpaB)、および Rre1 にそれぞれ相同意が高いとされている (Ashby et al. 2002)。RpaA と RpaB は、当初はステート遷移（光環境に応答して PSI と PSII のアンテナサイズを調節する）に相補的に関わる調節因子として同定されており (Ashby & Mullineaux 1999)，また、シアノバクテリアにおいて、RpaA は概日時計の出力系に (Takai et al. 2006)，RpaB は強光ストレス応答に関わる (Kappell & van Waasbergen 2007, Seki et al. 2007, Hanaoka et al. 2008) ことがそれぞれ示されており、以上のことからもシゾンの葉緑体に残された二成分制御系が何らかの光環境応答に深く関わる可能性が考えられる。

5. 葉緑体自律的な環境応答と転写制御

環境応答に深く関わるとされている二成分制御系のレスポンスレギュレーター遺伝子 (Ycf27・Ycf29) がシゾンの葉緑体に残されていることから、共生前のシアノバクテリア細胞が有していた環境応答システム、特に光応答系の一部がシゾン葉緑体で（核とは独立して）今なお機能している可能性が予想された。実際、単離葉緑体を用いた Run-on 転写系 (Hanaoka et al. 2010) とクロマチン免疫沈降法を用いた一連の実験により、シゾンの葉緑体には自律的な光応答転写制御系が存在することが示されている (Hanaoka et al. 未発表データ)。核制御から独立した自律的な転写制御については、別の葉緑体コードの転写因子である Ycf30 が CO₂ 環境の応答に関わることが示されており (Minoda et al. 2010)，葉緑体にコードされたこれら4種の転写因子がバクテリア型環境応答の名残として葉緑体独自の環境応答に関わることが強く示唆されている。

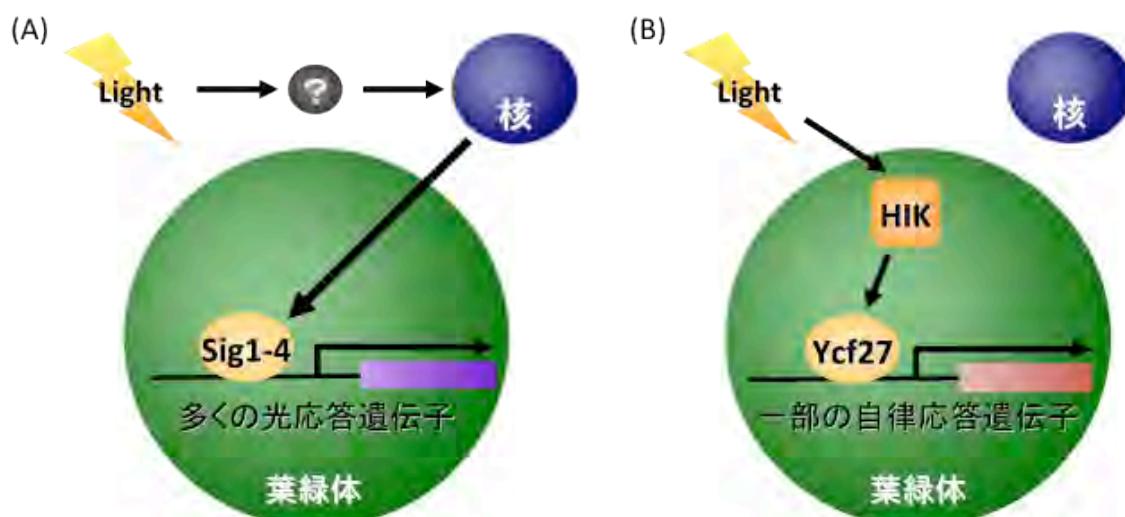


図3 光環境に自律応答した葉緑体遺伝子の転写制御。(A) 葉緑体の光に応答した転写制御は、大部分が核や細胞質を介した制御を受けていると予想される。(B) 一方、シゾンの葉緑体には、二成分制御系を介した光に自律的に応答した転写制御系が存在し、特定の遺伝子群の転写に関与している可能性が示唆されている。

シゾン葉緑体の二成分制御系において、レスポンスレギュレーター Ycf27・Ycf29 と対をなす

ヒスチジンキナーゼ (CmHIK: 環境刺激の受容に関わるセンサー) は、ただ 1 種のみ存在しており、核にコードされている (Matsuzaki et al. 2004)。この CmHIK は、植物型のフィトクロムやシアノバクテリアで光応答に関わることが示されている同様のヒスチジンキナーゼ (シアノバクテリオクロム) が有している GAF ドメイン (光受容に関わる発色団を結合する) に低いながらも相同性を持つ領域を持っており、何らかの光受容体として光応答に関わる可能性が示唆されているが、その詳細については明らかにされておらず、今後の研究による解明が期待される。

以前から高等植物においても葉緑体の自律的な光応答系が存在し、光化学系 I と光化学系 II のバランスを維持するために機能することが示されていたが (Pfannschmidt et al. 1999, Allen 2005), この制御に CSK (Chloroplast Sensor Kinase) と呼ばれるタンパク質が関わることが最近になって明らかにされた (Puthiyaveetil et al. 2008, Puthiyaveetil et al. 2010, Allen et al. 2011)。CSK は、ヒスチジンキナーゼではないものの弱く保存された GAF ドメインを持っており、先に述べた CmHIK のオーソログであることが示唆されている。このことは、シアノバクテリアに由来する光応答系が共生後の葉緑体においても部分的に残されており、進化を超えて継承してきた可能性を示しており、たいへん興味深い。

6. 光応答系の進化

シアノバクテリアが共生する前の原始真核細胞では、光合成は行われていなかったと考えられ、それゆえ共生当初の光応答はシアノバクテリアが持ち込んだシステム、すなわち葉緑体を中心とするものであったと考えられる。進化の過程で、シアノバクテリア由来の多くの遺伝子は葉緑体ゲノムから失われたか、あるいは核に移行したとされているが、その過程で光応答に関わるコンポーネントの遺伝子も徐々に核に移行した、もしくは新しく構築されたものと考えられ、時間をかけて現在の植物型光応答系が形成されたと考えられる。

シゾンのゲノム上にはフィトクロム、クリプトクロム、フォトトロピンなど、典型的な植物型光受容体をコードしている遺伝子が見当たらないことが示されている (Matsuzaki et al. 2004, Nozaki et al. 2007)。核に光応答系が移行する途中の段階にシゾンが位置するのか、あるいは元々存在していた光応答系が極限環境に生息しているうちに失われてしまったのかは不明であるが、シゾンの多くの遺伝子発現が実際に光に応答することが示されている (Fujiwara et al. 2010) ため、シゾンが光に応答した何らかの遺伝子発現制御システムを有していることは確かである。上述のように、光受容に関わる可能性のある CmHIK は葉緑体に存在すると考えられ、シゾンにおいては葉緑体における光応答系が細胞全体の光制御に関与している可能性もあり、シゾン研究から (共生当初の) 植物の光応答戦略の原型の一端を知ることができるかもしれない。

葉緑体独自の応答に加え、光に依存した核による葉緑体遺伝子発現制御は植物において重要な役割を果たすことはすでに述べてきた。一方で、近年「プラスチドシグナル」と呼ばれる葉緑体由来のシグナルが、核の遺伝子発現を制御するメカニズムが報告されており (Fernández & Strand 2008, Kleine et al. 2009)，核と葉緑体間の双方向の情報伝達が重要であるとのモデルが提唱されている (Woodson & Chory 2008)。細胞内共生に際し、両ゲノムの遺伝子発現を協調させるためには、単に核側からの制御だけではなく、葉緑体の状態を反映してより効率的な調節を行う必要があったと考えられる。シゾンにおいて、そのような双方向シグナル伝達の基本機構が構築

されていたとするなら、光環境応答についても葉緑体で受容した光情報をプラスチドシグナルを介して核に伝達している可能性も考えられる。実際に、核ゲノムと葉緑体ゲノムの複製の協調において葉緑体由来のシグナル伝達が重要であることが示されている (Kobayashi et al. 2009, Kobayashi et al. 2011)。プラスチドシグナルを介したシゾンの遺伝子発現制御系については未だ明らかにされていない点が多いが、シロイヌナズナなど高等植物においては、核コードの光合成遺伝子の発現がプラスチドシグナルによって調節を受けることや、その情報伝達経路に関与するタンパク質が次々に明らかにされている。さらに、このようなシグナル伝達系は光合成器官のみならず、貯蔵組織などの非光合成色素体でもみられることが最近になって示されており (Enami et al. 2011)，シゾンのような原始的な植物細胞で構築された核と葉緑体間の双方向シグナル伝達システムは高等植物への進化の過程でより高度に複雑に発達したものと考えられる。

7. 今後の展望

以上、単細胞紅藻シゾンに特徴的な葉緑体の転写制御系を紹介し、細胞内共生により葉緑体が誕生してから現在の高等植物に至るまでの光応答系の進化について考察した。光応答系に限らず、様々なバクテリア型のシステムが次第に核に移行していくにつれて、従来は共生体が担っていた環境応答系、遺伝子発現系は徐々に失われていったものと考えられる。それでも CSK のように高等植物の葉緑体においても自律的な光環境応答の一部は残されており、メインとなる核による制御、葉緑体によるプラスチドシグナルを介した制御とともに、植物細胞全体の光応答系を形成しているものと予想される。今後もひとつの制御様式に限定することなく、多面的な視点から光応答戦略の全体像を理解していくことが重要である。

一方、先にも述べた通り、シゾンは一種の極限環境生物であり、その環境で生きていくための必要最小限にまで遺伝子セットを落としている可能性があり、ある種の特徴的な光応答機構のみを残している可能性がある。したがって、紅色植物の光応答の一般像を知るために、また光応答戦略のより詳細な進化を知るために、さらに多くの紅色植物を対象として同様なアプローチによる研究が必要であると考えられる。そのためには、さらに多くの紅色植物のゲノム情報を得ることがやはり重要であり、それによる光応答系の基本機構やその進化の解明が期待される。

引用文献

- Allen, J.F. 2005. Photosynthesis: the processing of redox signals in chloroplasts. *Curr. Biol.* 15: R929-932.
- Allen, J.F., Santabarbara, S., Allen, C.A., & Puthiyaveetil, S. 2011. Discrete redox signaling pathways regulate photosynthetic light-harvesting and chloroplast gene transcription. *PLoS One* 6: e26372.
- Ashby, M.K., Houmard, J., & Mullineaux, C.W. 2002. The *ycf27* genes from cyanobacteria and eukaryotic algae: distribution and implications for chloroplast evolution. *FEMS Microbiol. Lett.* 214: 25-30.
- Ashby, M.K., & Mullineaux C.W. 1999. Cyanobacterial *ycf27* gene products regulate energy transfer from phycobilisomes to photosystems I and II. *FEMS Microbiol. Lett.* 181: 253-260.
- Enami, K., Ozawa, T., Motohashi, N., Nakamura, M., Tanaka K., & Hanaoka, M. 2011. Plastid-to-nucleus retrograde signals are essential for expression of nuclear starch biosynthesis genes during amyloplast differentiation in tobacco BY-2 cultured cells. *Plant Physiol.* 157: 518-530.

- Fernández, A.P., & Strand, A. 2008. Retrograde signaling and plant stress: plastid signals initiate cellular stress responses. *Curr. Opin. Plant Biol.* 11: 509-513.
- Fujiwara, T., Kuroiwa, H., Yagisawa, F., Ohnuma, M., Yoshida, Y., Yoshida, M., Nishida, K., Misumi, O., Watanabe, S., Tanaka, K., & Kuroiwa, T. 2010. The coiled-coil protein VIG1 is essential for tethering vacuoles to mitochondria in vacuole inheritance of *Cyanidioschyzon merolae*. *Plant Cell* 22: 772-781.
- Glöckner, G., Rosenthal, A., & Valentin, K. 2000. The structure and gene repertoire of an ancient red algal plastid genome. *J. Mol. Evol.* 51: 382-390.
- Goldschmidt-Clermont, M. 1998. Coordination of nuclear and chloroplast gene expression in plant cells. *Int. Rev. Cytol.* 177: 115-180.
- Hanaoka, M., Kanamaru, K., Takahashi, H., & Tanaka, K. (2003) Molecular genetic analysis of chloroplast gene promoters dependent on SIG2, a nucleus-encoded sigma factor for the plastid-encoded RNA polymerase, in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res.* 31: 7090-7098.
- Hanaoka, M., Kawakami, T., & Tanaka, K. 2010. Chloroplast isolation and run-on transcription assay in *Cyanidioschyzon merolae*. *Endocytobiosis Cell Res.* 20: 45-52.
- Hanaoka, M., & Tanaka, K. 2008. Dynamics of RpaB-promoter interaction during high light stress, revealed by chromatin immunoprecipitation (ChIP) analysis in *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *Plant J.* 56: 327-335.
- Imamura, S., Terashita, M., Ohnuma, M., Maruyama, S., Minoda, A., Weber, A.P., Inouye, T., Sekine, Y., Fujita, Y., Omata, T., & Tanaka, K. 2010. Nitrate assimilatory genes and their transcriptional regulation in a unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*: genetic evidence for nitrite reduction by a sulfite reductase-like enzyme. *Plant Cell Physiol.* 51: 707-717.
- Ishizaki, Y., Tsunoyama, Y., Hatano, K., Ando, K., Kato, K., Shinmyo, A., Kobori, M., Takeba, G., Nakahira, Y., & Shiina, T. 2005. A nuclear-encoded sigma factor, *Arabidopsis* SIG6, recognizes sigma-70 type chloroplast promoters and regulates early chloroplast development in cotyledons. *Plant J.* 42: 133-144.
- Kanamaru, K., Nagashima, A., Fujiwara, M., Shimada, H., Shirano, Y., Nakabayashi, K., Shibata, D., Tanaka, K., & Takahashi, H. 2001. An *Arabidopsis* sigma factor (SIG2)-dependent expression of plastid-encoded tRNAs in chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 42: 1034-1043.
- Kappel, A.D., & van Waasbergen, L.G. 2007. The response regulator RpaB binds the high light regulatory 1 sequence upstream of the high-light-inducible *hlb* gene from the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Arch. Microbiol.* 187: 337-342.
- Kleine, T., Voigt, C., & Leister, D. 2009. Plastid signalling to the nucleus: messengers still lost in the mists? *Trends Genet.* 25: 185-92.
- Kobayashi, Y., Imamura, S., Hanaoka, M., & Tanaka, K. 2011. A tetrapyrrole-regulated ubiquitin ligase controls algal nuclear DNA replication. *Nat. Cell Biol.* 13: 483-487.
- Kobayashi, Y., Kanesaki, Y., Tanaka, A., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T., & Tanaka, K. 2009. Tetrapyrrole signal as a cell cycle coordinator from organelle to nuclear DNA replication in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 803-807.
- Kuroiwa, T. 2000. The discovery of the division apparatus of plastids and mitochondria. *J. Electron Microsc.*

- 49: 123-134.
- Leister, D. 2003. Chloroplast research in the genomic age. *Trends Genet.* 19: 47-56.
- Matsuzaki, M. et al. 2004. Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Nature* 428: 653-657.
- Minoda, A., Nagasawa, K., Hanaoka, M., Horiuchi, M., Takahashi, H., & Tanaka, K. 2005. Microarray profiling of plastid gene expression in a unicellular red alga, *Cyanidioschyzon merolae*. *Plant Mol. Biol.* 59: 375-385.
- Minoda, A., Weber, A.P., Tanaka, K., & Miyagishima, S.Y. 2010. Nucleus-independent control of the rubisco operon by the plastid-encoded transcription factor Ycf30 in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Plant Physiol.* 154: 1532-40.
- Misumi, O., Matsuzaki, M., Nozaki, H., Miyagishima, S., Mori, T., Nishida, K., Yagisawa, F., Yoshida, Y., Kuroiwa, H., & Kuroiwa, T. 2005. *Cyanidioschyzon merolae* genome. A tool for facilitating comparable studies on organelle biogenesis in photosynthetic eukaryotes. *Plant Physiol.* 137: 567-585.
- Nozaki, H., Takano, H., Misumi, O., Terasawa, K., Matsuzaki, M., Maruyama, S., Nishida, K., Yagisawa, F., Yoshida, Y., Fujiwara, T., Takio, S., Tamura, K., Chung, S.J., Nakamura, S., Kuroiwa, H., Tanaka, K., Sato, N., & Kuroiwa T. 2007. A 100%-complete sequence reveals unusually simple genomic features in the hot-spring red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *BMC Biol.* 5: 28.
- Ohnuma, M., Misumi, O., Fujiwara, T., Watanabe, S., Tanaka, K., & Kuroiwa T. 2009. Transient gene suppression in a red alga, *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Protoplasma* 236: 107-112.
- Ohnuma, M., Yokoyama, T., Inouye, T., Sekine, Y., & Tanaka K. 2008. Polyethylene glycol (PEG)-mediated transient gene expression in a red alga, *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Plant Cell Physiol.* 49: 117-120.
- Ohta, N., Matsuzaki, M., Misumi, O., Miyagishima, S.Y., Nozaki, H., Tanaka, K., Shin-I, T., Kohara, Y., & Kuroiwa, T. 2003. Complete sequence and analysis of the plastid genome of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *DNA Res.* 10: 67-77.
- Ohta, N., Sato, N., & Kuroiwa, T. 1998. Structure and organization of the mitochondrial genome of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* deduced from the complete nucleotide sequence. *Nucleic Acids Res.* 26: 5190-5198.
- Pfannschmidt, T., Nilsson, A., & Allen, J.F. 1999. Photosynthetic control of chloroplast gene expression. *Nature* 397: 625-628.
- Puthiyaveetil, S., Ibrahim, I.M., Jelicić, B., Tomasić, A., Fulgosi, H., & Allen, J.F. 2010. Transcriptional control of photosynthesis genes: the evolutionarily conserved regulatory mechanism in plastid genome function. *Genome Biol. Evol.* 2: 888-896.
- Puthiyaveetil, S., Kavanagh, T.A., Cain, P., Sullivan, J.A., Newell, C.A., Gray, J.C., Robinson, C., van der Giezen, M., Rogers, M.B., & Allen. J.F. 2008. The ancestral symbiont sensor kinase CSK links photosynthesis with gene expression in chloroplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 10061-10066.
- Reith, M., & Munholland, J. 1995. Complete nucleotide sequence of the *Porphyra purpurea* chloroplast genome. *Plant Mol. Biol. Rep.* 13: 333-335.
- Seki, A., Hanaoka, M., Akimoto, Y., Masuda, S., Iwasaki, H., & Tanaka, K. 2007. Induction of a group 2

- sigma factor, RPOD3, by high light and the underlying mechanism in *Synechococcus elongatus* PCC7942. *J. Biol. Chem.* 282: 36887-36894.
- Takai, N., Nakajima, M., Oyama, T., Kito, R., Sugita, C., Sugita, M., Kondo, T., & Iwasaki, H. 2006. A KaiC-associating SasA-RpaA two-component regulatory system as a major circadian timing mediator in cyanobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 12109-12114.
- Woodson, J.D., & Chory, J. 2008. Coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes. *Nat. Rev. Genet.* 9: 383-395.

黄色植物フシナシミドロの光応答戦略

-転写因子として働く青色光受容体オーレオクロム-

石川 美恵¹, 高橋 文雄^{1,2}

1. 東北大学大学院 生命科学研究科
〒980-8577 宮城県仙台市青葉区片平2-1-1

2. 科学技術振興機構 さきがけ
〒332-0012 埼玉県川口市本町4-1-8

Light-responsive strategy in stramenopile alga, *Vaucheria*
-Blue-light receptor, AUREOCHROME, act as a transcription factor-

Key words: Aureochrome; Blue-light receptor; Stramenopiles; transcription factor; *Vaucheria*

Mié Ishikawa¹ & Fumio Takahashi^{1,2}

1. Graduate School of Life Sciences, Tohoku University
2-1-1, Katahira, Aoba-Ku, Sendai, Miyagi 980-8577, Japan
2. PRESTO, Japan Science and Technology Agency
4-1-8, Honcho, Kawaguchi, Saitama 332-0012, Japan

筆者らの研究グループは、黄色植物フシナシミドロ (*Vaucheria*) から転写因子である bZIP ドメインと LOV ドメインを持つ青色光受容体オーレオクロム (Aureochrome) を発見した。本総説では、オーレオクロムの機能とその系統関係について紹介する。

1. はじめに-青色光応答反応と青色光受容体の発見-

植物にとって、光は光合成を行いエネルギーを獲得するためだけではなく、運動、発生、生殖といった生命活動をコントロールする信号（情報）として必須である。植物の光応答反応の有効波長は、赤色光・遠赤色光と青色光であり、種子発芽の調節や胚軸成長の抑制は赤色光・遠赤色光反応である。また、植物が光の方向に向かって屈曲する光屈性、弱い光または強い光で細胞内の葉緑体が光に向かって集合/逃避する葉緑体光定位運動、気孔の開口などは代表的な青色光反応である。

赤色光・遠赤色光反応の受容体は、1959年、トウモロコシの黄化芽生えから抽出され (Butler *et al.* 1959)，フィトクロム (Phytochrome) と名付けられた。フィトクロムの発見から、赤色

光・遠赤色光反応はより詳細な研究がされている（長谷 2001）。一方で、青色光応答反応の光受容体の実体は不明のまま、生理学的、細胞学的、生化学的な解析が続けられてきた（飯野 2001）。1993年に、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) 突然変異体の解析から最初の青色光受容体クリプトクロム（Cryptochrome）が発見され（Ahmad and Cashmore 1993），その後1990年代後半には光屈性の青色光受容体としてフォトトロピン（Phototropin）が同定された（Huala *et al.* 1997, Christie *et al.* 1998）。フォトトロピンは光受容ドメインである二つの LOV (Light-Oxygen-Voltage) ドメインと C 末端側のセリン/スレオニンキナーゼからなり、光屈性だけではなく葉緑体光定位運動や気孔の開口、葉の展開などへの関与がその後明らかになった（Kagawa *et al.* 2001, Kinoshita *et al.* 2001, Sakamoto and Briggs 2002）。1990年代の青色光受容体の発見によって、青色光反応の研究は、それまでの生理学的、細胞学的な解析から分子生物学的な解析へと進展した。フォトトロピンの光受容ドメインである LOV ドメインは、chromophore としてフラビンモノヌクレオチド（FMN）を結合し、青色光を受容する。LOV ドメインは、菌類やバクテリアの青色光受容体にもみられ、真核生物から原核生物まで広く存在していることが明らかになっている（Crosson *et al.* 2003）。生命は海中で誕生し、長い時間をかけて多様化し、陸上に進出してきた。青-緑の波長域の光しか届かない海中で誕生した生命が、青色光受容システムを発達させてきたことは当然の成り行きかもしれない。

2. フシナシミドロの青色光受容体オーレオクロム

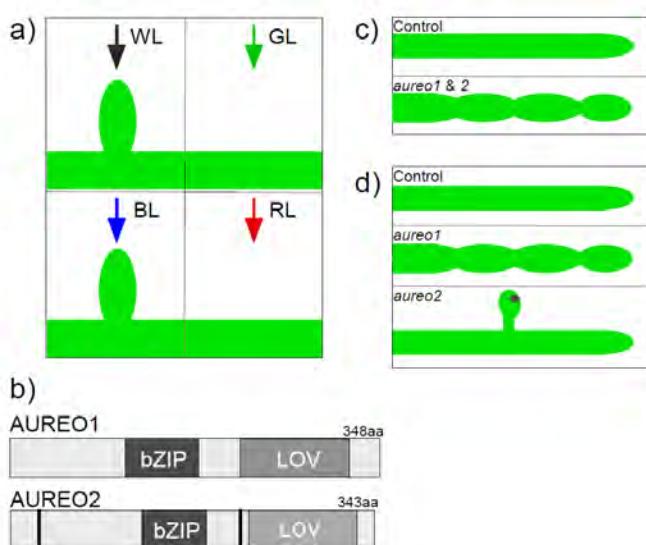


図 1. フシナシミドロオーレオクロム

a) フシナシミドロ青色光形態形成反応。WL, BL 照射で枝を形成。GL, RL では枝は形成されない。b) オーレオクロムの構造。AUREO2 は 2か所のイントロン（黒線）がある。c) RNAi 実験 1. AUREO1,2 とともにノックダウン。d) RNAi 実験 2. AUREO1,2 をそれぞれノックダウン, aureo2 では有性生殖器官が発達。

Takahashi *et al.* 2001)。

私たちは、シロイヌナズナのフォトトロピン発見をきっかけとして、フシナシミドロでの

フシナシミドロは黄色植物門黄緑色藻綱に属する藻類であり、自然界では湖沼、沿岸から河口域、湿った土壌にまでひろく生息している。管状の多核細胞であり、その細胞から分枝が起こり、活発に先端成長しまくつ状に生育する。

フシナシミドロが、陸上植物同様の光屈性、葉緑体光定位運動を示すことは 100 年以上前に既に記載されていた（Oltmanns 1892, Senn 1908）。1975 年には、Kataoka がフシナシミドロの細胞に青色光を照射すると、照射域からの分枝が誘導できることを明らかにし（図 1a, Kataoka 1975），その後もフシナシミドロの青色光反応の生理学的解析は続けられてきた（Blatt and Briggs 1980,

光受容体探索を始めた。果たして、フシナシミドロの青色光応答反応もフォトトロピンによって制御されているのだろうか？それとも他の光受容体が制御しているのか？まずは、フォトトロピンの LOV ドメインをもとに、フシナシミドロから LOV ドメインの単離を試みた。フシナシミドロからフォトトロピンは見つからなかったが、それまでの光受容体とは全く異なる構造の青色光受容体を発見した（図 1b, Takahashi *et al.* 2007）。この光受容体は N 末端側に転写因子である bZIP ドメイン、C 末端側に LOV ドメインを持つ新しいタイプの光受容体であり、ラテン語の *aureus*（金、金色の）からオーレオクロム（Aureochrome）と名付けた。2 つのフシナシミドロオーレオクロム（オーレオクロム 1, 2）は、フシナシミドロ細胞内で二量体を形成し、青色光を受容することで特定の遺伝子発現を制御すると考えられる。

フシナシミドロオーレオクロムを RNAi 処理しノックダウンさせると、フシナシミドロの形態に異常が見られ、青色光を照射しても枝の形成は起こらなかった（図 1c）。ところが、オーレオクロム 2 のみをノックダウンすると、有性生殖器官が形成された（図 1d）。これは、正常な細胞では、オーレオクロム 2 が枝原基から有性生殖器官への分化を抑制していることを示しているのかもしれない。この実験から、オーレオクロムが青色光形態形成反応の光受容体であることが明らかになった。

フシナシミドロではオーレオクロムの機能が明らかになったが、陸上植物での青色光受容体研究が飛躍的に進展しているのに比べ、黄色植物での研究はフシナシミドロでの解析があるのみである。私たちは、フシナシミドロを含む黄色植物には青色光応答反応を持つものが数多くあること、陸上植物を含む緑色植物とは全く異なる進化過程を持つことに注目し、黄色植物およびその近縁生物でのオーレオクロムの単離を試みた。

3. オーレオクロムは黄色植物のみが保持する

黄色植物とは聞き慣れない名前であるが、我々日本人には非常になじみが深い。海藻のコ

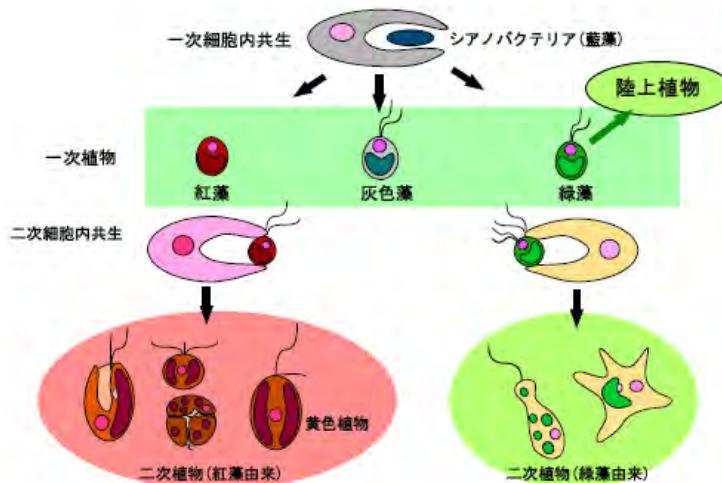


図 2. 一次植物と二次植物

不等長な 2 本の鞭毛を持ち、この遊泳細胞の長い鞭毛（前鞭毛）に管状の鞭毛小毛がみられる。高校の教科書では植物とは光合成を行う（葉緑体を持つ）生物と述べており、生物の分類は、モネラ界、原生生物界、植物界、動物界、菌界の五つである（五界説）。電子顕微鏡に

M. Ishikawa & F. Takahashi- 3

ンブやワカメから植物プランクトンと呼ばれる単細胞のケイ藻類まで、非常に多様な生物が含まれる。水圏の一次生産者として繁栄しており、地球上の炭素循環にも多大な影響を持つ。黄色植物は光合成を行うが、近縁な葉緑体を持たず光合成を行わない仲間も含めストラメノパイル（Stramenopiles: Stramenen = 麦わら, pilus = 毛）と呼ばれる。ストラメノパイルの遊泳細胞は、

よる微細構造の解析や分子生物学の発達にともない、現在の植物は緑色植物、紅色植物（紅藻）、灰色植物（灰色藻）の三系統のみをさすことが多い。これら三系統は全てシアノバクテリア（ラン藻）由来の葉緑体を持っている点で共通している（一次植物）。一方、コンブ、ワカメなどの黄色植物は、従属栄養性の真核生物が、一次植物である紅藻を細胞内に共生させることで、二次的に光合成能力を獲得した生物である（二次植物）。同様の二次植物には、クリプト植物やハプト植物があり、ミドリムシは緑藻起源の葉緑体を持つ二次植物である（図2）。このような進化的背景を踏まえ、私たちは、オーレオクロムがフシナシミドロだけではなく、ストラメノパイル、さらには他の紅藻由来の二次植物にも共通の光受容体ではないかと考え、オーレオクロムオルソログの探索を行った。LOV 縮重プライマーを用いた RT-PCR と RACE 法、公開されているゲノム情報を元に BLAST 検索を行い、ストラメノパイルの主要な 6 級（光合成型 5 級、非光合成型 1 級）と近縁生物でのオーレオクロムの有無を明らかにした（表1）。オーレオクロムは、ストラメノパイルのうち光合成を行う藻類、すなわち黄色植物のみから見つかった。ストラメノパイルのうち光合成を行わないミズカビ（*Saprolegnia*）や *Phytophthora* からは検出できず、ハプト植物やクリプト植物、そしてこれらの生物の葉緑体の起源である紅藻シアニディオシゾン（*Cyanidioschyzon*）ゲノムからもオーレオクロムは見つからなかった。これらの単離したオーレオクロムは、bZIP ドメイン、LOV ドメインと共に良好に保存されていた。転写因子である bZIP ドメインでは、

ストラメノパイル	オーレオクロムの有無
光合成を行う（黄色植物）	
黄緑色藻 <i>Vaucheria f. rigida</i>	あり
褐藻 <i>Fucus distichus ssp. evanescens</i>	あり
ケイ藻 <i>Thalassiosira pseudonana</i>	あり (BLAST)
ラフィド藻 <i>Paheodactylum tricornutum</i>	あり (BLAST)
ペラゴ藻 <i>Chattonella antiqua</i>	あり
光合成を行わない	
卵菌 <i>Saprolegnia f. erax</i>	未検出
<i>Phytophthora</i> 3種	なし (BLAST)
クリプト植物 <i>Cryptomonas tetrapterynoidosa</i>	未検出
ハプト植物 <i>Prymnesium parvum</i>	未検出 (LOVのみあり)
紅色植物 <i>Cyanidioschyzon merolae</i>	なし (BLAST)

表 1. オーレオクロムの有無

塩基性アミノ酸に富む basic region とその中に含まれる DNA 結合領域、ロイシンジッパーを構成する 7 アミノ酸ごとに含まれるロイシンが良好に保存されていた。LOV ドメインでも、光受容機能に必要な FMN との結合に関与する 11 個のアミノ酸に重大な置換はほとんど見られず、良好に保存されていた。おそらく新しく単離されたオーレオクロムも二量体を形成し、青色光を受容すると考えられる。

このことから、オーレオクロムは黄色植物、つまり光合成を行うストラメノパイルに共通の光受容体だと言える（Ishikawa *et al.* 2009）。しかし、この光受容体がどのように成立したのかはまだ謎である。

4. LOV 光受容体は独立に進化

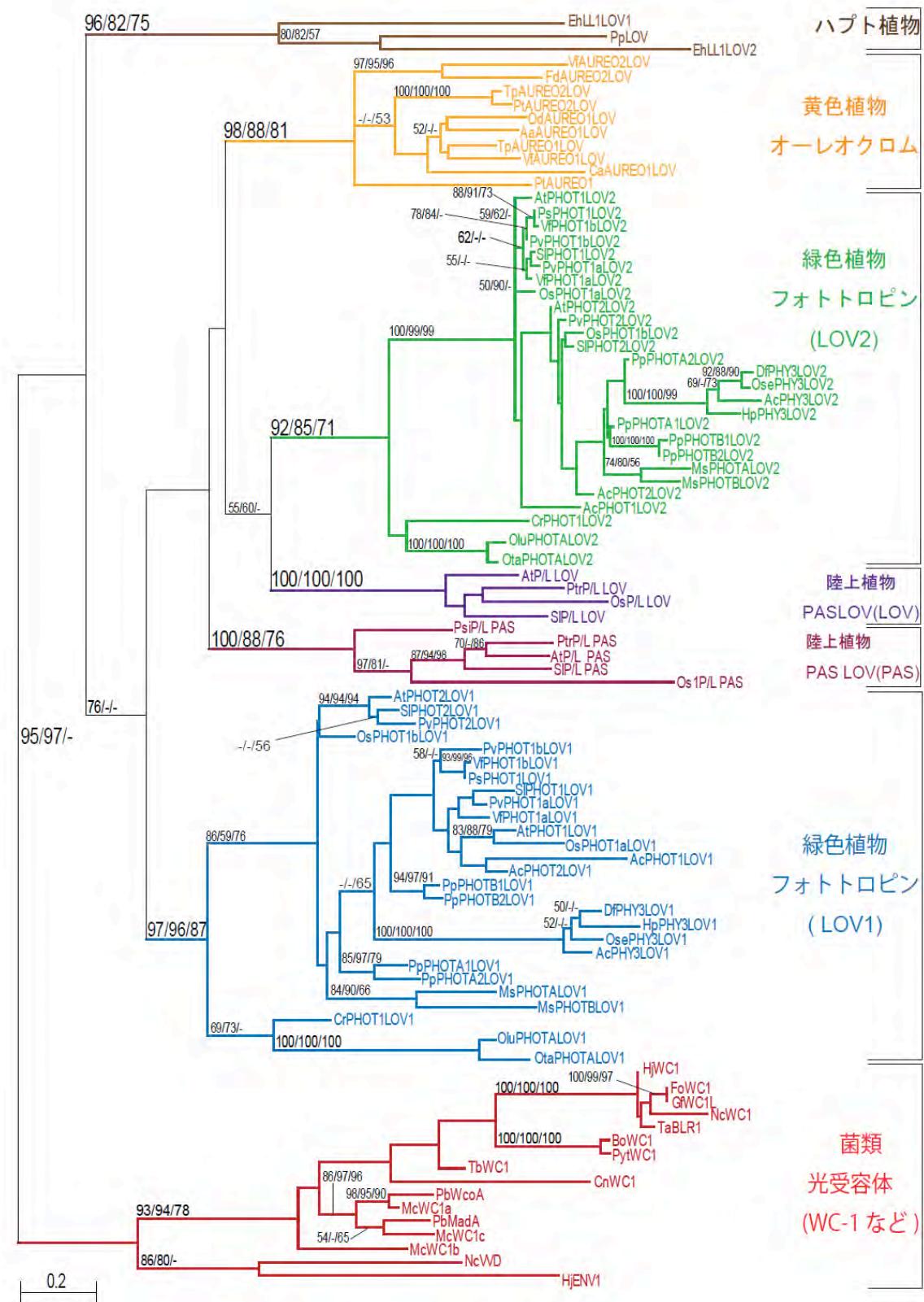


図 3. LOV ドメインを用いた最尤法系統樹

黄色植物 10 OTU, 緑色植物 63 OTU, ハプト植物 3 OTU, 外群は菌類(16 OTU)を用いた。ブートストラップ値は 1000 回反復, 50%以上の値のみを ML/NJ/MP の順に示す。(Ishikawa *et al.* 2009 改変)

M. Ishikawa & F. Takahashi- 5

LOV ドメインは系統にまたがって保持されている。どのように LOV ドメインは進化してきたのか? 菌類の WC-1, 緑色植物のフォトトロピンと機能未知の PASLOV ドメイン (LLP. Kasahara *et al.* 2010) , 黄色植物のオーレオクロム, およびハプト植物の LOV ドメインの計 6 つを用い, 系統解析を行った。解析方法は, 最尤法 (ML), 近隣結合法 (NJ), 最節約法 (MP) の 3 つの方法で行い, 図 3 に ML で構築した系統樹を示す。6 つの異なる LOV ドメインはそれぞれ単独でクレードを形成しており, それぞれの枝の分岐は高い信頼度 (ML では全て 85% 以上) で支持された。つまり, LOV ドメインをもつ光受容体は, かなり早い段階でそれぞれ独立に進化してきたと考えられる。

それぞれの LOV クレードの分岐順序については今回の解析では明らかにならなかったが, オーレオクロム LOV クレードは, フォトトロピンの LOV2 クレードと隣り合う位置に現れた点が興味深い。アミノ酸配列の比較でも, オーレオクロムの LOV ドメインはフォトトロピンの LOV1 と LOV2 のうち LOV2 により配列が似ており, 11 個のアミノ酸比較でも, オーレオクロム LOV はフォトトロピン LOV2 に近かった (Ishikawa *et al.* 2009)。シロイヌナズナやホウライシダ (*Adiantum capillus-veneris*) では, フォトトロピン LOV1 ドメインを削り LOV2 ドメインのみにした場合も, 光受容体として機能することが報告されている (Christie *et al.* 2002, Kagawa *et al.* 2004)。未知の祖先型 LOV ドメインは, 現在のフォトトロピンの LOV2 ドメインやオーレオクロムの LOV ドメインに非常に似ていたのではないかと推測している。

5. 今後の展開

オーレオクロムが黄色植物の光受容体であることが明らかになったが, それが各々の生物でどのように機能しているのかは未解明であり, 今後の重要な研究課題である。黄色植物では, *Fucus* の青色光による受精卵の極性誘導反応が最も歴史が古く, 詳細な生理学的, 細胞学的解析がなされているが, その光受容体の実体が何であるかは不明のままである (Kropf 1992)。単離されたオーレオクロムは, フォトトロピンやフシナシミドロオーレオクロムとの配列比較から, 光受容能をもつ, すなわち光受容体として機能できると推定している。*Ochromonas* のオーレオクロム LOV ドメインの光受容能や bZIP ドメインが結合する *cis* 配列を決定している。オーレオクロムの解析を通して, *Fucus* の極性誘導反応を始めとした黄色植物の青色光応答反応への理解がさらに深まる期待している。

6. 参考文献

- Ahmad, M., & Cashmore, A.R. 1993. HY4 gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. *Nature* 366:162-166.
- Blatt, M.R., & Briggs, W.R. 1980. Blue-Light-induced cortical fiber reticulation concomitant with chloroplast aggregation in the alga *Vaucheria sessilis*. *Planta* 147:355-362.
- Butler, W.L., Norris, K.H., Siegelman, H.W., & Hendricks, S.B. 1959. Detection, assay, and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 45:1703-1708.
- Christie, J.M., Reymond, P., Powell, G.K., Bernasconi, P., Raibekas, A.A., Liscum, E., & Briggs, W.

- R. 1998. *Arabidopsis* NPH1: A flavoprotein with the properties of a photoreceptor for phototropism. *Science* 282:1698-1701
- Christie, J.M., Swartz, T.E., Bogomolni R.A., & Briggs, W.R. 2002. Phototropin LOV domains exhibit distinct roles in regulating photoreceptor function. *Plant J.* 32:205-219
- Crosson, S., Rajagopal, S., & Moffat, K. 2003. The LOV domain family: photoresponsive signaling modules coupled to diverse output domains. *Biochemistry* 42:2-10
- Huala, E., Oeller, P.W., Liscum, E., Han, I., Larsen, E., & Briggs, W.R. 1997. *Arabidopsis* NPH1: A protein kinase with a putative redox-sensing domain. *Science* 278: 2120-2123
- 飯野 盛利 2001. 青色光受容体研究のたどってきた道. 和田正三・徳富哲・長谷あきら・長谷部光泰 (監修) 植物の光センシング. pp.88-98. 秀潤社. 東京.
- Ishikawa, M., Takahashi, F., Nozaki, H., Nagasato, C., Motomura, T., & Kataoka, H. 2009. Distribution and phylogeny of the blue-light receptors aureochromes in eukaryotes. *Planta* 230:543-552
- 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
- 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
- Kasahara, M., Torii, M., Fujita, A., & Tainaka. K. 2010. FMN ninding and photochemical properties of plant putative photoreceptors containing two LOV domains, LOV/LOV proteins. *J. Biol. Chem.* 285: 34765-34772
- Kataoka, H. 1975. Phototropism in *Vaucheria geminata* II. The mechanism of bending and branching. *Plant Cell Physiol.* 16:439-448
- Kinoshita, T., Doi, M., Suetsugu, N., Kagawa, T., Wada, M., & Shimazaki, K. 2001. phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening. *Nature* 414:656-660
- Kropf, D.L. 1992. Establishment and expression of cellular polarity in fucoid zygotes. *Microbiol. Mol. Biol.* 56: 316-339
- 長谷 あきら 2001. フイトクロム研究のたどってきた道. 和田正三・徳富哲・長谷あきら・長谷部光泰 (監修) 植物の光センシング. pp.34-35. 秀潤社. 東京.
- Oltmanns, F. 1892. Über die photometrischen Bewegungen der Pflanzen. *Flora* 75:183-266
- Senn, G. 1908. Die Gestalts- und Lageveränderung der Pflanzen-Chromatophoren. Wilhelm-Engelmann, Leipzig
- Sakamoto, K., & Briggs, W.R. 2002. Cellular and subcellular localization of phototropin 1. *Plant Cell*. 14:1723-1735
- Takahashi, F., Hishinuma, T., & Kataoka, H. 2001. blue light -induced branching in *Vaucheria*. Requirement of nuclear accumulation in the irradiated region. *Plant Cell Physiol.* 42: 274-285
- Takahashi, F., Yamagata, D., Ishikawa, M., Fukamatsu, Y., Ogura, Y., Kasahara, M., Kiyosue, T.,

Kikuyama, M., Wada, M., & Kataoka, H. 2007. AUREOCHROME, a photoreceptor required for photomorphogenesis in stramenopiles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. A.* 104:19625-19630

褐藻の光応答戦略 -光形態形成-

吉川伸哉

福井県立大学海洋生物資源学部海洋生物資源学科

〒917-0003 福井県小浜市学園町 1-1

Photomorphogenesis in brown alga

Key words: blue light, genome, Phaeophyceae, Photomorphogenesis, photoreceptor

Shinya Yoshikawa

Department of Marine bioscience, Fukui Prefectural University

1-1 Gakuencho, Obama, Fukui, 917-0003, JAPAN

1. はじめに

褐藻類はコンブやワカメ、ヒジキ等に代表される食用として馴染み深い種を多く含む分類群であり、系統分類学的には珪藻類や黄金色藻類、ラフィド藻類などから構成されているストラメノパイル生物群に含まれる。褐藻類はほとんどが単細胞生物からなるストラメノパイル生物群の中において、最も複雑な体制を持った分類群でありヒバマタ目ホンダワラ科の種は（図1A）被子植物の葉や枝によく似た器官分化が見られる。陸上で繁栄した光合成生物である被子植物は、光環境を様々な光受容体を介して感受することにより自身の形態を制御することは周知の事実であり、光受容から形態形成に至る一連の信号伝達経路が明らかに成りつつある。陸上とは光環境が異なる水中に成育するストラメノパイル生物群の褐藻類が独自に獲得した光形態形成機構は、光合成生物の形態形成における光応答戦略の観点から興味深い問題であるが、褐藻類の光形態形成の研究はこれまで現象論の記載に留まり、光受容や光形態形成に関する分子（光受容体）の実体にまで踏み込んだ研究はほとんど無かった。

2007 年に褐藻類と近縁である黄緑藻類フシナシミドロ (*Vaucheria frigida*) で発見された新規の青色光受容体オーレオクロムの相同遺伝子が、褐藻類のヒバマタでも発見していることが報告され (Takahashi et al. 2007)，その後 2010 年に公開された褐藻のシオミドロ (*Ectocarpus siliculosus*) (図 1B) の全ゲノム配列の中にオーレオクロムを含む幾つかの既知の光受容体と



図 1 A アカモク (*Sargassum horneri*), B シオミドロ (*Ectocarpus siliculosus*) 写真提供
北海道大学 長里千香子博士

相同的な遺伝子が見出された (Mark et al. 2010)。シオミドロは形質転換の手法が確立されていないため、ゲノム中に見出された光受容体関連遺伝子の褐藻類における機能を明らかにする為には、褐藻類における遺伝子機能解析技術の発達を待たなければならないが、オーレオクロムの発見とシオミドロの全ゲノム解析によりもたらされた知見は、褐藻類の光応答に関わる分子機構の解明の大きな手がかりとなることは明らかである。本稿では、これまでに報告されているいくつかの褐藻類の光形態形成反応を紹介すると共に、シオミドロのゲノム配列中に見出された光受容体関連遺伝子との関連性について言及する。

2. 褐藻類の光受容体関連遺伝子

これまでに報告されている褐藻類の光応答反応は、光屈性や茎の伸長、光周性による配偶子形成の制御、葉緑体運動等の被子植物でも類似した応答が見られる反応から、藻類特有の接合子の細胞極性の誘導や卵の放出、遊泳細胞の走光性にまで多岐に渡っている (表 1)。過去の報告の中には、極端に強い光条件が用いられている実験条件の問題等で、結果の再検証が必要と思われる報告も幾つか含まれてはいるが、多くの褐藻類の種が光環境を感受して自身の発生や分化を制御していることは間違いないであろう。

表 1 褐藻類の光応答反応

種名 (和名)	反応	光質	文献
<i>Fucus inflatus</i>	極性誘導	青	Hurd 1920
<i>Fucus serratus</i> (ヒバマタ)	極性誘導	青・緑	Bentrup, F. W. 1963
<i>Silvetia compressa</i> (エジエシゲ)	配偶子(卵)の放出	青・緑	Pearson et al. 2004
<i>Ascophyllum nodosum</i>	配偶子形成 光周性: 短日反応	青・赤	Terry & Moss 1980
<i>Sargassum muticum</i> (タマハハキモク)	茎の伸長 光周性: 短日反応	ND	Hwang & Dring 2002
<i>Laminaria saccharina</i>	配偶子(卵)形成	青	Lüning & Dring 1975
(カラフトネコアシコンブ)	配偶子(卵)の放出	青	Lüning 1981
	胞子囊形成 光周性: 短日反応	ND	Lüning 1988
	葉緑体運動	ND	Nultsch & Pfau 1979
<i>Undaria pinnatifida</i> (ワカメ)	胞子囊形成 光周性: 長日反応	ND	Pang & Luning 2004
<i>Alaria esculenta</i>	光屈性	青・緑	Buggeln 1974
<i>Nereocystis luetkeana</i>	茎の伸長	赤・遠赤	Duncan & Foreman 1980
<i>Dictyota dichotoma</i> (アミジグサ)	成長	青: 促進 赤: 抑制	Müller & Clauss 1975
	胞子囊形成	青: 抑制 赤: 促進	
	葉緑体運動	ND	Nultsch & Pfau 1979
<i>Scytoniphon lomentaria</i> (カヤモノリ)	直立管状葉の形成 光周性: 短日反応	青	Dring & Lüning 1975a
	褐藻毛の形成	青	Dring & Lüning 1975b
<i>Sphaerelaria rigidula</i> (クロガシラ)	配偶子形成 光周性: 長日反応	ND	Hoopen et al. 1983
<i>Ectocarpus siliculosus</i>	走光性	青	Kawai et al. 1990
(シオミドロ)	光合成活性	青	Hillrichs & Schmid 2001

ND:データ無し

Cock らの報告によるとシオミドロのゲノム中には光受容体関連遺伝子として既知の青色光受容体の相同遺伝子と赤色・遠赤色光受容体であるフィトクロム (phytochrome) の相同遺伝子が挙げられている (Cock et al. 2010)。青色光の受容に関わる遺伝子として、DNA 光回復酵素 (photolyase)・クリプトクロムファミリーであり、原核生物から緑藻類、渦鞭毛藻類、植物、動物まで多様な生物群で見られるクリプトクロム (cryptochrome: CRY) と CRY-DASH の相同遺伝子がそれぞれ 3 個と 2 個、ストラメノパイル生物群に特有の青色光受容体として報告されたオーレオクロムの相同遺伝子が 5 個見出されている。オーレオクロムはこれまでにストラメノパイル生物群に含まれる複数の生物群から相同遺伝子が検出されていたが、DNA 光回復酵素・クリプトクロムファミリーの相同遺伝子は、ストラメノパイル生物群以外の生物群では多数検出されているにも関わらず、ストラメノパイル生物群においてはシオミドロの

ゲノム中で見出されたのが初めての報告である。シオミドロや褐藻類におけるDNA光回復酵素・クリプトクロムファミリーの相同遺伝子の機能はまだ解明されていないが、研究が進んでいる被子植物や動物ではクリプトクロムは核内で遺伝子発現の制御に関わることが報告されている為（今泉・鐘々江 2001, Batschauer 2005），DNA光修復能の検証や細胞内の局在部位を明らかにすることが褐藻類における光回復酵素・クリプトクロムファミリーの相同遺伝子の機能解明につながると思われる。また、被子植物の光屈性や葉緑体運動に関与するフォトトロピン（phototropin）（笠原・加川 2001）や、ミドリムシ (*Euglena gracilis*) の光驚動反応の青色光受容体である光活性化アデニル酸シクラーゼ（photoactivated adenylyl cyclase）（Iseki et al. 2002），緑藻類クラミドモナスの走光性の受容体である古細菌型のロドプシン（rhodopsin）（Sineshchekov 2002）の相同遺伝子は検出されなかった。これらの運動反応には、他の光受容体の存在が示唆される。

3. 褐藻類の光形態形成

3-1. 青色光応答

3-1-1. 作用スペクトル

これまでの褐藻類で見られる光応答反応の中でも青色光による光形態形成は報告数が多く、その中でもヒバマタ (*Fucus serratus*) の極性誘導（Bentrup, F. W. 1963）やカヤモノリ (*Scytoniphon lomentaria*) の直立管状葉の形成（Dring & Lüning 1975a）と褐藻毛形成（Lüning & Dring 1975），カラフトネコアシコンブ (*Laminaria saccharina*) の雌性配偶体における卵形成の誘導（Dring & Lüning 1975b）や卵の放出抑制（Lüning 1981）における青色光の効果は、作用スペクトル（渡辺 1989）もしくは詳細な波長依存性の解析により得られた結果であるため褐藻類の光形態形成に関する研究報告の中でも信頼度の高い結果であると考えられる。

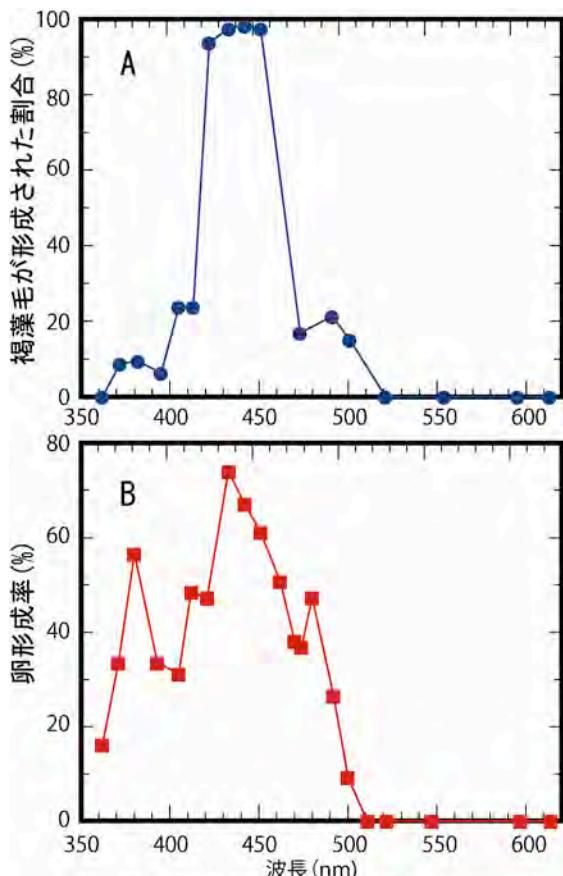


図2 褐藻類の形態形成の波長依存性
A カヤモノリ (*Scytoniphon lomentaria*) の褐藻毛形成
B カラフトネコアシコンブ (*Laminaria saccharina*) の卵形成 Lüning and Dring 1975a,bより改変

カヤモノリの褐藻毛形成とカラフトネコアシコンブの卵形成における波長依存性を比較すると、カヤモノリの褐藻毛形成は 445 nm に見られる反応のピークに対して UV-A 領域の 380 nm の効果は 10 分 1 程度であることに対して（図 2A），カラフトネコアシコンブの卵形成の促進では 430 nm の光で一番のピークが見られ、380 nm でも 2 番目の大きさのピークを示し、ピークの大きさも最大の 430 nm と比べても約 70% であった（図 2B）。カ

ヤモノリの褐藻毛形成とカラフトネコアシコンブ卵形成における波長依存性の違いは、青色光の受容に関係する補助色素の違いを反映した結果であることが示唆される。青色光領域に対して UV-A 領域の効果が低いカヤモノリの青色光反応はフラビンモノヌクレオチドを補酵素を持つオーレオクロムが関与し、青色光だけでなく UV-A 領域の光でも高い反応が得られるカラフトネコアシコンブの卵形成はフラビンアデニンジヌクレオチド (flavin adenine dinucleotide, FAD) と UV-A 領域に吸収帯を持つプロテリンを補酵素として持つクリプトクロムファミリーの青色光受容体が関与しているのかもしれない。

3-1-2. ヒバマタの極性誘導と青色光

褐藻類の光形態形成で最も有名な例の1つは、ヒバマタやエゾエシグ (*Silvetia compressa*) の接合子の発生過程における光による細胞極性軸の誘導機構であろう。ヒバマタ属の有性生殖は、動物と同様に運動性を持つ精子と運動性が無く大型な卵の受精によって起こる。受精後ヒバマタの接合子に一方向から光を照射すると、反光源側に仮根が形成される (Hurd 1920)。ヒバマタ接合子の受精から細胞極性の決定、仮根発芽、細胞質の不等分裂に至る一連の発生過程は、100 年以上前から多くの生理学・形態学的研究が行われてきたが (Kropf 1992, Brownlee 1998)，極性誘導に関わる光受容の機構はほとんど解っていない。

1920 年に Hurd がヒバマタ属の *Fucus inflatus* を用いて初めて極性誘導過程における単色光の効果を調べた実験では、青色光 (470 nm-520 nm) に加え緑色光 (520 nm-560 nm) も極性誘導に効果があると述べられていたが、1963 年に Bentrup がヒバマタを用いて示した極性誘導における作用スペクトルでは 500 nm 以上の波長では極性誘導の効果がほとんど見られないといため、現在は青色光受容体がヒバマタの極性誘導に関わっていると考えられている。

ヒバマタの接合子に対して、両側から同じ強さで、同じ面に振動する白色偏光を照射すると、仮根は主として偏光の振動面と平行に、2 本相対して生じることから、ヒバマタ接合子の光受容体は細胞膜に並んで存在していると考えられている (Jaffe 1956, 中沢 1982)。光受容体が膜に存在する可能性を考慮し、ロドプシン抗体を用いた実験によりヒバマタの細胞膜に 7 回膜貫通領域を持つロドプシンタンパク質が局在している可能性が示唆されたが (Paolo 2002), 前述の通り少なくともシオミドロのゲノム中には既知のロドプシンをコードすると推測される遺伝子は見つかっていない。シオミドロで見つかった青色光受容体関連遺伝子はいずれも膜貫通領域を持たない為、それらの遺伝子がヒバマタの極性誘導にも関与していると仮定すると、他の膜結合タンパク質を介して細胞膜に局在しているのかもしれない。今後、ヒバマタ接合子の細胞膜画分を用いたプロテオーム解析により、ヒバマタの光受容体に関する情報が得られることが期待される。

3-2. その他の光質による光形態形成

3-2-1. 赤色光

赤色・遠赤色光の受容体であり、被子植物の発芽や花芽形成、胚軸の伸長抑制に関与することが知れているフィトクロムの相同遺伝子がシオミドロのゲノム中に見られたことから、褐藻類が赤色・遠赤色光を利用できる可能性が示唆された。しかしながら、これまでの生理

学的研究では、褐藻類の形態形成や生理応答における赤色光作用は、青色光のものと比べて少なく、作用スペクトルや詳細な波長依存性が示された例は著者の知る限りではない(表1)。アミジグサの成長抑制と胞子囊形成における赤色光の効果は(Müller 1976), 複数の単色光を用いた実験から得られているため、褐藻類の光形態形成におけるフィトクロム相同遺伝子の働きを考える上で興味深い結果であるが、遠赤色光の効果は検証されていない。ワカメやコンブの仲間である *Nereocystis luetkeana* の胞子体における茎(stripe)の伸長を遠赤色光が促進し、赤色光の照射により遠赤色光の効果が打ち消される(赤色光・遠赤色光可逆反応)ことから、論文の著者らはフィトクロムが茎の伸長に関与する可能性を示唆している(Duncan and Foreman 1980)。しかし、同じ論文中で示されている実験結果においても赤色光と遠赤色光の効果は一定ではないため、*Nereocystis luetkeana* の結果だけを根拠に褐藻類におけるフィトクロム相同遺伝子の機能について考察することは早計に思える。褐藻類が持つフィトクロム相同遺伝子の機能を明らかにするためには、生理実験により褐藻類の赤色光・遠赤色光可逆反応を明らかにすることが重要である。

これまでフィトクロムによる赤色光・遠赤色光可逆反応の解明によく用いられてきた実験は、暗期に短時間の光を照射することによる光周性の影響をしらべる光中断実験である。多くの被子植物の花成が光周性により制御されているのと同様に、褐藻類における配偶子形成や胞子形成も光周性により制御されていることが報告されている(表1)。褐藻類の光中断の作用スペクトルはカヤモノリで明らかにされており、光中断に有効な光は青色光で、加えて青色光照射後に青色光とは異なる波長の光を照射しても青色光の効果は打ち消されないことが示されている(Dring and Lüning 1975)。しかしながら、カヤモノリ以外の種において、白色光による光中断の効果は示されていながら、光中断に有効な光質は調べられていないことも多く、またヒバマタ目の *Ascophyllum nodosum* では光中断に青色光と同様に赤色光も有効であることが報告されている(表1)。古典的ではあるが様々な種における光中断実験の波長依存性を調べることは、褐藻類におけるフィトクロムの機能の解明につながるかも知れない。

3-2-2. 緑色光

緑色光の受容体として知られている、ロドプシンやシアノバクテリオクロム(Ikeuchi & Ishizuka 2008)の相同遺伝子はシオミドロのゲノム中からは見出されなかった。しかし、褐藻類の緑色光応答反応については、幾つかの報告がある(表1)。緑色光の波長域は青色光と隣接している為、実験条件によっては青色光の作用である可能性も考えられるが、褐藻類のゲノム中に見られたクリプトクロムの補酵素である FAD の酸化段階の中間型であるセミキノン型 FAD は緑色光を吸収することが示されている為(Lin et al. 1995 今泉・鐘々江 2001)、褐藻類の緑色光応答反応はクリプトクロムが関与している可能性も考えられる。また、褐藻類に近縁で *Thalassiosira Pseudonana* (Armbrust et al. 2004), *Phaeodactylum tricornutum* (Bowler et al. 2008) の 2 種の全ゲノム配列が明らかになっている珪藻類では、既知の緑色光受容体に相同的な遺伝子やクリプトクロムの相同遺伝子が見つかっていないにも関わらず、波長依存性を調べた実験から葉緑体運動(Furukawa et al. 1998) や遺伝子発現の制御(Leblanc et al. 1999)における緑色光の効果が示されている。褐藻類や珪藻類を含むストラメノパイル生物

群は、独自の緑色光受容体を持っているのかも知れない。

4. 今後の展望

シオミドロのゲノムが解明されたことにより、これまで多様な種で行われてきた褐藻類の光応答反応の研究も今後はシオミドロを中心に展開されることが予測される。これまで報告されているシオミドロの光応答反応は、遊泳細胞の走光性 (Kawai et al. 1990) と青色光により細胞内の無機炭素の代謝が制御されることで生じると考えられている光合成活性の上昇であり (Hillrichs and Schmid 2001), 光形態形成に関する生理学的な報告は著者の知る限り無い。シオミドロは褐藻類の中でも単純な体制であるため、これまで積極的に形態形成における光の効果に着目した研究が行なわれてこなかった結果なのかも知れない。ゲノム解析により、シオミドロにおけるオーキシンの代謝経路が明らかになり、シオミドロにおけるオーキシンの機能が解析されたこと (Le Bail et al. 2010) と同様に、突然変異株等を用いてシオミドロ形態形成における光の役割が明らかになることが期待される。さらに、in vitro の発現系により解明される光受容関連遺伝子の生化学的な特性も褐藻類の光応答の理解に大きく貢献するであろう。

しかし、シオミドロは直列の糸状体の（図 1B）単純な体制であるため、シオミドロにおける光形態形成の解明が直ちに褐藻類で見られる多様な光形態形成の理解につながるとは考えられない。特にヒバマタの極性誘導や高度な器官分化が見られるホンダワラ類の形態形成については、シオミドロで得られた情報を利用しつつそれぞれの種や反応に適応した実験系を確立することが不可欠であろう。シオミドロの光応答戦略だけではなく、多様な形態的な進化を遂げたそれぞれの種に見られる形態形成の光応答戦略が理解された時に真の意味での褐藻類における光応答戦略の理解に至るのではないかと思われる。

引用文献

- Armbrust, E.V. et al. 2004. The Genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution, and metabolism. *Science* 306: 76-86.
- Batschauer A. 2005. Plant cryptochoromes: Their genes, biochemistry and physiological Roles. In: Brigs, W.R. & Spudich, J.L. (eds.) *Handbook of Photosensory of Receptors*. pp.211-242. WILEY-VCH, Weinheim.
- Bentrup, F.W. 1963. Vergleichende Untersuchungen zur Polaritätsinduktionlaritätsinduktion furch das Licht an der Equisetum-Spore und der Fucus-Zygote. *Planta* 59: 472-491.
- Bowler, C. et al. 2008. The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes. *Nature* 456: 239-244.
- Brownlee, C. & Bouget, F.Y. 1998. Polarity determination in *Fucus*: from zygote to multicellular embryo. *Semin. Cell Dev. Biol.* 9: 179-185.
- Buggeln, R.G. 1974. Negative phototropism of haptera of *Alaria esculenta* (laminariales). 10: 80-82.
- Cock J.M. et al. 2010. The *Ectocarpus* genome and the independent evolution of multicellularity in brown algae. *Nature* 465: 617-621.
- Dring, M.J. & Lüning, K. 1975a. A photoperiodic response mediated by blue light in the brown alga

- Scytoniphon lomentaria*. *Planta* 125: 25-32.
- Dring, M.J. & Lüning, K. 1975b. Induction of two-dimensional growth and hair formation by blue light in the brown alga *Scytoniphon lomentaria*. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.* 75: 107-117.
- Duncan M.J. & Foreman, R.E. 1980. Phytochrome-mediated stipule elongation in the Kelp *Nereocystis* (Phaeophyceae). 16: 138-142.
- Furukawa, T., Watanabe, M., & Ishikawa-Shihira, I. 1998. Green-and blue-light-mediated chloroplast migration in the centric diatom *Pleurostira laevis*. *Protoplasma* 203: 214-220.
- Hillrichs, S. & Schmid, R. 2001. Activation by blue light of inorganic carbon acquisition for photosynthesis in *Ectocarpus siliculosus*: organic acid pools and short-term carbon fixation. *Eur. J. Phycol.* 36: 71-79.
- Hoopen, A. ten, Bos, S., & Breeman, A.M. 1983. Photoperiodic response in the formation of gametangia of the long-day plant *Sphaerelaria rigidula* (Phaeophyceae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 234: 111-118.
- Hurd, A.M. 1920. Effect of unilateral monochromatic light and group orientation on the polarity of germinating *Fucus* spores. *Bot. Gaz.* 70: 25-50.
- Hwang, E.K. & Dring, M.J. 2002. Quantitative photoperiodic control of erect thallus production in *Sargassum muticum*. *Bot. Mar.* 45: 471-475.
- Ikeuchi M. & Ishizuka T. 2008. Cyanobacteriochromes: a new superfamily of tetrapyrrole-binding photoreceptors in cyanobacteria. *Photochem. Photobiol. Sci.* 10: 1159-1167.
- 今泉貴登・鐘ヶ江健 2001. クリプトクロムファミリー. 植物の光センシング. pp. 99-107. 秀潤社. 東京.
- Iseki, M., Matunaga, S., Murakami, A., Ohono, K., Shiga, K., Yoshida, K., Sugai, M., Takahashi, T., Hori, T., & Watanabe, M. 2002. A blue-light activated adenylate cyclase mediates photoavoidance in *Euglena gracilis*. *Nature*. 415: 1047-1051.
- 笠原賢洋・加川貴俊 2001. フォトトロピンと LOV ドメインを持つタンパク質. 植物の光センシング. pp. 108-113. 秀潤社. 東京.
- Kawai, H., Müller, D.G., Fölster, E., & Häder, D.P. 1990. Phototactic responses in the gametes of the brown alga, *Ectocarpus siliculosus*. *Planta*. 182: 292-297.
- Kropf, D.L. 1992. Establishment and expression of cellular polarity in fucoid zygotes. *Microbiol. Rev.* 56: 316-339.
- Jaffe, L. 1956. Effects of polarized light on polarity of *Fucus*. *Science* 123: 1081-1082.
- Le Bail, A. et al. 2010. Auxin metabolism and function in the multicellular brown alga *Ectocarpus siliculosus*. *Plant Physiol.* 153: 128-144.
- Leblanc, C., Falciatore, A., Watanabe, M., & Bowler, C. 1999. Semi-quantitative RT-PCR analysis of photoregulated gene expression in marine diatoms. *Plant Mol. Biol.* 40: 1031-1044.
- Lin, C., Robertson, D.E., Ahmad, M., Raibekas, A.A., Jorns, M.S., Dutton, L., & Cashmore, A.R. 1995. Association of Flavin Adenine Dinucleotide with the *Arabidopsis* Blue light receptor CRY1. *Science* 269: 968-970
- Lüning, K. & Dring, M.J. 1975. Reproduction, growth and photosynthesis of gametophytes of

- Laminaria saccharina* grown in blue and red light. *Mar. Biol.* 29: 195-200.
- Lüning, K. 1981. Egg release in gametophytes of *Laminaria saccharina*: induction by darkness and inhibition by blue light and U.V. *Br. Phycol. J.* 16: 376-393.
- Lüning, K. 1988. Photoperiodic control of sorus formation in the brown alga *Laminaria saccharina*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 45: 137-144.
- Müller, S. & Clauss, H. 1976. Aspects of photomorphogenesis in the brown alga *Dictyota dichotoma*. *Z. Pflanzenphysiol.* Bd. 78: 461-465.
- 中沢信吾 1982 形成の人為支配. 中沢信吾（著）形態形成の原理第3版. pp.121-151. 裳華房. 東京.
- Nultsch, W. & Pfanz, J. 1979. Occurrence and biological role of light-induced chromatophore displacements in seaweeds. *Mar. Biol.* 51: 77-82.
- Takahashi, F., Yamagata, D., Ishikawa, M., Fukamatsu, Y., Ogura, Y., Kasahara, M., Kiyosue, T., Kikuyama, M., Wada, M., & Kataoka, H. 2007. AUREOCHROME, a photoreceptor required for photomorphogenesis in stramenopiles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104: 19625-19630.
- Terry, L.A. & Moss, B.L. 1980. The effect of photoperiod on receptacle initiation in *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. *Br. Phycol. J.* 15: 291-301.
- Pang, S. & Lüning, K. 2004. Photoperiodic long day control of sporophyll and hair formation in the brown alga *Undaria pinnatifida*. *J. Appl. Phycol.* 16: 83-92.
- Pearson, G.A., Serrão, E.A., Dring, M., & Schmid, R. 2004. Blue- and green-light signals for gamete release in the brown alga, *Silvetia compressa*. *Oecologia* 138: 193-201.
- Sineshchekov, O.A., Jung, K.H., & Spudich, J.L. 2002. Two rhodopsins mediate phototaxis to low- and high-intensity light in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99: 8689-8694.
- 渡辺正勝 1989. 作用スペクトルと大型スペクトログラフ. 蛋白質核酸酵素 (34): 300-311.

基部陸上植物の光応答戦略 -フィトクロムを介した光形態形成の分子機構-

石崎公庸・井上佳祐・河内孝之
京都大学大学院 生命科学研究科 遺伝子特性学分野
〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

Phytochrome-mediated photomorphogenesis in basal land plants

Keywords: *Marchantia polymorpha*; liverwort; nuclear translocation; bryophyte; phytochrome

Kimitsune Ishizaki, Keisuke Inoue, Takayuki Kohchi
Graduate School of Biostudies, Kyoto University
Kyoto, 606-8502, Japan

光は光合成のエネルギー源として植物の生存に必須である。動物とは違い地面に根を下ろして移動することのできない植物は、自分の置かれた光環境を認識して、光合成を最適化するように形態を変化させる。フィトクロムは、環境からの光情報を受けるために必要な光受容体の1種である。フィトクロムの関わる陸上植物の光応答と分子機能の進化について解説する。

1. フィトクロムとは

1-1. フィトクロムによる光受容の意義

フィトクロムは、赤色光 (R: 660 nm) に吸収極大をもつ Pr 型と、遠赤色光 (FR: 730 nm) に吸収極大を持つ Pfr 型を可逆的に相互転換するというユニークな特徴を持つ光受容体である（図 1 A）。クロロフィルなどの光合成系色素は、R 領域に強い吸収を持つ。光合成を行う植物にとって R を感知することは重要であると考えられる。しかしながら R/FR 可逆的な受容体が必要だったのか？理由の一つとして、R/FR の比により他の植物の日陰を感知できることが挙げられる。植物の葉の陰では、R が吸収され R/FR の比が相対的に低くなる。夕暮れの地表でも R が相対的に減少することから、R/FR 比により「夕暮れ」も検知することができる。つまり植物は R/FR の比を細胞内のフィトクロム Pfr 型/Pr 型の量比として測定することにより、光合成に必要な光エネルギーを競合する他の植物との相対的な位置情報と時間情報を感知することができる。

1-2. フィトクロムの構造

陸上植物に見られる典型的なフィトクロムは、単量体で分子量約 120 kDa の水溶性色素タンパク質であり、生理的条件下では二量体を形成する。アポフィトクロム 1 分子に対して開環状テトラピロール化合物が発色団として 1 分子結合することでホロフィトクロムとなり光受容能をもつ。

フィトクロムは一次構造上、N末端領域とC末端領域に大別できる（図1B）（Nagatani 2010）。N末端領域には発色団が結合するシステイン残基や光可逆性に必要なチロシン残基を含むGAFドメインが存在し、N末端領域のみで核内におけるシグナル伝達を引き起こすことが報告されている（Matsushita et al. 2003）。一方C末端領域にはPASドメイン、ヒスチジンキナーゼ様モチーフ（HKRD）が存在し、核移行および二量体化に必須であると考えられている（Li et al. 2011）（図1）。

フィトクロムは真核生物に固有の光受容体だと考えられてきたが、原核生物であるシアノバクテリアからもフィトクロム様受容体が見つかった。シアノバクテリア *Synechocystis* sp.から見つけられたフィトクロム様受容体 cph1 は、C末端領域に機能的な2成分制御系のヒスチジンキナーゼドメイン（HKD）をもち、そのキナーゼ活性が光によって制御されることが示されている（Yeh et al. 1997）。一方で植物フィトクロムの場合、C末端のHKRDはキナーゼ活性を失っていることが示されており（Fankhauser 2001）、2成分制御系がシグナル伝達に関与する可能性は示されていない。cph1 の発見の後にも、非光合成型バクテリアの緑膿菌や放射線耐性菌（Davis et al. 1999）、根粒菌（Giraud et al. 2002）などからもフィトクロム様遺伝子が次々と見つかっている。原核生物のフィトクロム様受容体はバクテリオフィトクロムと呼ばれ、植物フィトクロムのN末端側の構造によく似た光受容ドメインを持つが、C末端側については前述の機能的なヒスチジンキナーゼドメインや2成分系のレスポンスレギュレータードメイン、走化性受容体のシグナル伝達に関わるMCPシグナルドメインなど多様性に富んでいる。フィトクロムの光受容の仕組みは太古の昔に原核生物が獲得し、真核生物への共生や水平伝播を介して植物に広がったと考えられている（Mathews 2006）。

興味深いことに陸上植物でも、典型的なフィトクロムの他に一部のシダ植物や緑藻類では、N末端側にフィトクロムの光受容ドメイン、C末端側に青色光受容体であるフォトトロピン全長を持つneochrome（neo）という特徴的な構造をもつフィトクロム（Kawai et al. 2003, Suetsugu et al. 2005）が存在し、また蘚類のヤノウエノアカゴケ（*Ceratodon purpureus*）にはC末端部に機能的なセリン／スレオニン／チロシンキナーゼドメインを持つ、少し変わったフィトクロム Cpphy1が存在する（Mittmann et al. 2009）。

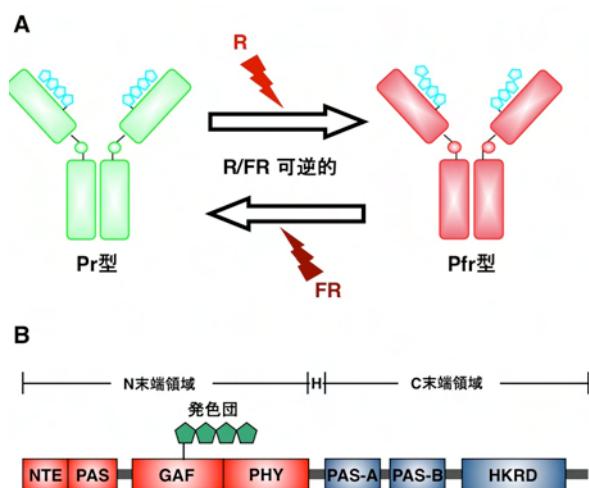


図1 フィトクロム分子の模式図

A. 2量化したフィトクロムの機能模式図、フィトクロムは光可逆性を持ち、R吸収型（Pr型）とFR吸収型（Pfr型）を相互変換する。B. フィトクロムのドメイン構造、フィトクロムは発色団を結合ドメインを含むN末端領域、構造的に柔軟性を有するヒンジ部位（H）を通じて連結されたC末端領域により構成されている。発色団はGAFドメイン内にある保存されたシステイン残基に結合する。NTE, N-terminal extension; PAS, Per (period circadian protein), Arnt (Ah receptor nuclear translocator protein) and Sim (single-minded protein); GAF, cGMP-stimulated phosphodiesterase, *Anabaena* adenylate cyclases and *Escherichia coli* FlhA; PHY, HKRD, histidine kinase-related domain.

2. 種子植物におけるフィトクロムの介する光応答

種子植物のフィトクロムは大別すると、光分解を受けやすく光に対して不安定な I 型と、光に対して安定な II 型に分けられる。例えば研究材料としてよく用いられているシロイヌナズナは、phyA から phyE まで 5 分子種のフィトクロムをもつ。I 型の phyA は、他のフィトクロム分子種とは異なった性質を示す。phyA は暗所で高レベルに蓄積し、光照射によって速やかに分解される。このため明所での生育にはほとんど関わらず、主に暗所における微弱な光に対する高感度の光センサーとして働き、種子発芽や脱黄化調節に関わっている (Franklin & Quail 2010)。phyA による敏感な光応答は紫外線から FR までの植物が受容しうる全ての波長域で誘導され、R/FR の光可逆性は見られない (Shinomura et al. 1996)。系統解析からも phyA タイプのフィトクロムは、進化上、種子植物以降に獲得され、機能が特殊化したと考えられている (Mathews 2006)。

一方で、phyB に代表される II 型のフィトクロムは光に対して安定で明暗にかかわらず一定量存在し、明所での比較的強い光に対する感度の低い光応答を担っている。phyB は、R による発芽や脱黄化、子葉の展開、胚軸伸長抑制、花成まで幅広い光応答を制御し (Franklin & Quail 2010)，それらの反応においては典型的なフィトクロム反応の特徴である R/FR による可逆性が見られる。フィトクロムによる生理応答の多くが遺伝子転写制御を介しており、最近の研究によってその制御メカニズムが明らかになってきた。まずシロイヌナズナにおいてフィトクロムが光に応じて細胞質から核内へ移行し顆粒状構造体を形成することが明らかにされた (Sakamoto & Nagatani 1996, Yamaguchi et al. 1999)。さらに核内局在性の bHLH 型転写因子である Phytochrome-interacting Factor (PIF) が単離され (Ni et al. 1998)，フィトクロムと光依存的に相互作用することが示された (Ni et al. 1999)。現在、フィトクロムが核内で転写因子と相互作用し、リン酸化や分解を調節することで遺伝子発現を制御するモデルを考えられている (Chen & Chory 2011, Leivar & Quail 2011)。他にもフィトクロムを含めた光形態形成全般に関与するタンパク質分解調節因子 CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC 1 (COP1) を介する経路についても研究が進んでいる (Li et al. 2011)。

3. シダ植物、コケ植物におけるフィトクロムに関するこれまでの知見

陸上植物は水生の多細胞緑藻から進化した。最も基部に位置するグループとして苔類・蘚類・ツノゴケ類を含むコケ植物、次に維管束を持つシダ植物、そして種子植物が分岐したと考えられている (Qi et al. 2006)。コケ植物は配偶体世代優占の生活環を持ち、胞子体は配偶体に寄生する形を取る。一方シダ植物は胞子体世代優占であり、胞子から前葉体までの配偶体世代は比較的短い。シダおよびコケ植物における配偶体世代は、半数体であり単純な体制をもちつつ陸上植物に共通する基本的な生理応答を持つことから、光応答の観察において優れたモデルである。従って種子植物のみならずコケ植物 (Lamarter 2006) やシダ植物 (Wada 2007) においても、半数体である配偶体を材料に、光応答が精力的に研究されている。

シダ植物のホウライシダ (*Adiantum capillus-veneris* L.) やモエジマシダ (*Pteris vittata*) では、胞子発芽が R で誘導され FR で打ち消されることからフィトクロムにより制御されることが示唆されている (Furuya et al. 1997, Sugai & Furuya 1967)。ホウライシダでは、胞子発芽後の原糸体における光屈性 (Kadota et al. 1982) や葉緑体光定位運動 (Yatsuhashi et al. 1985) が R 依存的に引き

起こされ、前述の特徴的なフィトクロム neo により制御されることが示された (Kawai et al. 2003)。ホウライシダは neo の他に 3 つの典型的な構造を持つフィトクロム遺伝子を持つが、それらの機能については未だ確認されていない (Wada 2007)。

シダと同様にヤノウエノアカゴケやヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) などの蘚類、およびツノゴケ類のミヤベツノゴケ (*Anthoceros miyabeanus*) でも胞子発芽にフィトクロムが関与することが示唆されている (Cove et al. 1978, Wada et al. 1984)。さらにヒメツリガネゴケとヤノウエノアカゴケにおいて、原糸体における光屈性 (Brücker et al. 2005, Hartmann et al. 1983, Mittmann et al. 2004) および分枝位置決定 (Brücker et al. 2005, Kagawa et al. 1997, Uenaka et al. 2005), クロロフィル蓄積 (Mittmann et al. 2009), 葉緑体定位運動 (Kadota et al. 2000, Uenaka & Kadota 2007) に、フィトクロムが関わることが報告された。ヒメツリガネゴケやヤノウエノアカゴケには neo 様光受容体は同定されていないが、葉緑体定位運動にフィトクロムが細胞質で機能することが示されている (Mittmann et al. 2004, Mittmann et al. 2009, Uenaka & Kadota 2007)。光屈性についても細胞膜に局在するフィトクロムによる制御が示唆されている (Rösler et al. 2010, Suetsugu & Wada 2007)。ヒメツリガネゴケにはフィトクロムが 7 分子種ある。

興味深いことに *Ppphy1* から *Ppphy4* までの 4 分子種において R 照射後でも主に細胞質に局在することが示されている (Uenaka & Kadota 2007)。またヒメツリガネゴケに 4 つある青色光受容体フォトトロピンのうち 3 つを破壊した *photA2photB1photB2* 変異体では、R で誘導される葉緑体定位運動が著しく低下した (Kasahara et al. 2004)。このことからヒメツリガネゴケにおけるフィトクロムに受容される R による葉緑体定位運動の制御は細胞質のフォトトロピンを介すると考えられている (Rösler et al. 2010, Suetsugu & Wada 2007)。現在のところシダやコケ植物で詳しく調べられているのは、フィトクロムの細胞質における働きとされる葉緑体定位運動や光屈性などであり、核における遺伝子発現制御を伴う機能については知見が少ない。

4. 基部陸上植物-苔類ゼニゴケにおけるフィトクロム

それでは種子植物に見られる核における転写制御を介したフィトクロムのシグナル伝達の仕組みは、植物進化のどの時点で獲得されたのであろうか？陸上植物におけるフィトクロムを介する光応答メカニズムの原形と進化を解析するため、我々は苔類ゼニゴケに着目している。苔類は、陸上植物進化の基部に位置し (Bowman et al. 2007, Qiu et al. 2006)，根・茎・葉を持

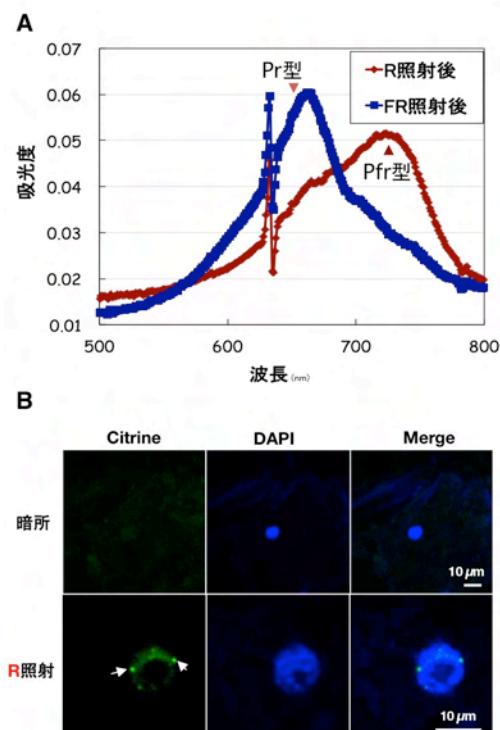


図 2 ゼニゴケフィトクロムの性質

A. *Mpphy* の光可逆性。フィトクロム遺伝子を発色団生成酵素遺伝子と共に発現させる大腸菌発現系 (Mukougawa et al. 2006) を用い、発色団として PΦB が結合した *Mpphy* の N 末端領域タンパク質の精製溶液を得た。得られた *Mpphy*(N612)PΦB に R または FR を照射した際のそれぞれの吸収スペクトルを示す。FR 照射後には 662nm, R 照射後には 727nm にそれぞれ吸収極大が見られた。B. *Mpphy* の核移行性。*Mpphy* の C 末端領域に蛍光タンパク質である citrine を融合させたものを発現する形質転換ゼニゴケを作成し、細胞内局在を暗所と R 照射条件で観察した。暗所においては、核に citrine 蛍光が観察されないが、R 照射により、DAPI で染色された核内において顆粒状構造を形成した。

たない単純な体制を持つ。苔類ゼニゴケは進化上の位置づけの重要性から米国エネルギー省 JGI による全ゲノム配列決定プロジェクトが進行中であり、現時点（2012年12月）において EST 情報と大まかなゲノム配列情報が得られている。また近年我々の研究室で、実験室環境下での交配法 (Chiyoda et al. 2008) や、アグロバクテリウムを介した簡便かつ高頻度の形質転換法 (Ishizaki et al. 2008) が確立されたことで実験モデルとしても基盤が整えられつつある。

これまでに苔類ゼニゴケからフィトクロム遺伝子 (*MpPHY*) が単離され、光可逆性を備えているフィトクロムタンパク質をコードすることが示されている（図 2 A）。全ゲノム配列情報の解析から、ゼニゴケにはフィトクロム遺伝子がこの 1 分子種のみ存在することが確認された。ゼニゴケフィトクロムは光に対して安定であること、さらに蛍光タンパク質との融合型フィトクロム発現株の解析から、活性型フィトクロムが核において顆粒状構造体を形成することが観察された（図 2 B）。これらの結果は、苔類ゼニゴケにおけるフィトクロムが種子植物における II 型フィトクロムと同様の性質を持つことを示している。過去の知見から、苔類ゼニゴケでは、赤色光および遠赤色光による光可逆的な生理応答として、クロロフィル量の調節や葉状体の上方向への伸長成長（避陰応答とされる）などが確認されている（De Greef et al. 1971, De Greef & Fredericq 1969, Fredericq & Degreef 1966）。近年我々は、蛍光灯に加え FR を補光した条件下で、ゼニゴケが栄養成長相から生殖成長相へと転換し、生殖器を形成することを見出した（Chiyoda et al. 2008）。さらに RNAi による *MpPHY* の発現抑制株および恒常活性型フィトクロム発現株の解析から、活性型フィトクロムが栄養成長から生殖成長への成長相転換を抑制することが明らかとなった。これらの光応答に加え、ゼニゴケの胞子発芽後の形態形成における細胞分裂の促進と伸長生長の抑制、葉状体の扁平な形態形成、葉状体切断面からの再生など生活環の様々な段階の形態形成にフィトクロムが関与することを示すデータを得ている（図 3）。このように我々のこれまでの解析から、基部陸上植物ゼニゴケにおいて、フィトクロムが核で機能し、ゼニゴケの生活環を通して多様な形態形成を制御することが示唆されている。

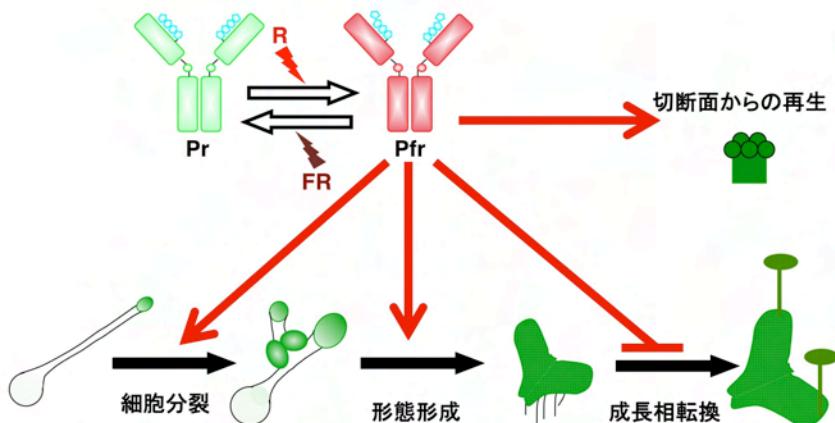


図 3 ゼニゴケフィトクロム (*Mpphy*) が制御する光応答

5. 今後の展望

ここまで陸上植物におけるフィトクロムが制御する光応答とその仕組みについて、その進化に着目して解説してきた。シダ植物やコケ植物においても、フィトクロムの関わる光応答についての報告が古くからあり、近年では形質転換が可能で分子レベルの解析が可能な蘚類のヒメツリガ

ネゴケやヤノウエノアカゴケでも、フィトクロムの機能に関する解析が進められている。しかしフィトクロム分子種の冗長性などが障害となり、これまでに明らかにされたのはフィトクロムの細胞質における機能に関するものに偏っている (Rösler et al. 2010, Suetsugu & Wada 2007)。種子植物においてフィトクロム機能の主要な部分とされる核における遺伝子発現制御については、シダ植物およびコケ植物においてほとんど知見がない。このため被子植物とコケ植物では、フィトクロム下流のシグナル伝達系がかなり異なっているという見方さえ出始めている (Rösler et al. 2010)。

一方で、陸上植物進化の基部に位置し、分子遺伝学の基盤が急速に進められている苔類ゼニゴケをモデルとした研究からは、種子植物と共通するフィトクロムの核における遺伝子発現を伴う応答について、分子レベルの知見が得られ始めている。ゲノム解析の進展により、ゼニゴケが冗長性の低い制御システムを持つことが明らかになりつつある。今後、苔類ゼニゴケを用い、逆遺伝学と順遺伝学の双方向からの更なるアプローチをすすめることにより、陸上植物全般に共通するフィトクロムの機能とその進化についての理解が深まると期待される。

引用文献

- Bowman, J.L., Floyd, S.K., & Sakakibara, K. 2007. Green genes-comparative genomics of the green branch of life. *Cell* 129: 229-234
- Brücker, G., Mittmann, F., Hartmann, E., & Lamarter, T. 2005. Targeted site-directed mutagenesis of a heme oxygenase locus by gene replacement in the moss *Ceratodon purpureus*. *Planta* 220: 864-874
- Chen, M., & Chory, J. 2011. Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development. *Trends Cell Biol.* 21: 664-671
- Chiyoda, S., Ishizaki, K., Kataoka, H., Yamato, K.T., & Kohchi, T. 2008. Direct transformation of the liverwort *Marchantia polymorpha* L. by particle bombardment using immature thalli developing from spores. *Plant Cell Rep.* 27: 1467-1473
- Cove, D.J., Schild, A., Ashton, N.W., & Hartmann, E. 1978. Genetic and physiological studies of the effect of light on the development of the moss, *Physcomitrella patens*. *Photochem. Photobiol.* 27: 249-254
- Davis, S.J., Vener, A.V., & Vierstra, R.D. 1999. Bacteriophytochromes: phytochrome-like photoreceptors from nonphotosynthetic eubacteria. *Science* 286: 2517-2520
- De Greef, J., Butler, W.L., & Roth, T.F. 1971. Control of senescence in *Marchantia* by phytochrome. *Plant Physiol.* 48: 407-412
- De Greef, J., & Fredericq, H. 1969. Photomorphogenic and chlorophyll studies in the bryophyte *Marchantia polymorpha* I. Photobiological responses to terminal irradiations with different red / far-red ratios. *Physiol. Plant.* 22: 462-468
- Fankhauser, C. 2001. The phytochromes, a family of red/far-red absorbing photoreceptors. *J. Biol. Chem.* 276: 11453-11456
- Franklin, K.A., & Quail, P.H. 2010. Phytochrome functions in *Arabidopsis* development. *J. Exp. Bot.* 61: 11-24
- Frederic, H., & De Greef, J. 1966. Red (R), far-red (Fr) photoreversible control of growth and chlorophyll

- content in light-grown thalli of *Marchantia polymorpha* L. *Naturwissenschaften* 53: 337
- Furuya, M., Kanno, M., Okamoto, H., Fukuda, S., & Wada, M. 1997. Control of mitosis by phytochrome and a blue-light receptor in fern spores. *Plant Physiol.* 113: 677-683
- Giraud, E., Fardoux, J., Fourrier, N., Hannibal, L., Genty, B., Bouyer, P., Dreyfus, B., & Vermeglio, A. 2002. Bacteriophytochrome controls photosystem synthesis in anoxygenic bacteria. *Nature* 417: 202-205
- Hartmann, E., Klingenberg, B., & Bauer, L. 1983. Phytochrome-mediated phototropism in protonemata of the moss *Ceratodon purpureus* Brid. *Photochem. Photobiol.* 38: 599-603
- Ishizaki, K., Chiyoda, S., Yamato, K.T., & Kohchi, T. 2008. *Agrobacterium*-mediated transformation of the haploid liverwort *Marchantia polymorpha* L., an emerging model for plant biology. *Plant Cell Physiol.* 49: 1084-1091
- 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., Wada, M., & Furuya, M. 1982. Phytochrome-mediated phototropism and different dichroic orientation of Pr and Pfr in protonemata of the fern *Adiantum capillus-veneris* L. *Photochem. Photobiol.* 35: 533-536
- Kagawa, T., Lamparter, T., Hartman, E., & Wada, M. 1997. Phytochrome-mediated branch formation in protonemata of the moss *Ceratodon purpureus*. *J. Plant Res.* 110: 363-370
- Kasahara, M., Kagawa, T., Sato, Y., Kirosue, 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., Kirosue, 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
- Lamparter, T. 2006. Photomorphogenesis in mosses. In: Shäfer E. & Nagy F. (eds.) *Photomorphogenesis in plants and bacteria*. -3rd edition- pp. 537-560. Springer, Netherlands.
- Leivar, P., & Quail, P.H. 2011. PIFs: pivotal components in a cellular signaling hub. *Trends Plant Sci.* 16: 19-28
- Li, J., Li, G., Wang, H., & Deng, X.W. 2011. Phytochrome signaling mechanisms. *The Arabidopsis Book*: e0148
- Mathews, S. 2006. Phytochrome-mediated development in land plants: red light sensing evolves to meet the challenges of changing light environments. *Mol. Ecol.* 15: 3483-3503
- Matsushita, T., Mochizuki, N., & Nagatani, A. 2003. Dimers of the N-terminal domain of phytochrome B are functional in the nucleus. *Nature* 424: 571-574
- Mittmann, F., Brücker, G., Zeidler, M., Repp, A., Abts, T., Hartmann, E., & Hughes, J. 2004. Targeted knockout in *Physcomitrella* reveals direct actions of phytochrome in the cytoplasm. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101: 13939-13944
- Mittmann, F., Dienstbach, S., Weisert, A., & Forreiter, C. 2009. Analysis of the phytochrome gene family in *Ceratodon purpureus* by gene targeting reveals the primary phytochrome responsible for photo- and polarotropism. *Planta* 230: 27-37
- Mukougawa, K., Kanamoto, H., Kobayashi, T., Yokota, A., & Kohchi, T. 2006. Metabolic engineering to

- produce phytochromes with phytochromobilin, phycocyanobilin, or phycoerythrobilin chromophore in *Escherichia coli*. *FEBS Lett.* 580: 1333-1338
- Nagatani, A. 2010. Phytochrome: structural basis for its functions. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13: 565-570
- Ni, M., Tepperman, J.M., & Quail, P.H. 1998. PIF3, a Phytochrome-Interacting Factor Necessary for Normal Photoinduced Signal Transduction, Is a Novel Basic Helix-Loop-Helix Protein. *Cell* 95: 657-667
- Ni, M., Tepperman, J.M., & Quail, P.H. 1999. Binding of phytochrome B to its nuclear signalling partner PIF3 is reversibly induced by light. *Nature* 400: 781-784
- Qiu, Y.L., Li, L., Wang, B., Chen, Z., Knoop, V., Groth-Malonek, M., Dombrovska, O., Lee, J., Kent, L., Rest, J., Estabrook, G.F., Hendry, T.A., Taylor, D.W., Testa, C.M., Ambros, M., Crandall-Stotler, B., Duff, R.J., Stech, M., Frey, W., Quandt, D., & Davis, C.C. 2006. The deepest divergences in land plants inferred from phylogenomic evidence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103: 15511-15516
- Rösler, J., Jaedicke, K., & Zeidler, M. 2010. Cytoplasmic phytochrome action. *Plant Cell Physiol.* 51: 1248-1254
- Sakamoto, K., & Nagatani, A. 1996. Nuclear localization activity of phytochrome B. *Plant J.* 10: 859-868
- Shinomura, T., Nagatani, A., Hanzawa, H., Kubota, M., Watanabe, M., & Furuya, M. 1996. Action spectra for phytochrome A- and B-specific photoinduction of seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93: 8129-8133
- Suetsugu, N., Mittmann, F., Wagner, G., Hughes, J., & Wada, M. 2005. A chimeric photoreceptor gene, NEOCHROME, has arisen twice during plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102: 13705-13709
- Suetsugu, N., & Wada, M. 2007. Phytochrome-dependent Photomovement Responses Mediated by Phototropin Family Proteins in Cryptogam Plants†. *Photochem. Photobiol.* 83: 87-93
- Sugai, M., & Furuya, M. 1967. Photomorphogenesis in *Pteris vittata* I. Phytochrome-mediated spore germination and blue light interaction. *Plant and cell physiology* 8: 737-748
- Uenaka, H., & Kadota, A. 2007. Functional analyses of the *Physcomitrella patens* phytochromes in regulating chloroplast avoidance movement. *Plant J.* 51: 1050-1061
- Uenaka, H., Wada, M., & Kadota, A. 2005. Four distinct photoreceptors contribute to light-induced side branch formation in the moss *Physcomitrella patens*. *Planta* 222: 623-631
- Wada, K., Hirabayashi, Y., & Saito, W. 1984. Light germination of *Anthoceros miyabeanus* spores. *J. Plant Res.* 97: 369-379
- Wada, M. 2007. The fern as a model system to study photomorphogenesis. *J. Plant Res.* 120: 3-16
- Yamaguchi, R., Nakamura, M., Mochizuki, N., Kay, S.A., & Nagatani, A. 1999. Light-dependent translocation of a phytochrome B-GFP fusion protein to the nucleus in transgenic *Arabidopsis*. *J. Cell Biol.* 145: 437-445
- Yatsuhashi, H., Kadota, A., & Wada, M. 1985. Blue- and red-light action in photoorientation of chloroplasts in *Adiantum* protonemata. *Planta* 165: 43-50
- Yeh, K.C., Wu, S.H., Murphy, J.T., & Lagarias, J.C. 1997. A cyanobacterial phytochrome two-component light sensory system. *Science* 277: 1505-1508

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）。

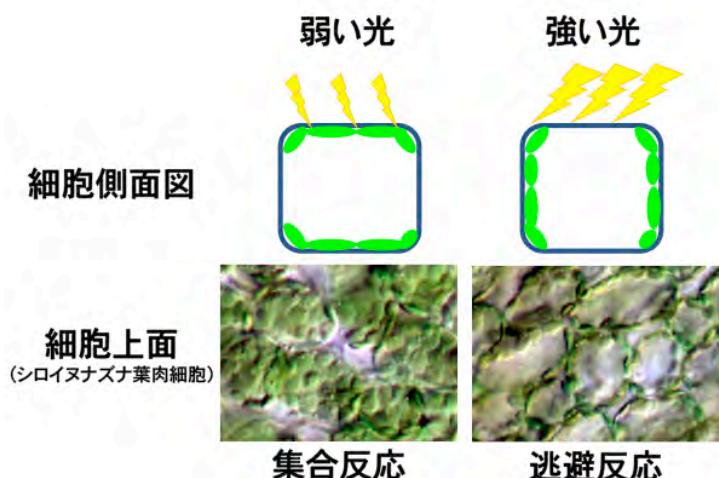
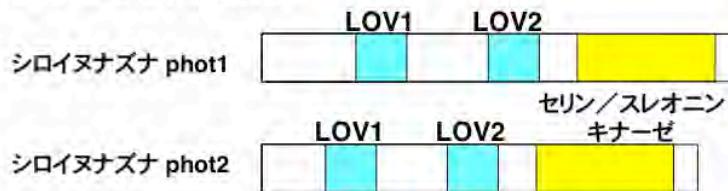


図1. 葉緑体光定位運動

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ら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)。

青色光受容体 フォトトロピン



キメラ受容体 ネオクロム



図 2. 葉緑体運動を制御する光受容体

フォトトロ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効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、さらにフォトトロピンが関与している (Suetsugu & Wada 2005, 2007a) (図 3)。

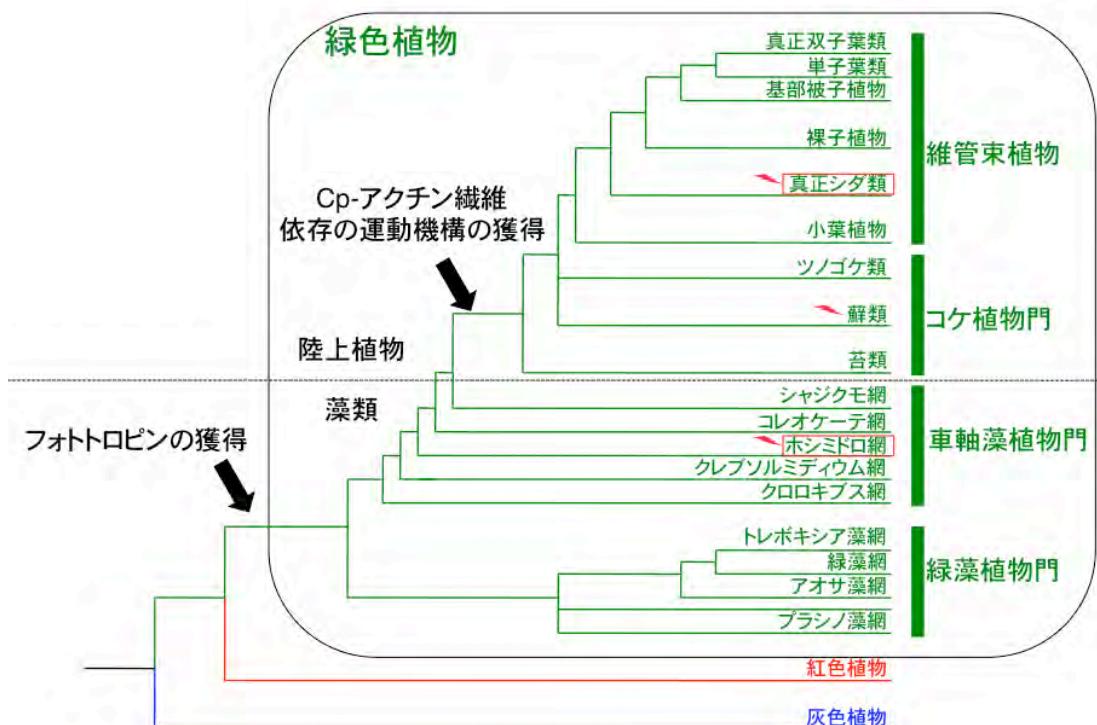


図 3. 緑色植物における葉緑体運動機構の進化

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纖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（アクチン纖維モーター）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、アクチン纖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纖維に依存しており（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纖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纖維の観察により、葉緑体に特異的なアクチン纖維の動態が明らかとなってきた（Suetsugu et al. 2010a, Kong & Wada 2011）。このアクチン纖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纖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トロピンファミリー

2-1. フォトトロピン

フォトトロ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、実際にフォトトロ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つのフォトトロピンを持つ。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つのフォトトロピンを持ち（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（PphotA と PphotB）6つのフォトトロピンが存在するが（Kasahara et al. 2004, Rensing et al., 2008），解析された4つ（PphotA1, PphotA2, PphotB1, PphotB2）はいずれも集合反応と逃避反応を制御できるが、PphotA 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つのフォトトロピンを持つが、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）。

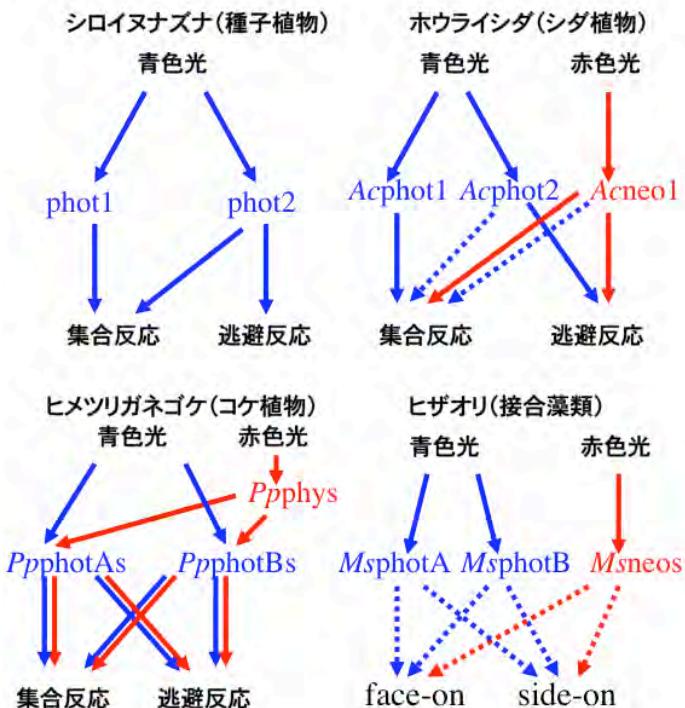


図4. 緑色植物における光受容体システム

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 phot1phot2 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、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 caldarium*），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、我々はフォトトロ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トロ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纖維に依存した運動様式

動物や菌類におけるアクチン纖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纖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）によるアクチン纖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纖維を使い、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、フィンプリンなど）と蛍光タンパク質との融合タンパク質によりアクチン纖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纖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纖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纖維が見られ、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纖維の構造を cp-アクチン（chloroplast-actin）纖維と名付けた。葉緑体が静止しているとき、cp-アクチン纖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-アクチン纖維が一過的に消失し、その後 cp-アクチン纖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-アクチン纖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-アクチン纖維は全周囲に現れ葉緑体は静止する。

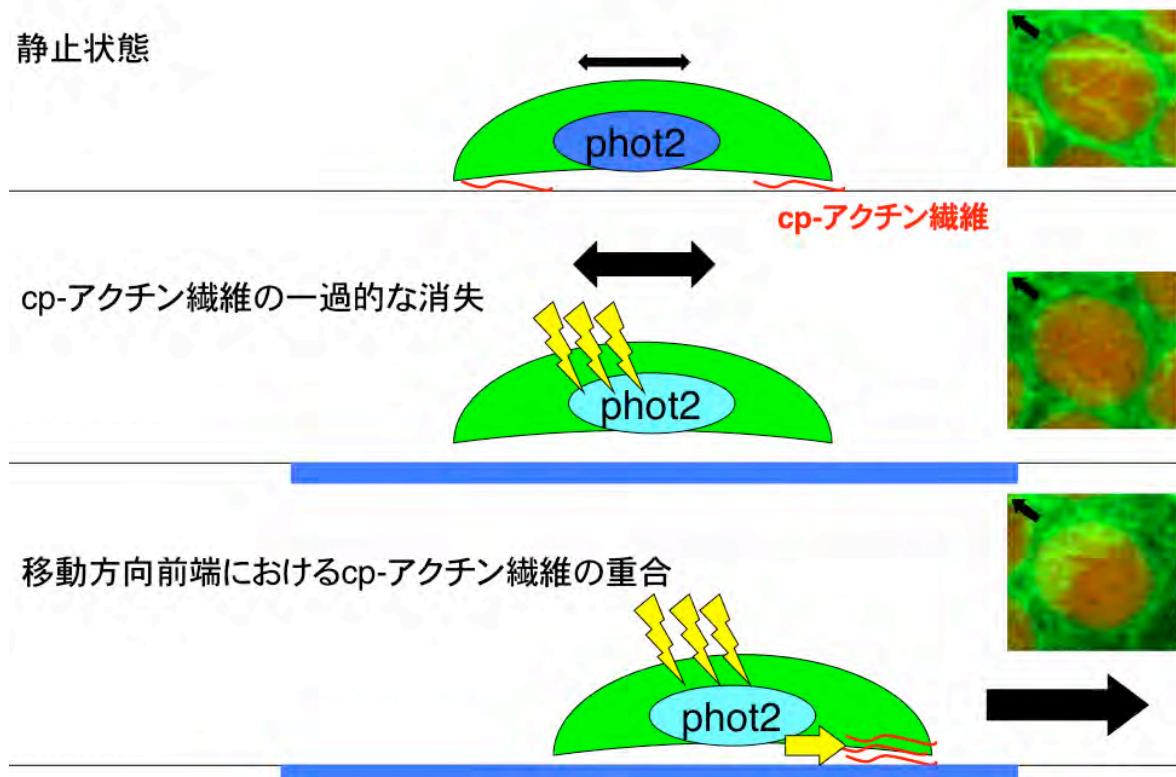


図5. 逃避反応時におけるcp-アクチン纖維の挙動

逃避運動開始前の静止状態では cp-アクチン纖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-アクチン纖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-アクチン纖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-タリンでアクチン纖維を可視化した（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-アクチン纖維の動態を示す。

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

静止状態



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、フォトトロ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

損しているので、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-アクチン纖維の消失は起こらず、逆に cp-アクチン纖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-アクチン纖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-アクチン纖維の動態を制御していることが明らかとなった。

4. cp-アクチン纖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-アクチン纖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-アクチン纖維の制御にどのように関与しているかを推察した。

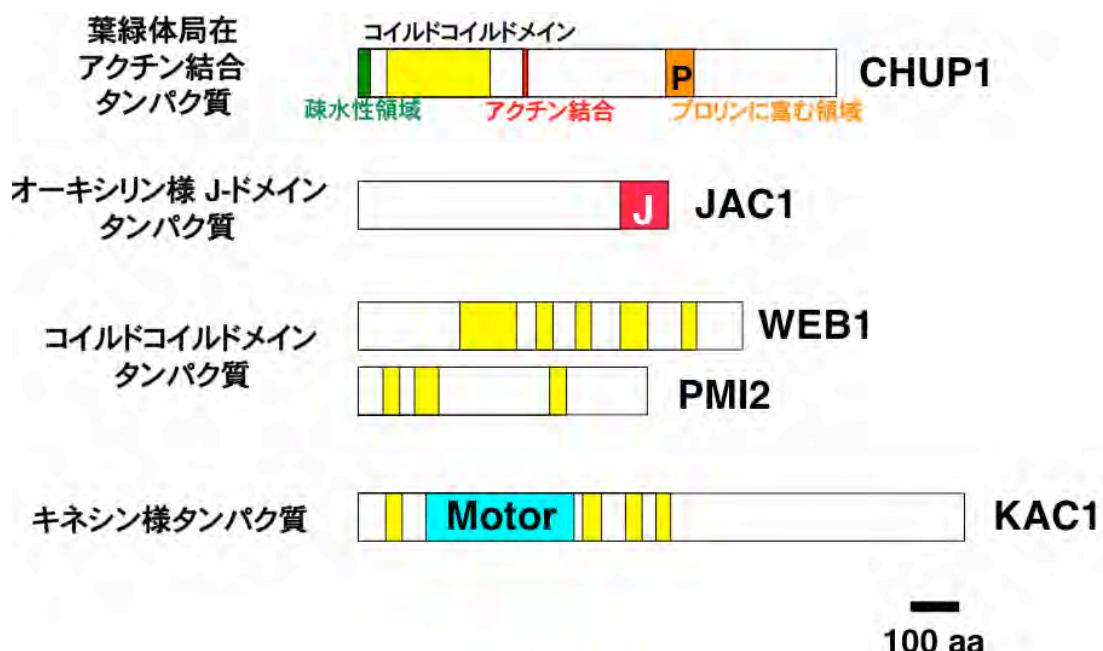


図 7. シロイヌナズナにおける葉緑体運動の信号伝達系や運動系に関わる因子

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纖維の動態は野生型と変わらないが、cp-アクチン纖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-アクチン纖維が、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纖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-アクチン纖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-アクチン纖維が全くみられず、*kac1* 変異体の cp-アクチン纖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容性は無いが、陸上植物の KAC の間で非常に相容性が高い。この部分は試験管内で弱いながらもアクチン纖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-アクチン纖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ので、弱光下で光の方向に向かった cp-アクチン纖維の偏在化は見られなかつたが、一部の弱光から逃げる葉緑体では、光と反対側に cp-アクチン纖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-アクチン纖維の一過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-アクチン纖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意が高い (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-アクチン纖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 纖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 纖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纖維と結合し、さらに試験管内でアクチン纖維の束化を促進することが知られている (Whippo et al. 2011), *thrumin1* 変異体における cp-アクチン纖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纖維に沿った運動は速い速度を維持できるものの（Shimmen & Yokota, 2004），既存のアクチン纖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-アクチン纖維による運動メカニズムでは、アクチン纖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-アクチン纖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-アクチン纖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-アクチン纖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）。

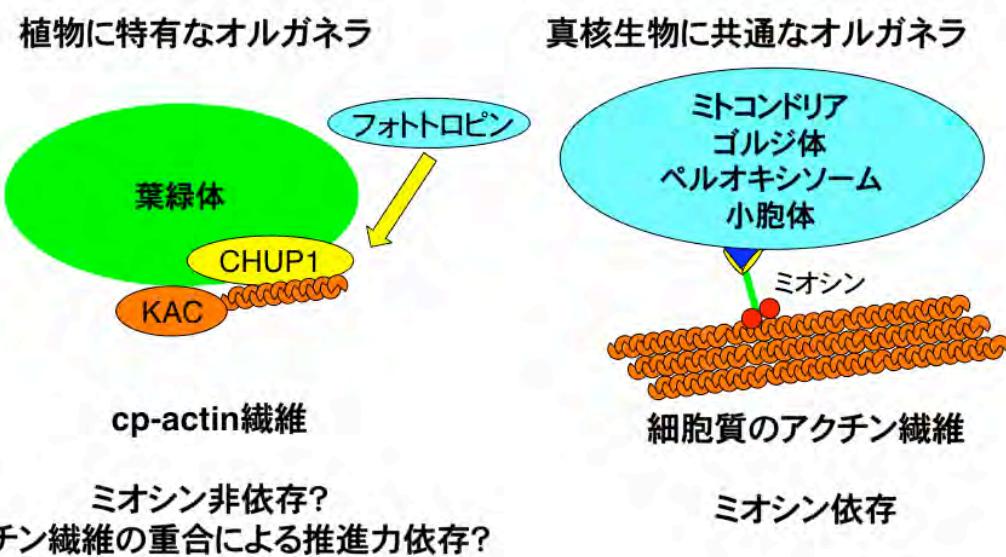


図8. 陸上植物におけるオルガネラ運動

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纖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-アクチン纖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-アクチン纖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-アクチン纖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, phot1and 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., Schuettpelz, 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 in 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.