

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 26 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

(2) 研究成果の概要

課題名		葉緑体光定位運動に関わる信号伝達系因子複合体の単離	
研究代表者	氏名	和田 正三	
	所属機関名・部局名	東京都立大学・理学研究科	
	職名	客員教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		○	共同研究員
			超高磁場NMR 共同利用研究課題
			クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題
			客員フェロー
蛋白研受入担当教員名		中井正人	

葉緑体光定位運動は、植物の葉緑体が弱い光に集まることで光合成を効率化し、逆に強い光から逃れるように移動することで障害を防ぐ、植物の生存に必須の生理反応である。本研究は葉緑体光定位運動において未だ明らかにされていない信号伝達のメカニズムを明らかにすることを目指し、葉緑体光定位運動の既知因子複合体の単離を介して新規制御因子を特定することを目的としている。

昨年度までの共同研究では、葉緑体光定位運動を制御する青色光受容体 **phot2**、及び葉緑体の運動系に働く **CHUP1** タンパク質それぞれとの相互作用が期待される新規候補因子について **56** の変異体を得た。葉の光透過率を利用した方法で、葉緑体光定位運動が低下する変異体を探索したが、顕著なものは見られなかった。当時の問題点として、光透過率実験に先行して行われる暗順応の過程が不十分であり、野生型の反応も低く検出されてしまっている可能性が考えられた。本年度の実験ではその点を改善し、野生型において同実験を行う先行研究と同程度の反応を観測した。その上で新規候補因子変異体での実験を 2・3 回にわたり繰り返しおこなった結果、葉緑体の集合反応が低下する変異体、または逃避反応が低下する変異体、そしてその両方が低下する変異体が高い再現性のもと確認された。

光透過率実験によって葉緑体光定位運動への関与が示唆された因子のいくつかは、**56** の候補因子の中に同一遺伝子ファミリーに属するものが含まれている。これら複数の因子による冗長的な制御を検証するため、本年度の後半では変異体の掛け合わせを行った。また生細胞内での新規候補因子の局在や、動態観察のための GFP 融合型タンパク質の発現系や、細胞内での **phot2**、または **CHUP1** タンパク質との相互作用を観察する為の BiFC 実験に用いるコンストラクトの作成も終了している。

本年度の研究により、葉緑体光定位運動における新規制御因子の候補が絞り込まれ、今後の機能解析にむけた準備を整えることができ、将来的な葉緑体光定位運動メカニズムの解明に向けた進展が得られた。