

# 博士論文の要約

論文題目：免疫組織化学法を利用した光による気孔開口の制御機構の

解明

氏 名： 安 藤 英 伍

## 要 約

植物の表皮に存在する気孔は一对の孔辺細胞から成り、植物は様々な環境刺激に応じて気孔の開度を調節し、大気とのガス交換や蒸散を介した根からの水分と養分の取り込みを制御している。気孔開口は光、中でも青色光と赤色光により誘導される。青色光は孔辺細胞の青色光受容体フォトトロピンを介した細胞内シグナル伝達を通じて、細胞膜 (PM)  $H^+$ -ATPase を、その C 末端から 2 番目の残基であるスレオニンをリン酸化することで活性化し、気孔開口の駆動力を形成させる。しかしながら、青色光の受容から PM  $H^+$ -ATPase の活性化に至るシグナル伝達機構は完全には明らかにされていない。赤色光による気孔開口も光合成に依存することが示されている以外、PM  $H^+$ -ATPase が関与するかどうかも含めて、その詳細は不明であった。

従来、孔辺細胞の PM  $H^+$ -ATPase の解析は単離した表皮を用いるため、十分な量の表皮を確保することが必要であった。本研究では、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いて、表皮に代えて葉を実験材料とする免疫組織化学法を確立し、孔辺細胞の PM  $H^+$ -ATPase や青色光によるそのリン酸化が検出できることを示した。この過程で、葉では赤色光も孔辺細胞の PM  $H^+$ -ATPase のリン酸化を誘導することを発見した。

次に、赤色光による孔辺細胞の PM  $H^+$ -ATPase のリン酸化と気孔開口の関係について解析したところ、少なくとも光照射後 10 分目には PM  $H^+$ -ATPase のリン酸化レベルが上昇し、15 分以内に気孔開口が誘導されることが明らかにされた。また、孔辺細胞の PM  $H^+$ -ATPase の主要なアイソフォームである AHA1 のヌル変異体において、赤色光による気孔開口が遅延することが示され、赤色光による気孔開口における PM  $H^+$ -ATPase の必要性が遺伝学的に確証された。さらに光合成の電子伝達阻害剤である DCMU が赤色光による孔辺細胞の PM  $H^+$ -ATPase のリン酸化と気孔開口を阻害することが示され、赤色光による気孔開口が光合成依存的な孔辺細胞の PM  $H^+$ -ATPase のリン酸化によって駆動されていることが示唆された。

さらに、葉を用いる免疫組織化学法の汎用性を検証するため、表皮の単離を必要とする従来の手法では難しい実験の一例として、限られた枚数や大きさの葉を用いる必要が生じ得る遺伝学的スクリーニングに応用した。その結果、青色光を含む光照射下で、孔辺細胞の PM  $H^+$ -ATPase のリン酸化レベルが低下し、気孔開口が抑制された株などを実際に単離することに成功した。

本研究により、葉における赤色光による気孔開口の制御機構が明らかにされ、加えて、表皮の確保に依存しない汎用的な孔辺細胞の研究手法が確立された。