

アメリカネムノキの葉の運動を駆動する 温度センサーイオンチャネル SPORK2 の温度感知機構の解明

東北大学大学院理学研究科化学専攻 博士後期課程 3 年 (助成時)
東北大学大学院工学研究科バイオ工学専攻 博士研究員 (現在)

村岡 勇樹

【序】生物にとって温度感知は必須の機能である。動物では、 Ca^{2+} チャネル TRP が温度センサー分子として機能するが、陸上植物では TRP のような温度センサー分子は知られていない。

マメ科植物アメリカネムノキ (*Samanea saman*) は、昼間は葉を開き夜になると葉を閉じる就眠運動を行う (図 1a)。この運動は、葉の付け根部分にある運動細胞の体積変化によって生じる (図 1b)。これに加えて、アメリカネムノキは雨が降ると昼間でも葉を閉じることが知られており、「レインツリー」と呼称されている。この現象

の詳細なメカニズムは明らかではないものの、所属研究室では、雨による葉温の低下が閉葉運動の鍵となっていることを示唆する結果を得ている。本研究では、就眠運動を制御するイオンチャネル (SPORK2/SsSLAH1-3 複合体; 図 1b) に着目し、低温による閉葉運動の分子機構を解明した。

1. アメリカネムノキの低温誘導性閉葉運動の解析

アメリカネムノキを人工気象室内に置き、室温を変化させたときの葉の温度と運動を観察した。その結果、葉温が約 22 °C まで下がると葉は顕著に閉じ始めた。続いて、単離した運動細胞を含む緩衝液の温度を 30 °C から 22 °C に下げると、運動細胞の体積は約 5% 増加した。さらに、単離した運動細胞で電気生理学的測定を行ったところ、外向き K^+ 電流は 30 °C に比べて 15 °C で強く不活性化されることが分かった (図 2a)。そこで、アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 卵母細胞異種発現系による電気生理学的測定を行ったところ、SPORK2 の外向き K^+ 輸送活性は強い温度感受性を示し、低温で強く不活性化されたが、SsSLAH1-3 複合体の Cl^- 輸送活性は温度感受性を示さなかった (図 2b、2c)。また、アブラナ科シロイヌナズナ (*Arabidopsis*

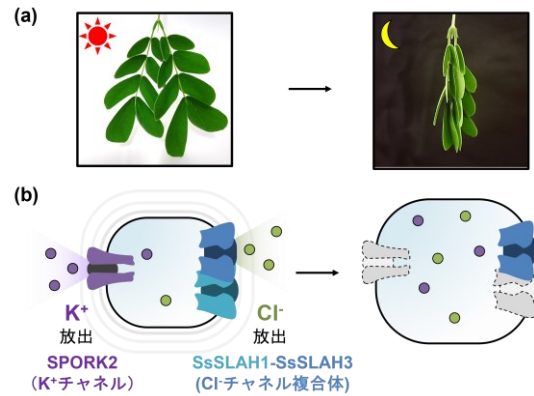


図 1. (a) アメリカネムノキの就眠運動. (b) 運動細胞の体積変化機構.

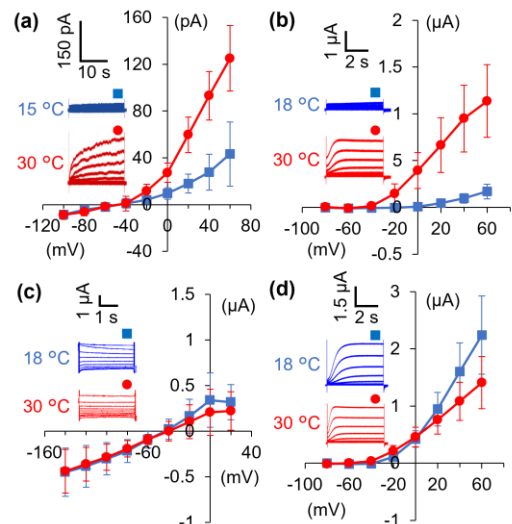


図 2. 運動細胞 (a), SPORK2 (b), SsSLAH1-3 (c), GORK (d) から得られた電流-電圧曲線.

thaliana) の SPORK2 オルソログ (GORK) は高温で不活性化された (図 2d)。従って、アメリカネムノキの「レインツリー」現象の分子機構は以下のように推定された: 雨によって葉温が低下すると温度感受性をもつ SPORK2 の外向き K⁺ 輸送活性が大きく低下するため、イオン放出活性が低下した運動細胞は膨張し、葉が閉合する。

2. SPORK2 の温度依存的活性制御機構の解析

高温で活性化する SPORK2 と低温で活性化する GORK の間で、アミノ酸配列の相同性が低いドメインを交換したキメラを作成し、交換により温度感受性が変化するドメインを探索した。SPORK2 と GORK の間で特に配列一致率が低い N 末端 (16%)、TM3 (64%)、C 末端 (64%) ドメイン (図 3a) をそれぞれ交換したところ、N 末端の交換では温度感受性に変化はなかったが、TM3 ドメインを交換した SPORK2 (SPORK2 TM3^{GORK}) は、野生型 SPORK2 に比べて温度感受性が約 3 倍上昇した (図 3b、3f)。C 末端全体を交換したときは輸送活性が消失したため、C 末端を構成する 4 つのサブドメインをそれぞれ交換したキメラを作成したところ、C-linker を SPORK2 のものに交換した GORK (GORK C-linker^{SPORK2}) は、野生型 SPORK2 と同様に高温で活性化するようになった (図 3c、3f)。そこで、TM3 と C-linker を同時に GORK のものに交換した SPORK2 (SPORK2 TM3+C-linker^{GORK}) を解析したところ、このキメラは GORK と同様に高温で不活性化した (図 3d、3f)。一方で、同様のドメインを交換した GORK のキメラ (GORK TM3+C-linker^{SPORK2}) は、高温で活性化された (図 3e、3f)。以上のドメイン交換実験の結果から、TM3 と C-linker が SPORK2 の温度感受性を制御することが明らかになった。

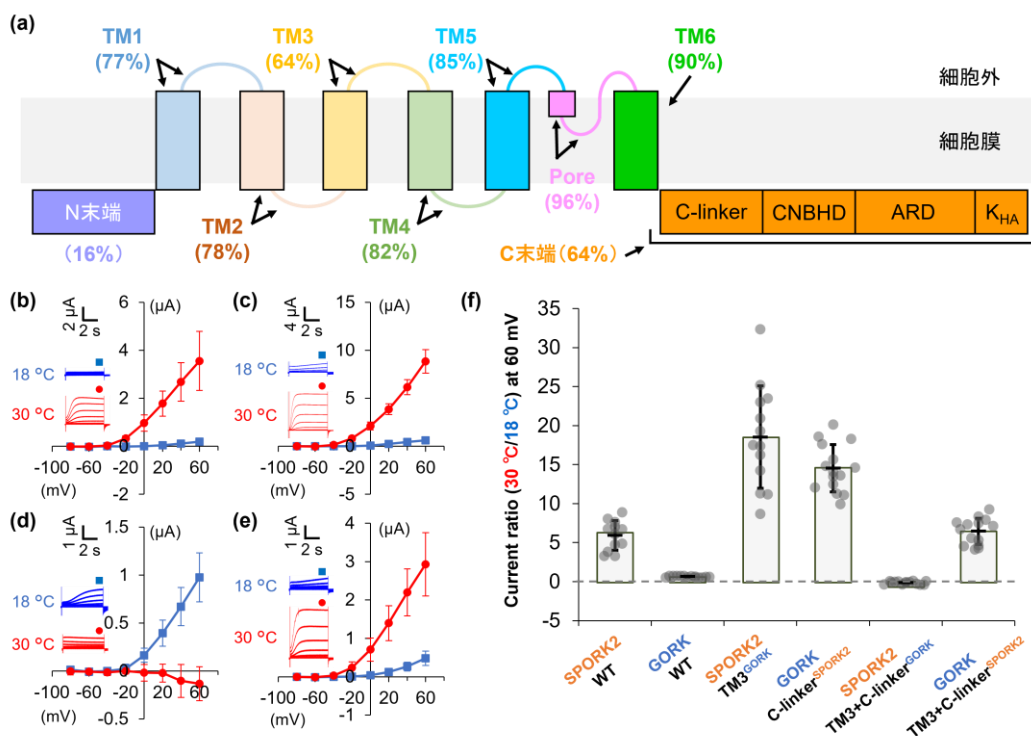


図 3. (a) SPORK2 と GORK を構成する各ドメインのアミノ酸配列一致率. (b-f) SPORK2 TM3^{GORK} (b), GORK C-linker^{SPORK2} (c), SPORK2 TM3+C-linker^{GORK} (d), GORK TM3+C-linker^{SPORK2} (e) から得られた電流-電圧曲線. (f) 30 °C と 18 °C での輸送活性の比.

【発表論文】 Muraoka, Y., Ueda, M. *et al.*, *Curr. Biol.* **2023**, *24*, 5488-5494.