

植物細胞の分子レベルにおける複眼的な光情報受容*

古 谷 雅 樹**

1. はじめに

最近、人類もようやく光通信、光音声、光画像など、光を情報伝達に利用し始めた。それは、光が情報の伝達や変換に素晴らしい性質を示すからである。一方、菌類や藻類のような下等な植物からシダ類や種子植物等の高等植物に到るまで全ての植物は、何億年前の昔から、光の強度、波長（光形態形成）、照射方向（光走性、光屈性）、照射時刻（光周性）、偏光面の方向（偏光屈性、偏光走性）など様々な光の性質を、環境情報として巧みに利用することによって生体の機能を調節して、自らの生命を維持してきた。

この数年間、私が基生研で担当した部門では、植物が外界の光を環境情報として利用する仕組みを、分子と細胞のレベルで明らかにしようと試みてきた。即ち、光受容色素が 10^{-15} 秒と言う極めて短い時間のうちに光を捕獲する量子過程から始まって、生物が最終的に示す種々の反応が現れるまでの全過程を、一続きの時系列に沿った反応系として、細胞内の階層的構造と対応させて理解しようと意図して、研究を進めてきた。

2. 大型スペクトログラフの建設と作用スペクトルの測定

地球に太陽から届く光は、太陽の表面から発する紫外線、可視光、赤外光を含む広い波長範囲の光である。この内どの波長の光が生物に影響を与えるのか調べることは、細胞の中に存在して光を吸収する色素（光受容体）の化学的正体を調べる第一歩となる。この作用スペクトル測定には、人工的に虹を作ることが必要であるが、小さな虹では生物を並べると、いろいろな波長の光が同時にこの試料に当たるので、どの波長が効いたのか解らない。そこで、強い光源を備えた大型分光装置によって十分な光強度をもつ純粋な単色光を広い波長範囲で得ることが重要になる。幸い、基礎生物学研究所の創設にあたって、スペクトログラフ導入委員会を中心に我国斯界のあらゆる経験を投入して設計開発し、諸技術を集めて「世界で最も優れた性能の大型スペクトログラフ」を建設することができた¹⁾。おかげ様で最近の数年は新しい光依存反応が見つかり、この装置を利用するために、世界中から岡崎を訪れるようになって来た。

* 昭和62年5月30日に京都で行われる予定の基礎生物学研究所10周年記念講演会の講演要旨である。

** 現住所：理化学研究所 Frontier Research Programs

従来の文献による知見²⁾及び基生研の大型スペクトログラフで新しく測定された「光情報による植物調節現象に関する作用スペクトル」を眺めてみると、新しい光受容色素が続々見出されるのではなく、殆どの場合に H. A. Borthwick らが1952年に発見した赤・近赤外光可逆的反応か、あるいは 450nm 辺、370nm 辺、280nm 辺に作用極大を持つ青・紫外光反応（図1）を介して光を受容していることが解った。前者の光受容体は色素蛋白フィトクロムであるが、後者の光受容体の化学的正体は長年にわたる多くの人達の努力にもかかわらず、まだわかっていない。

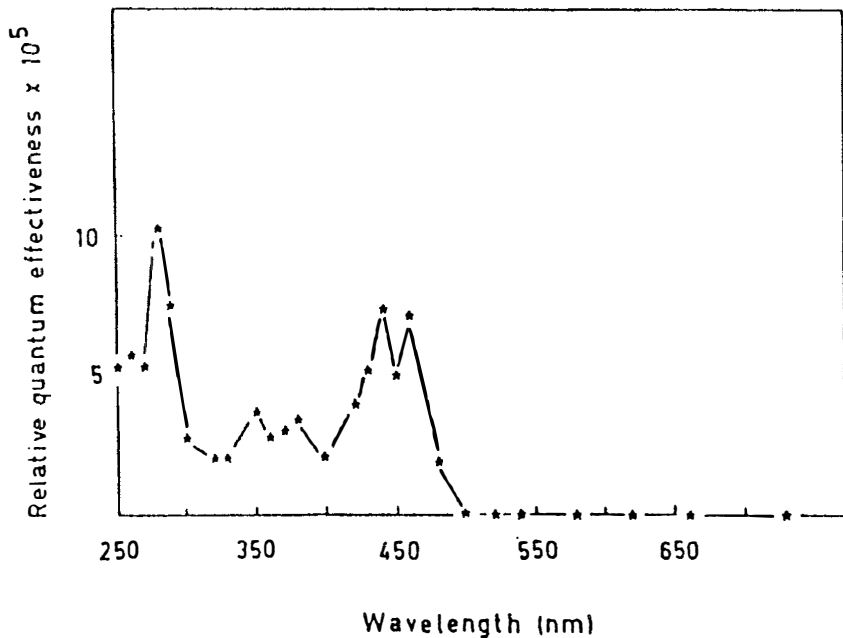


図1 青・近紫外光による作用
スペクトルの一例 (Durand & Furuya 1985)³⁾

光情報による植物の機能調節は、この何れか一つの光受容色素のみによって調節されているのではなく、赤・近赤外光可逆的反応と青・紫外光吸収色素との協同作用によって行われていることが一般である³⁾。例えば、シダ胞子の発芽はフィトクロムを介して僅かな光量の赤色光により引き起こされるが、この光発芽は僅かな光量の青色光をうけると抑制されてしまう。更に細胞の成長も細胞周期の進行制御も、フィトクロムと青・紫外光吸収色素によって拮抗的な調節を受けており⁴⁾、両者による調節は極めて一般的な現象である。

細胞内の酵素や遺伝子とおなじく光受容体も「存在する」と「働くこと」とは別である。微光束の単色光を用いて顕微照射を行うことにより、その作用をひきおこす光受容体の細胞内存在部位を調べてみると、フィトクロムと青色光受容色素は必ずしも同じ部位に存在するのではなく、セカンド

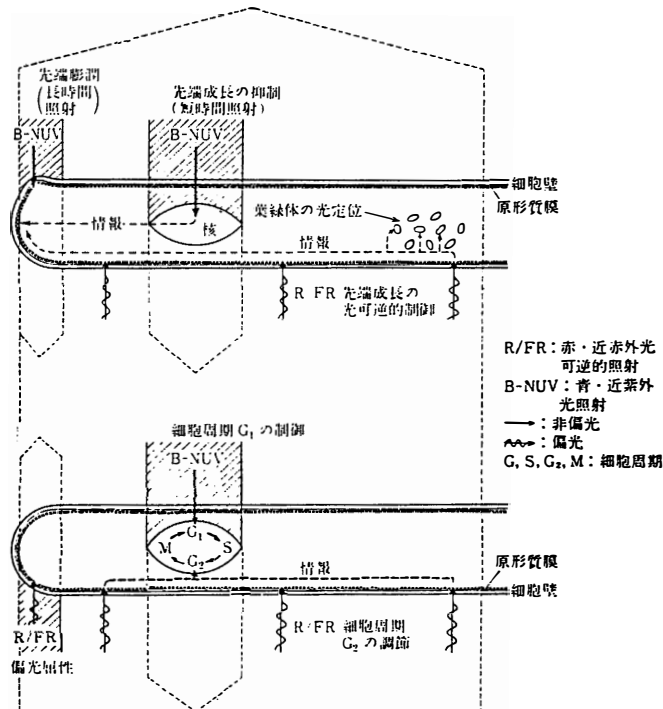


図2 顕微照射により得られた細胞内光受容部位を示す模式図
(古谷原図, 中山書店現代生物写大系別巻補遺 p. 103 より)

メッセンジャーによって光情報が反応を起こす場所に運ばれる事が解る (図2)。したがって、植物では個々の細胞が、異種の光受容色素を異なる部位にもって、環境の光情報を時々刻々複眼的に捕獲して細胞の機能を調節し、生命を保っているのである。

3. フィトクロムⅡの発見とその意義

植物は、フィトクロムを介して昼夜の長さを測り、その変化から四季の移り変わりを察知して、種子や冬芽の休眠やその解除、あるいは花芽分化の時期を決める。また明暗に応じて成長の速度を調節したり黄化現象をおこしたりする。フィトクロムの作用は、そのような発生物学的現象のみでなく、細胞周期の調節、イオンの膜透過、細胞壁の粘弾性緩和時間等多くの細胞生物学的現象や、遺伝子発現や酵素の活性調節などの分子生物学的反応まで、驚くほど広範に見いだされている⁵⁾。

フィトクロムは色素蛋白で、吸収スペクトルを赤色光吸収型 P_r と近赤外光吸収型 P_{fr} の間で光可逆的に変換する。アベナの黄化組織から得たフィトクロム単量体のアポ蛋白は1128個のアミノ酸から成る一本のペプチド鎖で、N末端から321番目のアミノ酸システインのS原子を介して1分子の発色団テトラピロールを持っている。水溶液中では二量体として存在する。このフィトクロムは暗所で P_r 型として生合成され、光を受けると生理学的に活性な P_{fr} 型に変わる。

フィトクロムの発見当初は、この光によって生じた P_{fr} と光誘導反応量とが対応を示すと期待された。しかし、二、三の例を除いて、この30年間に研究された殆どのフィトクロム依存反応では、分光光学的に測定される P_{fr} 量と生体反応は定量的対応を示さなかったのである。一方、光を受けて育った緑色組織細胞内のフィトクロム量は、黄化組織に比べて約2桁も少ない。また黄化組織を光の下におくと、 P_{fr} は半減期が数十分の速度で分解するが決して完全には無くならず、緑色組織と同じ程度僅かなフィトクロムはいつまでも残るので、これが生理作用の発現に関係するのではないかと、古くから考えられた。しかし、実験的な証拠は長いあいだ得られなかった。

従来、フィトクロムの検出や定量は分光光学的方法にすべて頼っていたが、近年免疫化学的手法の導入とともに緑色組織のフィトクロムの研究が漸く可能となった。我々も基生研の施設を利用することにより、単クローン性抗フィトクロム抗体を種々得ることが出来(図3)、1985年に、エンドウ緑色組織に存在するフィトクロムのアポ蛋白は、抗体に対する反応性(表1)やペプチドマップのパターンなどから、黄化組織から得たアポ蛋白と異なる事を見いだした⁶⁾。同年、アベナのフィトクロムでも類似の結果が米国で得られている^{7,8)}。我々は便宜上、従来から研究されている方をフィトクロム I、新しく発見した方をフィトクロム II とよぶことにした⁶⁾。両者の吸収スペクトルはほぼ同じであるので、発色団およびその周辺のペプチドは同じか、よく似たものであろうと考えている。

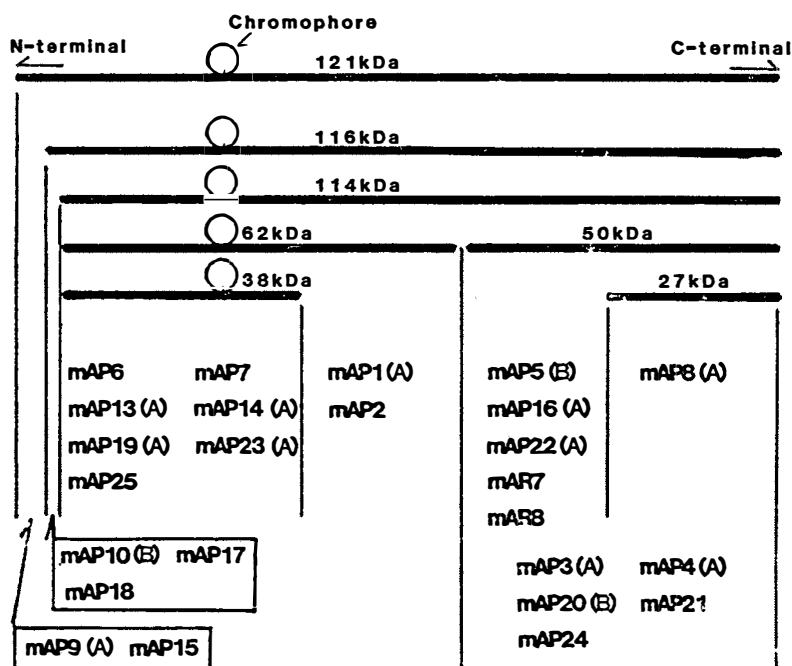


図3 単クローン性抗フィトクロム抗体 (mAP) のエンドウ121KDフィトクロムに対する反応部位
(Nagatani et al 1987)⁹⁾

Clone	assay	WB ^{a)}		IA ^{b)}		ELISA ^{c)}	
		PI ^{d)}	PII ^{e)}	PI	PII	PI	PII
mAP1 ^{f)}		—	—	+	—	+	—
mAP3 ^{f)}		+	—	+	—	+	ND
mAP4 ^{f)}		—	—	+	—	+	ND
mAP5 ^{f)}		+	+	ND	ND	+	ND
mAP10 ^{g)}		+	+	+	+	+	+
mAP11 ^{h)}		—	+	ND	ND	—	+
mAP12 ⁱ⁾		—	—	ND	ND	+	—
mAP13 ⁱ⁾		+	—	ND	ND	+	+
mAP14 ⁱ⁾		+	—	ND	ND	+	+

+: positive reaction

ND: not determined

—: negative reaction

a) western blotting

b) immunoaffinity column chromatography

c) enzyme-linked immunosorbent assay

d) phytochrome I purified from light-grown pea seedlings
(H. Abe et al. 1985)

e) phytochrome II purified from light-grown pea seedlings
(H. Abe et al. 1985)

f) monoclonal anti pea phytochrome antibody
(A. Nagatani et al. 1984)

g) monoclonal anti pea phytochrome antibody
(H. Abe et al. 1985)

h) monoclonal anti pea phytochrome antibody
(H. Abe et al. unpublished)

i) monoclonal anti pea phytochrome antibody
(A. Nagatani et al. unpublished)

表1 エンドウのフィトクロム I および II に対する単クローン性抗体の ASSAY による特徴⁹⁾

4. フィトクロム I と II の生合成

もし複数のフィトクロムのアポ蛋白が存在するならば、それらは同じ遺伝子から由来するのか、それとも異なる遺伝子から由来するのか、またフィトクロム I と II はそれぞれ細胞内の何処にあって何をしているのか、知りたいことが山のように出てくる。

エンドウの休眠種子が吸水して発芽する際、胚組織に含まれるフィトクロムの含量を分光光学的及び免疫化学的に測定してみると、休眠胚には何れの方法でもフィトクロムは殆ど検出されない。暗所ではフィトクロム I は吸水直後から急速に生合成されるが、明所ではかなり抑制される¹⁰⁾。一方、

フィトクロムⅡは明暗に係わらず、明所のⅠ型とほぼ同量つくられることがごく最近分かった。その結果、生育した芽生えの組織中には、フィトクロムは表2に示した程度含まれることが初めて分かった。

表2 エンドウ芽生え組織に含まれるフィトクロムⅠとⅡの光環境による量的変化

光条件	フィトクロム ($\mu\text{g/gfw}$)	
	Ⅰ	Ⅱ
暗 黒	1.0	0.2
明 所	0.2	0.2

発色団テトラピロールの生合成阻害剤ギャバクリンを胚組織に与えてみると、発色団の合成は完全に抑制できるが、その時にはアポ蛋白の合成は正常に続けられるので、両者の合成経路は独立に進んでいるように見える。

フィトクロムの生合成の過程は、蛋白レベルのみでなく、フィトクロム mRNA について *in vitro* 翻訳活性やフィトクロム cDNA を用いた定量により調べることが出来る。フィトクロム mRNA の翻訳活性は、明所で発芽させた種子の胚組織では暗所の約半分に落ちるが¹¹⁾、5日間の暗所で育てた芽生えの上胚軸組織では、赤色光をごく僅か受けただけで、殆ど翻訳活性を失う¹²⁾。この事は cDNA を用いた実験でも同様な結果が得られる。したがって、フィトクロム mRNA の生合成に対する光の作用は、発育の時期によってことなるらしい。

更に、単離核を用いてフィトクロム遺伝子の転写速度を測ってみると、赤色光を受けた組織では抑制され、その効果は引続き与えられた近赤外光によって可逆的に解除される（富沢ら、未発表）ので、フィトクロム遺伝子の転写速度は、フィトクロムを介して光の調節を受けている。

5. フィトクロムの一次作用

フィトクロムの発色団が光子を吸収する量子過程に要する時間は、 10^{-15} 秒程度と考えられている。光を吸収したフィトクロムは、 P_r から P_{fr} へ直接変化するのではなく、極低温スペクトル測定や閃光実験の結果、幾つかの寿命の短い不安定な中間体を経て、光変換する¹³⁾。それでは、フィトクロムの光変換にともなって、どのような仕組みによってフィトクロムは細胞内に信号を発するのであろうか。

フィトクロムの一次作用は「細胞膜の機能調節による」と言う考えを支持する証拠が次第に集まってきた。例えば、シダ原系体細胞の先端は照射された赤色偏光の振動面の方向に応じた向きに成長する。この赤色偏光が誘導する「偏光屈性」は引続き与えられる近赤外偏光によって可逆的に打ち消されるが、両者の有効な偏光の E ベクトルの方向は約90度も異なり二色性を示す¹⁴⁾ので、フィトクロム分子は細胞内で然るべき構造と結合して一定の配向を保って存在していると思われる。この細長い

糸状の原糸体細胞の長軸方向に遠心力をかけて細胞質を除いた後、原形質膜に顕微偏光照射を行っても、全く同様に偏光屈性の二色性が認められるので、フィトクロムは原形質膜に存在することが解る¹⁵⁾。電子論に基づく計算によると、 P_r と P_{fr} とで発色団の遷移能率の方向は約30度しか変わらないので、上記の二色性は発色団の変化だけでは説明できない。おそらく光を受けた発色団の変化が、アポ蛋白に大きな三次構造変化を引き起こす結果、発色団の向きが90度近くも変わると考えられる⁵⁾。

それでは、このようなフィトクロム分子の配向変化は、 P_r から P_{fr} へ光変換する過程の何処で起きるのであろうか。これに答えるために、赤色偏光と近赤外偏光の閃光について偏光面を任意に変えられる色素レーザーを2台作り、赤色偏光閃光をシダ原糸体に先ず照射したのち、2マイクロ秒、2ミリ秒、20秒の後に近赤外偏光閃光を種々の偏光面で照射して、各々の時期に存在している中間体 I_{692} と I_{b1} および P_{fr} に対する光可逆性を調べてみると、 I_{692} と I_{b1} は P_r とほぼ同じ方向の偏光面が有効であったのに対して、 P_{fr} は P_r と直向する偏光面が有効であったので、フィトクロム分子は I_{b1} から P_{fr} へと変わる過程で大きく高次構造を変化することが示唆された¹⁶⁾。その変化が原形質膜に影響を与えることにより、膜機能の調節が行われていると考えられているが、その実態はまだ解っていない。

生物の発生や形態形成には、必然的に新しい物質の生合成を伴うから、フィトクロムの作用は遺伝子の調節に関与するはずであると、長年考えられてきたが、近年の分子生物学の目ざましい発展は、その実例を沢山示すことになった。植物細胞では、遺伝子は核の中だけでなく、葉緑体にもミトコンドリアにも存在する。現在、核と葉緑体に含まれる遺伝子のうち、約50の遺伝子の発現は、光情報によって調節を受けていることが知られているが、ミトコンドリアについては未知である。例えば葉緑体に含まれるリブローズ二リン酸カルボキシラーゼは核遺伝子によるサブユニットと葉緑体遺伝子によるサブユニットとからなり、その何れの遺伝子発現もフィトクロムの調節を受けている。更に興味あることは、フィトクロム自身の遺伝子発現がフィトクロムを介して光によって調節されていることである。また、フィトクロムに加えて、青・近紫外光受容色素も遺伝子発現の調節に関与しているらしい。しかし、何れの場合も、詳細な分子機構の解明は今後の課題である。

6. おわりに

近代生物学の発展は、複雑な生命現象を素過程に分けて、解析するところから始まった。

生物が環境の光条件の変化を情報として捕らえて生体機能を調節する分子機構を理解するためには、時系列にそった解析に合わせる、生物の複雑な階層的構造を調べなければならない。光捕獲の後におきる時系列に沿った一連の変化の一例を前章で述べたが、時系列にそった各過程を光受容の階層構造と対応させてみると、フェント秒でおきる光子の捕獲は量子レベルの現象である。それに発色団原子・分子の励起緩和の過程が続き、さらにアポ蛋白の変化はナノメートル(nm)レベルの構造の話となる。それに引続いてミリ秒でおきる光受容膜や細胞内構造の反応はマイクロメートル(μm)レベルの出来事であり、更に分や時の単位でみられる組織や器官などの反応はミリメートル(mm)レベルの現象である。このように時間的には十数桁、空間的にも十桁に及ぶ現象を光生物学では扱うことになる。

光生物学の現状は、これらを総て理解しているわけではなく、その全貌を掴む糸口に辿り着いたところと言えよう。今後は、個々の解明された素過程をさらに積み重ねて、高次の生命現象である光情報受容による生体機能調節の分子機構を明らかにしたいと願っている。（情報制御研究部門教授）

引用文献

- 1) Watanabe, M., Furuya, M., Miyoshi, Y., Inoue, Y., Iwahashi, I., Matsumoto, K. (1982) *Photochem. Photobiol.* 36 : 491—498.
- 2) Shropshire, W., Mohr, H. (ed.) (1983) *Encycl. Pl. Physiol.* 16A & B. Springer Verlag.
- 3) Durand, R., Furuya, M. (1985) *Plant Cell Physiol.* 26 : 1175—1183.
- 4) Furuya, M. (1983) *Encycl. Pl. Physiol.* 16B : 569—600. Springer Verlag, Berlin.
- 5) 古谷雅樹 (1986) *化学と生物* 24:362—371.
- 6) Abe, H., Yamamoto, K. T., Nagatani, A., Furuya, M. (1985) *Plant Cell Physiol.* 26:1387—1399.
- 7) Tokuhisa, J. G., Daniels, S. M., Quail P. H. (1985) *Planta* 164:321—332.
- 8) Shimazaki, Y., Pratt L. H. (1985) *Planta* 164 : 333—344.
- 9) Nagatani, A., Lumsden, P. J., Konomi, K., Abe, H. (1987) In : Furuya, M. (ed.) *Phytochrome and Photoregulation in Plants*, Academic Press (in press).
- 10) Konomi, K., Nagatani, A., Furuya, M. (1985) *Photochem. Photobiol.* 42 : 649—653.
- 11) Sato, N., Furuya, M. (1985) *Plant Cell Physiol.* 26 : 1511—1517.
- 12) Otto, V., Schäfer, E., Nagatani, A., Yamamoto, K. T., Furuya, M. (1984) *Plant Cell Physiol.* 25 : 1579—1584.
- 13) Furuya, M. (1983) *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 303, 361—375.
- 14) Kadota, A., Wada, M., Furuya, M. (1982) *Photochem. Photobiol.* 35 : 533—536.
- 15) Wada, M., Kadota, A., Furuya, M. (1983) *Plant Cell Physiol.* 24 : 1441—1447.
- 16) Kadota, A., Inoue, Y., Furuya, M. (1986) *Plant Cell Physiol.* 27 : 867—873.