

令和 3 年 4 月 8 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07430

研究課題名(和文) クロロフィル分解により誘導されるジャスモン酸を介した核の遺伝子発現制御

研究課題名(英文) Regulation of nuclear gene expression by jasmonate induced by chlorophyll degradation

研究代表者

伊藤 寿 (Ito, Hisashi)

北海道大学・低温科学研究所・助教

研究者番号：50596608

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の中心的な課題として、クロロフィル分解とジャスモン酸合成の関係の解明がある。植物はジャスモン酸などの植物ホルモンの働きにより老化し、その結果クロロフィルが分解されると考えられてきた。しかし本研究により、クロロフィルが分解されるとジャスモン酸が合成され、老化関連の遺伝子の発現が誘導される、つまり老化が促進することが示された。この結果は、クロロフィルの分解が植物ホルモンを介して老化を促進していることを示唆している。本研究は、植物のクロロフィル分解の新しい役割を示したものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

葉が黄色くなるのは、植物が枯れるときに一番目に付く特徴です。このような葉の色の変化は、光合成色素のクロロフィルが分解されることで起きます。これまで植物ホルモンが葉の老化を進めて、その結果クロロフィルが分解されて葉が黄色になると考えられていました。しかし本研究では、クロロフィルの分解によって植物ホルモンの合成が合成され、その結果葉の老化が進むことが示唆されました。このような観察から、クロロフィルの分解と植物ホルモンの合成が相乗的に影響しあい、葉の老化を速やかに進めていると考えられます。

研究成果の概要(英文)：One of the central issues in this study is the elucidation of the relationship between chlorophyll degradation and jasmonic acid synthesis. It has been thought that plants senescence is proceeded through the action of plant hormones such as jasmonic acid, which results in the degradation of chlorophyll. However, this study showed that the degradation of chlorophyll leads to the synthesis of jasmonic acid, which induces the expression of senescence-related genes, i.e., accelerates senescence. This result suggests that chlorophyll degradation promotes senescence by plant hormones. This study demonstrates a new role for chlorophyll degradation in plants.

研究分野：植物生理学

キーワード：クロロフィル 老化 ジャスモン酸

1. 研究開始当初の背景

葉緑体は植物細胞の中では独立した器官として存在している。しかし葉緑体のタンパク質の多くは核にコードされている。そのため、葉緑体の多くの機能は核の遺伝子発現によって制御されている。その一方で、葉緑体から核へ何らかのシグナルが伝わり、葉緑体が核の遺伝子発現を制御する現象が存在し、レトログレードシグナルと呼ばれている。このような葉緑体による細胞機能の制御はこれまで精力的に研究されてきた。しかしレトログレードシグナルの分子の実体については不明な点が多いため、葉緑体による核の遺伝子発現制御の解明の妨げとなっている。

クロロフィル分解は、環境の変動や遺伝的なプログラム(老化)によって制御されており、これらの最終的なプロセスと考えられてきた。そのため、クロロフィルの分解が核の遺伝子発現にどのような影響を及ぼすかについて調べた研究はない。また、クロロフィル分解を植物で任意に誘導することができなかったことも、クロロフィル分解と核の遺伝子発現が結び付けられなかった理由の一つである。

このような研究動向の中にあって、本研究はクロロフィルの分解によって生じる、葉緑体から核へのシグナル伝達についての初めての研究である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、クロロフィルの分解が核の遺伝子発現を制御し、その過程にジャスモン酸が関わっていることを明らかにすることである。最近我々はクロロフィル分解の最初の反応を行う酵素(SGR)を同定した。その遺伝子をシロイヌナズナで一過的に発現し、クロロフィルの分解を誘導したところ、様々な遺伝子の発現量が変化した。その中でも特にジャスモン酸関連の遺伝子の変化が顕著であった。この結果はこれまで考えられていたような、植物の老化がジャスモン酸などを介してクロロフィルの分解を誘導するというモデルとは逆の現象であり、クロロフィルが分解するとジャスモン酸の量が増え、遺伝子発現が変化することを示唆している。本研究において、クロロフィルの分解を利用して、葉緑体から核への情報伝達機構を明らかにする。さらに、光合成活性の測定を通して、クロロフィルの分解が老化の進行にどのような影響を与えるかを検証する。

3. 研究の方法

(1) クロロフィルの分解を介して生じるジャスモン酸の測定

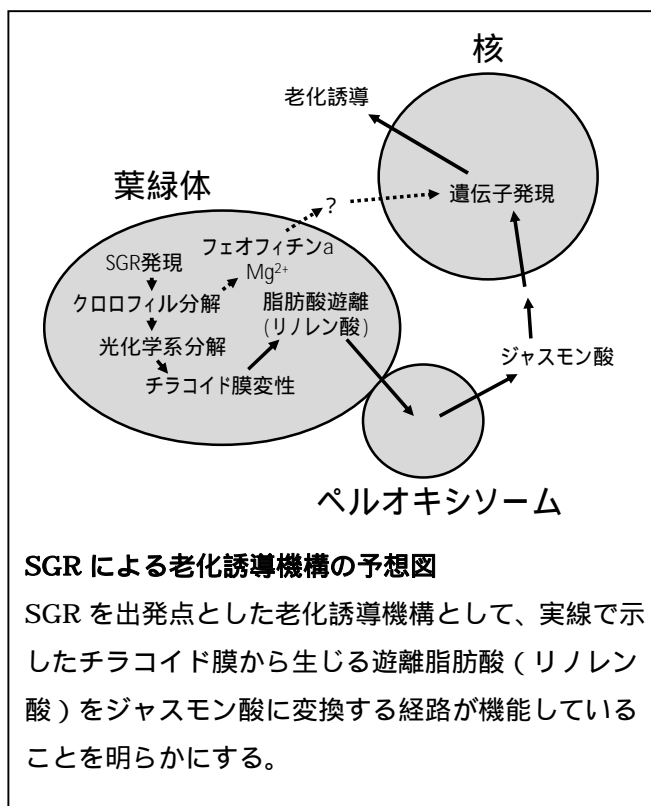
この実験の目的は、クロロフィルの分解による遺伝子発現調節にジャスモン酸が関与していることを明らかにすることである。

申請者はクロロフィルが分解されるとクロロフィルタンパク質も分解されることをすでに明らかにしている。クロロフィルタンパク質の分解に伴ってチラコイド膜が不安定になり、チラコイド膜脂質がリパーゼにより分解されて遊離リノレン酸が生じていると予想した。リノレン酸が供給されるとジャスモン酸まで代謝される。そこで、クロロフィル分解誘導後のジャスモン酸の定量を行う。この実験より、クロロフィル分解によるジャスモン酸の増加が明らかになると期待される。

(2) クロロフィルの分解により誘導される遺伝子群の同定

この実験の目的は、クロロフィルを分解したときの植物の応答を明らかにするため、まず発現の変化する遺伝子を詳細に明らかにすることである。

予備実験において、18時間のDEX処理によりSGRの発現を誘導した後にマイクロアレイで遺伝子発現を調べた。その結果、ジャスモン酸を含めた植物ホルモン関連の遺伝子の発現量が変化するとともに、光合成関連や老化関連の遺伝子も変動していた。これは老化時にみられる傾



向と一致する。DEX 処理の時間を変え、発現量が変化する遺伝子群を同定する。それによってジャスモン酸の役割が詳しくわかるとともに、予備実験からは明らかになっていない新しい遺伝子も明らかになると期待される。

(3) ジャスモン酸に応答しない変異体の利用

この実験の目的は、クロロフィル分解を引き起こす遺伝子発現制御におけるジャスモン酸の関与を、ジャスモン酸に応答しない変異体を利用して明らかにすることである。

これまでのマイクロアレイによる遺伝子発現解析より、ジャスモン酸に関連する遺伝子が、クロロフィルの分解により誘導されることが分った。そこで、ジャスモン酸に応答しない変異体においてクロロフィル分解を誘導できる形質転換体を作製する。具体的にはジャスモン酸非感受性の変異体 *coi1*、ジャスモン酸を合成できない *aos* に DEX による SGR の誘導系を導入する。*coi1*、*aos* については雄性不稔の性質が強く種子がほとんどできないため、SGR の誘導系を持つ植物との掛け合わせ、あるいはカルスを利用した形質転換体の作製を行う。

(4) ジャスモン酸関連の変異体におけるクロロフィル分解誘導の影響

ジャスモン酸に応答しない変異体においてクロロフィル分解を誘導し、遺伝子発現を網羅的に調べる。この実験より、葉緑体から核への情報伝達におけるジャスモン酸の役割が明らかになるとともに、ジャスモン酸を介さない情報伝達経路も明らかになると期待される。

(5) クロロフィルの分解により誘導される遺伝子の変異株の解析

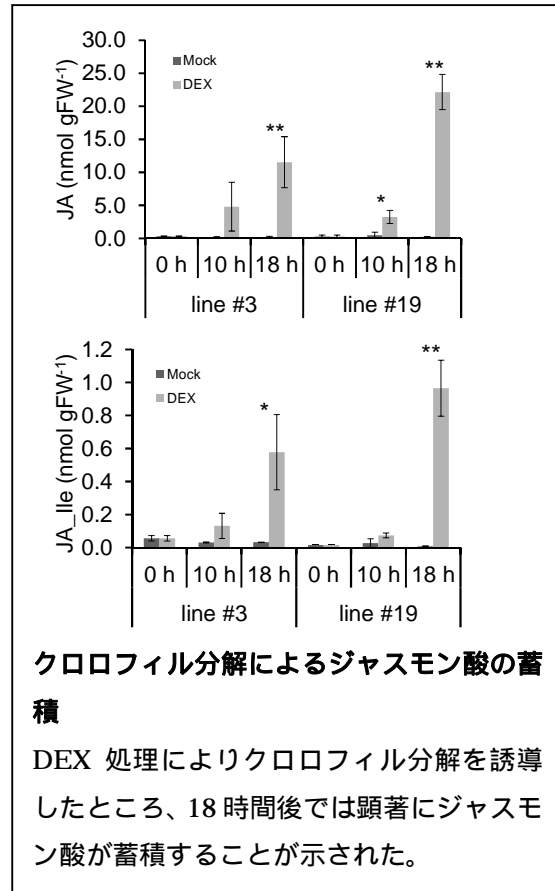
クロロフィル分解誘導により変動する遺伝子の役割を検証することである。植物の応答に主要な役割を果たしていると予測される遺伝子の欠損株にクロロフィル分解の誘導系を導入し、クロロフィル分解に対する植物の応答がどのような影響を受けるかを調べる。この実験から、葉緑体による細胞機能の制御に関する新規な因子が明らかになると期待される。

(6) クロロフィルを分解できない変異体の利用

クロロフィルを分解できない変異体はジャスモン酸の合成量が減る等の効果により、野生株とは異なる表現型を示すと期待される。そのような植物を材料とすることにより、クロロフィル分解の植物の成長に対する効果を検証する。

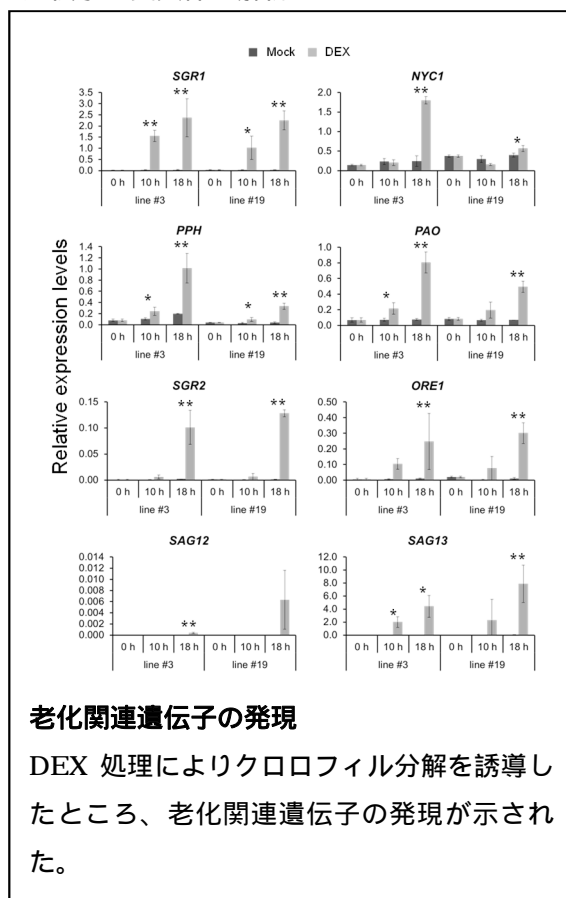
4. 研究成果

本研究の中心的な課題として、クロロフィル分解とジャスモン酸合成の関係の解明がある。当初はジャスモン酸の前駆体である遊離リノレン酸をガスクロマトグラフィーにより定量する予定であった。しかし正確な定量が困難であったことから、安定同位体と質量分析器を利用し、ジャスモン酸を直接定量するように計画を変更した。その結果クロロフィル分解に伴いジャ



クロロフィル分解によるジャスモン酸の蓄積

DEX 処理によりクロロフィル分解を誘導したところ、18 時間後では顕著にジャスモン酸が蓄積することが示された。



老化関連遺伝子の発現

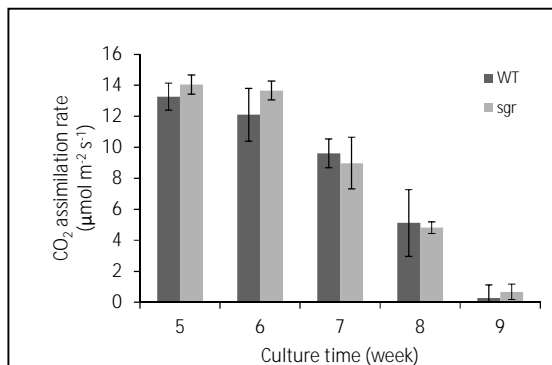
DEX 処理によりクロロフィル分解を誘導したところ、老化関連遺伝子の発現が示された。

スモン酸が合成されることを示した。さらに、生体内で活性があるのはジャスモン酸ではなく、イソロイシンが結合したものであるが、活性型のイソロイシンが結合したジャスモン酸の増加も確認できた。

クロロフィルの分解を誘導した変異体において、老化関連遺伝子や植物ホルモン関連の遺伝子の発現量を調べたところ、老化関連遺伝子の発現が誘導され、ジャスモン酸やエチレンといった老化関連ホルモンに反応する遺伝子の発現誘導が観察された。これらの結果から、クロロフィル分解が確かにジャスモン酸の合成を誘導し、老化を促進することが示された。

ジャスモン酸やエチレンの応答変異体にクロロフィル分解系を誘導したが、それらの形質転換体では安定した応答がみられず、遺伝学的な情報に基づいたクロロフィル分解と植物ホルモンによる老化誘導の関係については検証することができなかった。

クロロフィル分解と光合成の関係調べた。クロロフィルが分解されると当然光合成は行われなくなる。一方SGR破壊株ではクロロフィル分解は起きないが、光合成能力が維持されるかどうかは詳細には調べられていなかった。そこでクロロフィルタンパク質量を調べたところ、光化学系ⅠとⅡのうち、光化学系ⅠだけがSGR欠損株では維持されていた。二酸化炭素の吸収はSGR破壊株では野生株と同様に老化の進行に伴って減少した。これは光化学系Ⅱが分解されたためであると思われる。このことは、クロロフィル分解によるジャスモン酸の合成が、光化学系Ⅰの分解を引き起こしているが、光化学系Ⅱの分解はジャスモン酸とは異なる因子によって引き起こされていることを示すとともに、光化学系Ⅱよりも光化学系Ⅰの方が分解されにくいシステムになっていることを示している。光化学系Ⅱを壊れやすくすることにより光障害を抑制していると考えられる。



クロロフィルの分解と光合成活性

クロロフィルを分解できない変異体(sgr)の光合成活性の老化に伴う低下を測定したところ、野生株と同様の結果を示した。このことはクロロフィルを維持していても、老化は進行し光合成能力は低下することを示している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ono Kouhei, Kimura Madoka, Matsuura Hideyuki, Tanaka Ayumi, Ito Hisashi	4. 巻 238
2. 論文標題 Jasmonate production through chlorophyll a degradation by Stay-Green in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 53 ~ 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jplph.2019.05.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Obata Daichi, Takabayashi Atsushi, Tanaka Ryouichi, Tanaka Ayumi, Ito Hisashi	4. 巻 36
2. 論文標題 Horizontal Transfer of Promiscuous Activity from Nonphotosynthetic Bacteria Contributed to Evolution of Chlorophyll Degradation Pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 2830 ~ 2841
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/molbev/msz193	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Lim HyunSeok, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi, Ito Hisashi	4. 巻 60
2. 論文標題 In Vitro Enzymatic Activity Assays Implicate the Existence of the Chlorophyll Cycle in Chlorophyll b-Containing Cyanobacteria	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 2672 ~ 2683
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcz157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chen Ying, Shimoda Yousuke, Yokono Makio, Ito Hisashi, Tanaka Ayumi	4. 巻 97
2. 論文標題 Mg-dechelataase is involved in the formation of photosystem II but not in chlorophyll degradation in Chlamydomonas reinhardtii	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 1022 ~ 1031
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.14174	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sato Tomoaki, Shimoda Yousuke, Matsuda Kaori, Tanaka Ayumi, Ito Hisashi	4. 巻 222
2. 論文標題 Mg-dechelation of chlorophyll a by Stay-Green activates chlorophyll b degradation through expressing Non-Yellow Coloring 1 in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 94 ~ 102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jplph.2018.01.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chen Ying, Yamori Wataru, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi, Ito Hisashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Degradation of the photosystem II core complex is independent of chlorophyll degradation mediated by Stay-Green Mg ²⁺ dechelataase in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 110902 ~ 110902
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plantsci.2021.110902	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 福良光起、田中亮一、伊藤寿
2. 発表標題 シロイヌナズナにおけるグラナマージンへのクロロフィル分解酵素の局在
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会 (大阪)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 伊藤寿、田中歩
2. 発表標題 クロロフィル分解とジャスモン酸の関係
3. 学会等名 第9回日本光合成学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hisashi Ito
2. 発表標題 Analysis of Plant Mg-Dechelataase Involved in Chlorophyll Degradation
3. 学会等名 第10回 International conference on porphyrins and phthalocyanines (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤寿、荒川圭太、田中歩
2. 発表標題 ポプラにおけるクロロフィル分解を介したエチレンの発生と落葉
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ying Chen, Yousuke Shimoda, Ayumi Tanaka, Hisashi Ito
2. 発表標題 The effet of chlorophyll degradation by SGR on senescence
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小畑大地、田中歩、伊藤寿
2. 発表標題 クロロフィルaのMgを脱離する酵素SGRの触媒機構解析
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村円香、松浦英幸、田中歩、伊藤寿
2. 発表標題 SGRによるクロロフィル分解が引き起こすジャスモン酸とエチレンの増加
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 末廣晴花、田中亮一、伊藤寿
2. 発表標題 8-ピニル基還元酵素の鉄環境への適応とAcaryochloris における役割
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 クロロフィルの分解酵素阻害剤	発明者 伊藤寿	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-041725	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

植物の老化や紅葉には、バクテリアの遺伝子が関わっていた https://www.hokudai.ac.jp/news/190906_pr2.pdf
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------