

# Identification and analysis of the CONVERGENCE of BL and CO<sub>2</sub> (CBCs) : key components of blue light and CO<sub>2</sub> signaling

樋山, 麻美

<https://doi.org/10.15017/1928617>

---

出版情報 : 九州大学, 2017, 博士 (理学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

氏 名 : 樋山麻美

論 文 名 : **Identification and analysis of the CONVERGENCE of BL and CO<sub>2</sub> (CBCs) -key components of blue light and CO<sub>2</sub> signaling-**  
(青色光と CO<sub>2</sub> のシグナルに関与する CBC の同定と解析)

区 分 : 甲

### 論 文 内 容 の 要 旨

植物の表面にある気孔は様々な環境シグナルによって開口、閉鎖する。特に光や CO<sub>2</sub> は植物にとって重要な同化反応である光合成に必要な要素であり、気孔開口のシグナルとして、そのメカニズムが明らかになっている。

青色光による気孔の開口は、青色光受容体フォトトロピンを活性化し、BLUE LIGHT SIGNALING1 (BLUS1) を介して細胞膜 H<sup>+</sup>-ATPase を活性化することにより、駆動される。このシグナルはタンパク質のリン酸化修飾を介して伝達されるが、未だに同定されていないキナーゼ、フォスファターゼの存在が示唆されており、未解明の部分も多い。私は新規因子探索のため孔辺細胞プロトプラストを材料としたリン酸化プロテオーム解析を行い、青色光特異的にリン酸化されるタンパク質として CBC1 を同定した。

CBC1 は MAPKKK に分類されるキナーゼであり、相同性の高い CBC2 と重複して働いていることが二重変異体を使った解析で明らかとなった。これらキナーゼも BLUS1 と同様に細胞膜 H<sup>+</sup>-ATPase の活性化メカニズムに関わると予想されたが、*cbc1 cbc2* 二重変異体では *blus1* 変異体のような青色光下での細胞膜 H<sup>+</sup>-ATPase 活性の欠損は観察されず、別のメカニズムに関与することが示された。

剥離表皮を使った実験の結果、*cbc1 cbc2* 二重変異体の表皮は低張液中では開口を保てないことがわかったこの結果より、*cbc1 cbc2* 二重変異体では気孔の開度を保持するための溶質がリークしているのではないかと考えた。*cbc1 cbc2* 二重変異体の表皮に気孔閉鎖の駆動力を形成する S-type イオンチャネルの阻害剤を加えると低張液中でも気孔は閉鎖せず、更に S-type イオンチャネル変異体との多重変異体では低張液中での気孔の閉鎖が見られなくなった。2007 年に Marten らは CO<sub>2</sub> によって活性化されたアニオンチャネルが青色光によって不活性化されることを報告している。CO<sub>2</sub> によって活性化させたアニオンチャネルが青色光で不活性化するかパッチクランプ法で確認したところ、*cbc1 cbc2* 二重変異体では青色光に依存したアニオンチャネルの阻害が観察されなかった。これらの結果から CBC1 と CBC2 はアニオンチャネルを青色光下で阻害することで気孔を開きやすくしていることが示唆された。

H<sup>+</sup>-ATPase の活性化メカニズムに関わるシグナルカスケードでは、青色光受容体のフォトトロピンによって BLUS1 が直接リン酸化される。孔辺細胞プロトプラストを使った結果より、*cbc1 cbc2* 二重変異体では BLUS1 を介した H<sup>+</sup>-ATPase の活性化は正常であったため、CBC1 及び CBC2 もフォトトロピンの直下に位置するのではないかと考えた。in vivo 及び in vitro の結合実験によって CBC1 も CBC2 もフォトトロピンと直接結合した。また、フォトトロピンに依存したリン酸化を in

*vivo* 及び *in vitro* で確認したところ、プロテオーム解析の結果と同様に CBC1 しかリン酸化されなかった。しかしながら、CBC1 と CBC2 はそれぞれ結合することが *in vitro* pull-down アッセイによって確認され、ホモダイマー及びヘテロダイマーを形成することで青色光のシグナルを伝達する可能性が示唆された。

加えて、*cbc1 cbc2* の変異体では CO<sub>2</sub> による気孔の開閉も小さくなった。また、赤色光下での気孔の閉鎖も小さく、CO<sub>2</sub> による気孔閉鎖のネガティブレギュレーターである *ht1* 変異体と表現型がよく似ていた。また、*in vitro* キナーゼアッセイの結果、HT1 によって CBC1 及び CBC2 がリン酸化された。

これらの結果から、CBC1 及び CBC2 は青色光及び CO<sub>2</sub> による気孔開口メカニズムに関わる新規因子であり、光と CO<sub>2</sub> のシグナルの中継点として働く可能性が示唆された。また、HT1 は今までアニオンチャネルと直接相互作用する可能性が高いと考えられていたが、今回の研究結果によって HT1 の下流因子の存在が示唆された。今後、CBC1、CBC2 の解析によって青色光及び CO<sub>2</sub> シグナルの新たな側面が明らかになることが期待される。