

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24870003

研究課題名(和文) 光合成光阻害耐性変異体の探索

研究課題名(英文) Searching mutants related to photoinhibition tolerance

研究代表者

小口 理一 (Riichi, Oguchi)

東北大学・生命科学研究科・助教

研究者番号：10632250

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、2次元クロロフィル蛍光装置を利用し、光阻害耐性に変異を持つ植物の探索を目的とした。

薬剤処理で変異を誘発した個体とcontrolの野生型とを、2次元でのクロロフィル蛍光が測定可能なクロロフィル蛍光測定装置を用いて比較することで、光阻害の程度が有意に野生型と異なるものを探索した。

これまでに約7000個体で、スクリーニングを行い、118個体の変異体候補が探索されてきた。この得られた変異体候補を用いて、詳細な形質評価を行う事で、どのような遺伝子が光阻害耐性に関わっているのかを明らかにし、光阻害および光防御のメカニズムをより詳細に明らかにして行く事ができると考える。

研究成果の概要(英文)：The objective of the present research is searching plant mutants related to photoinhibition tolerance, using a 2D chlorophyll fluorometer.

Control plants and mutation induced plants were photoinhibited in high light condition, and the extent of photoinhibition was evaluated by a 2D fluorometer. Target plants which have significantly different tolerance to photoinhibition were searched.

About 7000 plants were screened and 118 mutant candidates were found. Detailed phenotyping of these mutants will lead to identification of genes related to photoinhibition tolerance. This will contribute to the elucidation of the mechanisms of photoinhibition and photoprotection.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生態・環境

キーワード：光合成 光阻害 光保護 光化学系II

1. 研究開始当初の背景

植物が行う光合成は、太陽エネルギーを利用して、大気 CO₂ と水から炭水化物を合成することで、地球上の全生物の生存を支えている。また、持続可能エネルギーとして近年注目されるバイオ燃料も光合成によって生成される。さらに、持続可能社会の実現のためには、現在の化石燃料に頼る合成樹脂や化学繊維から脱却し、光合成由来の天然材料の利用へと転換が求められている。

光は光合成に欠くことの出来ないエネルギーだが、強すぎる光は光合成器官に損傷を与え、光合成の低下をもたらす。これは光障害と呼ばれ、農・林業生産物の収量低下をもたらす。また、乾燥・高温といったストレス下で光障害は強まるため、荒廃地・不適土壌といった場所での森林再生の妨げにもなっている。光障害メカニズムの解明は、農・林業の生産向上、バイオ燃料生産技術の向上、砂漠地帯や荒廃地での森林再生技術の向上を介して、食料問題や地球温暖化問題といった持続可能社会実現に向けた大きな課題の解決に貢献できると考えられている。そのため、光障害のメカニズム及び光障害耐性機構については多くの研究が進められている。しかし、未だそのメカニズムには不明な部分が多い。例えば、光障害は主に光化学系 II の失活が原因とされているが、そのメカニズムには複数の異なる説が提唱され、しばしば論争を引き起こしている。先日、植物生理分野の権威的な国際誌の一つである *Physiologia Plantarum* (2011 年 142 巻 1 号)において、光障害のメカニズムに関して特集号が組まれた事は、このテーマの重要性と注目度を表している。

2. 研究の目的

光は植物が光合成を行うために必須なエネルギー源であるが、強すぎる光は光合成器官に傷害をもたらす、光合成活性や成長速度を低下させる事が知られている。この現象は、光障害と呼ばれ、農林産物の生産を低下させる事から、世界的に広く注目され、そのメカニズム及び植物自身が持つ回避能力について多くの研究が成されている。しかし、いまだそのメカニズムは不明な点が多く、回避方法が明らかでないため、農林産物の生産量が光障害により 2 割も低下しているという報告がある。

本研究では、申請者が所属する東北大学生命科学研究科機能生態学分野が所有する、2次元クロロフィル蛍光装置による変異体スクリーニングシステムを利用し、光障害耐性に変異を持つ植物を探索する事を目的とする。将来的にその変異体の光障害耐性が異なるメカニズムおよび関連遺伝子を明らかにして行く事で、農林産物および有用植物の光障害耐性向上を介した生産向上が期待できる。

3. 研究の方法

EMS 処理により遺伝子の変異を誘発したシロイヌナズナを生育し、光障害修復機構を阻害した状態で光障害処理を行い、光障害の程度が野生株と有意に異なる個体をスクリーニングした。スクリーニングには 2 次元でのクロロフィル蛍光が測定可能なクロロフィル蛍光測定装置を用いた。これにより、スクリーニングの効率は飛躍的に上昇した。

材料と生育条件

材料には、Ethyl methanesulfonate(EMS)を処理し、遺伝子の変異を誘発したシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana* L.) トライコーム欠損変異体 *glabra1(gl1)* の M2 個体群および野生株 Columbia(Col-0) の M2 個体群を使用した。これらの個体を下記の生育条件で生育し、スクリーニングした。スクリーニング時の control には EMS 処理を行っていない Col-0 および *gl1* を使用し、比較した。

ロックウール上に播種し、所属研究室が所有するグロースチャンパー(Biotron、日本医化器械製作所)にて、白色光を次の周期で照射して生育した(160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$:4.5 時間、600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$:1 時間、160 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$:4.5 時間、0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$:14 時間)。気温は 20℃、相対湿度は 60%で生育。栄養塩はハイポネックス(ハイポネックスジャパン、N : P : K; 6 : 10 : 5)を水で 1000 倍に希釈して与えた。

光障害処理方法

ロックウール上に生育したシロイヌナズナから葉を採取し、光障害修復系阻害剤であるリンコマイシン溶液を入れた容器に入れ、リンコマイシン溶液を吸わせる。これにより、葉にリンコマイシンが蓄積し、光障害修復系が阻害される事は既に先行研究で確認されている。その後、白色光(1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)で 1 時間光障害処理を行い、その後 30 分間、暗黒下で熱放散による見かけの光合成活性の低下を回復させる。

スクリーニング方法

光障害処理したシロイヌナズナの葉を容器ごと二次元クロロフィル蛍光測定装置(FluorCam, Photon Systems Instrument)内に移し、最小クロロフィル蛍光強度(F_0)および最大クロロフィル蛍光強度(F_m)を測定し、光化学系活性と相関が高い F_v/F_m ($F_v = F_m - F_0$)から光障害の程度を測定した。 F_v/F_m の低下が Control より有意に異なるものをスクリーニングする事で、光障害メカニズムに関わる変異体を探索した。

4. 研究成果

約 7000 個体で、一次スクリーニングを行い、118 個体の変異体候補が探索されてきた。

(光阻害の感受性が高いものが 98 個体、光阻害耐性が高いものが 12 個体、拳動に顕著な違いが見られたものが 8 個体。)この得られた変異体候補を用いて、詳細な形質評価を行う事で、どのような遺伝子が光阻害耐性に関わっているのかを明らかにし、光阻害および光防御のメカニズムをより詳細に明らかにして行く事ができると考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

小口理一、光阻害の原因が複数のメカニズムの同時寄与である可能性-解説特集「光阻害」、光合成研究、査読有、23 (2)巻、2013 年、64-70

<http://photosyn.jp/journal/kaiho67.pdf>

Jiancun Kou, Shunichi Takahashi, Riichi Oguchi, Da-Yong Fan, Murray R Badger and Wah Soon Chow, Estimation of the steady-state cyclic electron flux around Photosystem I in spinach leaf discs in white light, CO₂-enriched air and other varied conditions.、Functional Plant Biology、査読有、40 巻、2013 年、1018-1028
doi.org/10.1071/FP13010

Yuan-Yuan Hu[†], Riichi Oguchi^{*}, Wataru Yamori, Susanne von Caemmerer, Wah Soon Chow and Wang-Feng Zhang^{*}, Cotton bracts are adapted to a micro-environment of concentrated CO₂ produced by rapid fruit respiration.、Annals of Botany、査読有、112 巻、2013 年、31-40

doi: 10.1093/aob/mct091

[†]: joint first authors, ^{*}: joint corresponding authors

Jiancun Kou, Riichi Oguchi, Da-Yong Fan and Wah Soon Chow, The time course of photoinactivation of photosystem II in leaves revisited.、Photosynthesis Research、査読有、113 巻、2012 年、157-164

DOI: 10.1007/s11120-012-9743-8

Wah Soon Chow, Da-Yong Fan, Riichi Oguchi, Husen Jia, Pasquale Losciale, Youn-Il Park, Jie He, Gunnar Öquist, Yun-Gang Shen, Jan M Anderson、Quantifying and monitoring functional Photosystem II and the stoichiometry of the two photosystems in leaf segments: Approaches and approximations、Photosynthesis Research、査読有、113 巻、2012 年、63-74

DOI: 10.1007/s11120-012-9740-y

Yuan-Yuan Hu, Ya-Li Zhang, Hong-Hai Luo, Wei Li, Riichi Oguchi, Da-Yong Fan, Wah Soon Chow and Wang-Feng Zhang, Important photosynthetic contribution

from the non-foliar green organs in cotton at the late growth stage.、Planta、査読有、2012 年、235 巻、325-336
DOI 10.1007/s00425-011-1511-z

〔学会発表〕(計 8 件)

Yuanyuan Hu, 小口理一、矢守航、Susanne von Caemmerer, Wah Soon Chow, Wang-Feng Zhang、ワタの蒴果の高い呼吸速度によって生じる高 CO₂ 環境に対する包葉の適応、第 77 回日本植物学会大会、2013 年 9 月 13 日、札幌

Yuan-Yuan Hu, Riichi Oguchi, Wataru Yamori, Susanne von Caemmerer, Wah Soon Chow and Wang-Feng Zhang, Adaptation of cotton bracts to a micro-environment of concentrated CO₂ produced by rapid fruit respiration、The 16th International Congress on Photosynthesis、2013 年 8 月 13 日、アメリカ

小口理一、Wah Soon Chow、寺島一郎、高等植物におけるクロロフィル蛍光による光合成活性測定誤差の誤差、第 60 回日本生態学会大会、2013 年 3 月 6 日、静岡

小口理一、光環境の変化に対する葉の光合成光馴化および光阻害のメカニズム、平成 24 年度日本植物学会奨励賞受賞講演、2012 年 9 月 16 日、姫路

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

小口理一のホームページ 東北大学生命科学研究科

<http://hostgk3.biology.tohoku.ac.jp/ogu>

chi/oguchihome.html

東北大学大学院生命科学研究科 小口理一

http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/teacher/a_oguchi/

小口理一助教が「平成 25 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞」を受賞

<http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/award/15808/>

受賞

平成 25 年 8 月 16th International Congress on Photosynthesis Research

The Walz Award 受賞

平成 25 年 4 月 平成 25 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者

賞受賞

平成 24 年 9 月 第 9 回日本植物学会 奨励賞受賞

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小口 理一 (OGUCHI, RIICHI)
東北大学・大学院生命科学研究科・助教
研究者番号： 10632250

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：