



気孔の開閉運動を制御するイオンチャネル活性制御機構の解明

岡山大学学術研究院環境生命自然科学学域 宗正 晋太郎

はじめに

植物の葉の表皮に存在する気孔は、一対の孔辺細胞と呼ばれる細胞から形成された小孔である。植物は気孔を開くことで、光合成に必要な二酸化炭素を吸収し、また同時に蒸散により水蒸気を放出することで、土壌中の栄養を根から吸収するために必要な駆動力を得ている。しかし、乾燥など水の利用が限られた環境下では、植物は気孔を速やかに閉鎖し水分損失を抑制する必要がある。また気孔は病原菌の侵入経路となるため、植物は病原菌の接触を感知して気孔を閉鎖することで、葉内への侵入を抑制する免疫応答機構を有している(図1)。気孔の開閉を制御するシグナル伝達のなかでも、アブシシン酸(ABA)が誘導する気孔閉鎖シグナル伝達の分子機構は、これまで精力的に研究がなされてきた<sup>1)</sup>。これまでの研究で著者らの研究グループは、ABAを含む、様々な刺激が誘導する気孔閉鎖シグナル伝達における孔辺細胞原形質膜イオンチャネルの活性制御機構を明らかにしてきた。その一部について紹介させて頂きたい。

1. ABAによるカルシウムイオンを介したSLAC1アニオンチャネル活性化機構に関する研究

乾燥ストレス下で合成される植物ホルモンであるABAは、気孔閉鎖を誘導し、過度の蒸散による水分損失を抑制する働きを持つ。ABAが孔辺細胞で誘導する気孔閉鎖シグナル伝達機構の模式図を図2に示す。ABAは、孔辺細胞原形質膜の陰イオンチャネルSLAC1とカリウムイオンチャネルGORKを活性化する(図2)。これにより塩化物イオンやカリウムイオンが流出し、孔辺細胞の浸透圧が低下する。その結果、孔辺細胞外へ水が流出することで孔辺細胞の体積が減少し、気孔が閉鎖する。

気孔閉鎖を誘導する孔辺細胞ABAシグナル伝達において、カルシウムイオン(Ca<sup>2+</sup>)が重要なセカンドメッセンジャーとして機能することが20年以上前から明らかとなっている。ABAは、孔辺細胞原形質膜に存在するCa<sup>2+</sup>チャネルを活性化し、孔辺細胞の細胞質遊離Ca<sup>2+</sup>濃度([Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>)の上昇を誘導する(図2)。これは下流のSLAC1アニオンチャネルの活性化、そして気孔閉鎖に必須のイベントである。しかし、孔辺細胞

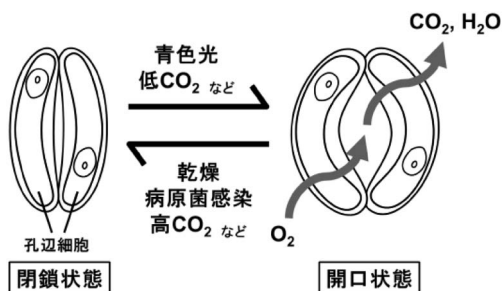


図1. 様々な刺激に応答して気孔は開閉する

[Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>の上昇を感知して、下流のイベントと情報変換する分子は、同定されていなかった。我々の研究グループは、モデル植物であるシロイヌナズナの孔辺細胞プロトプラストを用いたマイクロレイ解析をもとに、孔辺細胞で高発現するCa<sup>2+</sup>依存性タンパク質キナーゼ(Calcium-dependent Protein Kinase; CPK)を、孔辺細胞における気孔閉鎖シグナル伝達に参与するCa<sup>2+</sup>センサータンパク質として同定した<sup>2)</sup>。

ABAとは反対に、青色光による刺激は気孔開口を誘導する。過去の研究から、孔辺細胞[Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>上昇は、気孔開口を誘導する青色光シグナル伝達においても、正の調節因子として機能する可能性が示唆されている。このことから孔辺細胞には、ABAや青色光などの入力刺激特異的に[Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>上昇を感知して下流の応答(気孔の閉鎖または開口)へと導くCa<sup>2+</sup>シグナル解読機構が備わっていることが予想されていた。著者らは、[Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>センサータンパク質であるCPKが、SLAC1のN末端に存在する59番目のSerをリン酸化し、これが効率的なSLAC1の活性化と気孔閉鎖誘導に必須であることを明らかにした<sup>3)</sup>。SLAC1とCPKはともに、気孔閉鎖シグナルがOFFの際、タンパク質フォスファターゼPP2Cによって脱リン酸化されることで不活性化状態となっており、ABAはこの抑制を解除することで[Ca<sup>2+</sup>]<sub>cyt</sub>に依存した気孔閉鎖応答を引き起こす。この研究成果は、植物におけるCa<sup>2+</sup>シグナルの解読にかかわる巧みな分子機構を明らかにした最初の報告である。

2. 免疫応答としての気孔閉鎖シグナル伝達機構とシグナルクロストーク機構に関する研究

ガス交換や蒸散制御の場である気孔は、病原菌の侵入経路ともなりえる。植物は、気孔から葉内への病原菌侵入を阻止するために、孔辺細胞は病原菌の接触を認識して気孔を閉鎖する免疫応答を備えている。病原菌の接触をきっかけにして起こる免疫応答としての気孔閉鎖は、植物ホルモンであるジャスモン酸(JA)、サリチル酸、そして防御応答を誘導する物質であるエリシター(病原菌に由来するPAMPや内生のDAMPなど)に

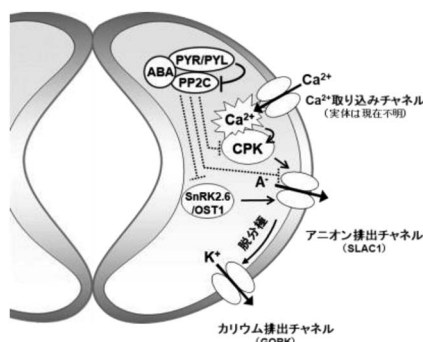


図2. ABAの気孔閉鎖シグナル伝達経路

よって調節されていると現在考えられている。ABAとは対照的に、これら免疫応答としての気孔閉鎖を調節するシグナル伝達機構は、ほとんど研究が行われていなかった。著者の研究グループは、シロイヌナズナの孔辺細胞JAシグナル伝達に関する研究を進め、当時JAシグナル伝達に関与することが知られていた、E3ユビキチンリガーゼのF-boxタンパク質であるCOIIがJAによるSLAC1アニオンチャネル活性化や気孔閉鎖に必須であることを明らかにした<sup>4)</sup>。その後、数多くの研究グループにより、COIIは転写リプレッサーであるJAZと複合体を形成し、JAの活性本体であるジャスモン酸イソイシンの受容体として機能することが示された。著者の研究成果は、ユビキチン-プロテアソーム経路が、イオンチャネルの活性制御に関与する可能性を植物において初めて示した貴重な成果である。

植物の生長や環境応答の多くは、複数の植物ホルモンによる複雑なシグナルネットワークにより制御を受けることが知られている。孔辺細胞も、様々な環境刺激を認識する能力をもち、それらに応答して開閉運動を行うことがこれまでの研究で明らかとなっている。しかし、それぞれの刺激単独が誘起する気孔開閉シグナル伝達に関しては盛んに研究が進んでいるものの、それらシグナルを統合する分子機構についてはあまり研究が進んでいなかった。著者らは、植物ホルモンであるABAやJA、エチレンによる孔辺細胞シグナルネットワークによる気孔開度調節メカニズムの一端を明らかにした<sup>5)・6)</sup>。その生理学的意義は不明であり現在調査中であるが、おそらく様々な刺激が入り乱れる自然環境下での、最適な気孔開度の維持に貢献しているものと思われる<sup>7)</sup>。

### 3. リンゴ酸によるSLAC1活性化機構の解明

リンゴ酸は、気孔が閉鎖する際に孔辺細胞から排出される溶質の一つである。過去の数多くの研究から、リンゴ酸が気孔閉鎖を誘導する働きを持つことが示されている。そのためリンゴ酸は、気孔閉鎖の際に孔辺細胞から排出されるただの溶質ではなく、ABAなどの気孔閉鎖を誘導する刺激と協調的に働くシグナル因子である可能性が示唆されていた。しかしながら、リンゴ酸による気孔閉鎖誘導機構は不明であった。著者の研究グループは、アフリカツメガエル卵母細胞を異種発現系として用いたシグナル伝達再構成実験により、アニオンチャネルSLAC1が直接リンゴ酸を感知して活性化することを明らかにした<sup>8)</sup>。細胞外リンゴ酸は、CPKなどのキナーゼによりリン酸化・活性化されたSLAC1の活性をさらに増強した。このSLAC1活性化は、細胞内からリンゴ酸を与えた場合は観察されなかった。以上の結果は、アニオンチャネルSLAC1が細胞外のリンゴ酸を感知して気孔閉鎖を誘導するリンゴ酸センサーとして機能することを示唆している。また、細胞外リンゴ酸によるSLAC1活性化に間接的に寄与するシグナル伝達機構についても、いくつか有益な知見が得られている(図3)<sup>9)</sup>。

以上の成果は植物において、様々な代謝経路の中間体であるリンゴ酸がシグナル因子として機能する可能性を分子レベルで明らかにした初めての報告である。リンゴ酸は、ヒトや土壤微生物が容易に分解でき、食品添加物としても利用されていることから、本成果が安全性の高い簡便な作物のストレス耐性強化技術の開発に繋がるのが期待される。

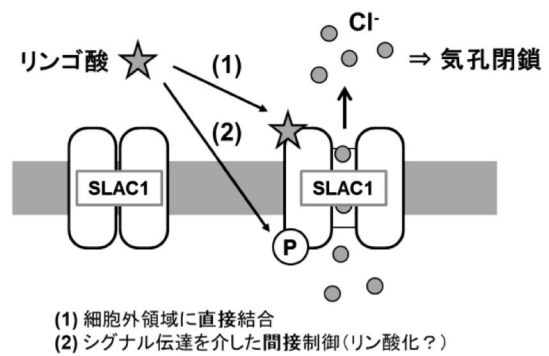


図3. 細胞外リンゴ酸は二つの経路でSLAC1を効率的に活性化化する

おわりに

著者らの研究成果は、気孔の開閉運動だけでなくイオン輸送のかかわる植物すべての生理応答の理解に貢献するものである。著者は何気ない縁があり植物の電気生理学的研究に着手することとなったが、現在我が国では本分野の研究者は減少傾向にある。今後研究に邁進して、本分野と農芸化学の発展に貢献していきたい。

(引用文献)

- 1) Munemasa, S. et al. *Curr Opin Plant Biol* **28**, 154–162(2015)
- 2) Mori, I.C. et al. *PLoS Biol* **4**, e327(2006)
- 3) Brandt, B. et al. *Elife* **4**, e03599(2015)
- 4) Munemasa, S. et al. *Plant Physiol* **143**, 1398–1407(2007)
- 5) Munemasa, S. et al. *Plant Physiol* **155**, 553–561(2011)
- 6) Munemasa, S. et al. *Plant Cell Physiol* **60**, 2263–2271(2019)
- 7) Murata, Y. et al. *Annu Rev Plant Biol* **66**, 369–392(2015)
- 8) Mimata, Y. et al. *New Phytol* **236**, 852–863(2022)
- 9) Mimata, Y. et al. *Biosci Biotechnol Biochem* **86**, 1362–1367(2022)

謝辞 本研究は、岡山大学大学院自然科学研究科・環境生命科学研究科生物情報化学研究室、およびカリフォルニア大学サンディエゴ校のJulian I. Schroeder博士の研究室にて行われたものです。学生時代から今に至るまでご指導ご鞭撻を賜りました村田芳行先生に厚く御礼申し上げます。博士研究員として留学した際にご指導賜りましたSchroeder博士に心から御礼申し上げます。学部・修士時代にご指導賜りました(故)岡山大学名誉教授 下石靖昭先生、(故)岡山大学名誉教授 多田幹郎先生にも深く御礼申し上げます。現在研究室を共同運営している岡山大学大学院環境生命自然科学研究科食品生物化学研究室の中村宜督先生、中村俊之先生に感謝申し上げます。学生時代から今に至るまで共同研究で大変お世話になりました、岡山大学資源植物科学研究所の森泉先生に感謝申し上げます。また、院生時代に研究室に受け入れていただき、色々ご指導賜りました現・東北大学の魚住信之先生(当時・名古屋大学)、福井県立大学の日弁隆雄先生に心より感謝いたします。先生方のおかげで研究の幅が広がりました。そして本奨励賞にご推薦下さいました日本農芸化学会中四国支部支部長で愛媛大学教授の山内聡先生ならびにご支援を賜りました中四国支部の先生方に深く御礼申し上げます。最後に、本研究の遂行にご協力いただいたすべての共同研究者、学生、大学事務の方々に感謝いたします。