

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06710

研究課題名(和文) 葉緑体核様体の光分散・暗凝集反応の分子機構および生理学的役割の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms and physiological roles of light-dispersal and dark-assembly reactions in chloroplast nucleoids

研究代表者

岩淵 功誠 (Iwabuchi, Kosei)

大阪医科薬科大学・医学部・講師

研究者番号：30583471

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)：我々は近年、ゼニゴケにおいて葉緑体核様体が明所で小さなスペckルを複数形成しながら葉緑体全体に分散し(光分散)、暗所でスペckルの消失とともに葉緑体中央に集まる(暗集合)現象を発見している。核様体の光分散は光照射後3時間以内に起こる。核様体の光分散時に葉緑体DNAの高次構造変化が起こり、核様体の光分散と葉緑体遺伝子の発現変動には相関があることが示唆されている。我々はこうした事実をもとに、葉緑体DNAの高次構造変化を伴う空間再配置が、葉緑体遺伝子の光依存的な発現を調節するという新たなモデルを提唱する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

葉緑体は光合成を行い糖質を作り出す重要な細胞小器官である。本研究により、核様体の空間配置が葉緑体遺伝子の発現調節に重要な役割を果たすことが分かってきた。光合成の調節機構を完全に解き明かすことは、人工光合成研究への応用だけでなく、植物の光合成能力の向上や今後変動しうる自然環境の中で植物が生き残るための機能を知る上でも重要である。本研究はこうした応用研究を支える重要な知見を提供したと考えている。

研究成果の概要(英文)：In recent years, we have discovered that in the liverwort *Marchantia polyorpha*, the chloroplast nucleoids disperse throughout the chloroplast while forming multiple small speckles in bright light (photodispersion), and then gather in the center of the chloroplast in the dark (dark accumulation) as the speckles disappear. The photodispersion of the nucleoids occurs within three hours of light exposure. It has been postulated that the photodispersion of the nucleoid is accompanied by alterations in the higher-order structure of chloroplast DNA, and that there is a correlation between the photodispersion of the nucleoid and changes in the expression of chloroplast genes. Based on these observations, we propose a novel model in which the spatial rearrangement of chloroplast DNA accompanied by changes in the higher-order structure regulates the light-dependent expression of chloroplast genes.

研究分野：植物細胞生物学

キーワード：核様体 光 遺伝子発現 光分散 暗集合 ゼニゴケ 葉緑体 DNA

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

光は植物が光合成を行うエネルギー源や外環境シグナルとしても働くが、過剰な光は細胞に損傷を与える。特に太陽光に含まれる紫外線は細胞核の DNA に直接傷を作り、最終的に細胞を死に至らしめる。では太陽光の下で植物が生きていられるのはどうしてだろうか。その問いに答えるべく申請者は細胞核の空間的配置に着目した研究を行ってきた。シロイヌナズナのロゼット葉の葉肉細胞では、核は暗所で細胞底面中央に位置し、強光下で細胞側壁に移動する (Iwabuchi et al. 2007)。側壁への核の移動は青色光や紫外線といった比較的短波長の光かつ強光によって誘導され、フォトトロピン 2 青色光受容体やアクチン細胞骨格により制御される (Iwabuchi et al. 2007, 2010)。また近年、葉緑体の存在も核の移動に必須であることが報告された (Higa et al. 2014)。すなわち、核と葉緑体は互いに物理的に接しており、この葉緑体が光に依存して動く (葉緑体光定位運動) ことで核も一緒に動くというものである (お神輿仮説)。

このような特徴をもつ核の光定位運動について、紫外線により生じる DNA 損傷および細胞死との関係を調べたところ、核が細胞側壁に移動すると DNA 損傷や細胞死が劇的に抑制されることが分かった (Iwabuchi et al. 2016)。核の移動は強光下で 1-3 時間以内に誘導されるのに対し、紫外線防御に寄与すると考えられているアントシアニン蓄積や葉の肥厚は強光下でそれぞれ 24 時間以上かかるかまったく起こらない。このことから核光定位運動は紫外線防御機構として迅速かつ強力に機能することが明らかになった。動けない植物は代わりに核を動かすことで紫外線から逃れる術を発達させてきたのではないかと考えている。光に依存した核定位運動は植物特有の現象であり、これまで種子植物 (シロイヌナズナ) とシダ植物 (ホウライシダ) で確認されている。植物はこの光応答反応を進化の過程でいつ獲得したのだろうか。その答えを得るべく、陸上植物進化の基部に位置する苔類ゼニゴケを用いて実験を行った。無性芽が成長してできた葉状体の表皮細胞では、核は暗所で細胞上面に位置し、明所で細胞側壁に位置することがわかった (未発表)。このことから植物は少なくとも海から陸上に進出した時点で核光定位運動を有していたと考えられる。

申請者はこれまで植物の核の細胞内配置と光適応能力との関係について研究を行ってきた。この研究では核を可視化するために DAPI などの核酸染色試薬を用いてきた。DAPI は核 DNA だけでなく葉緑体 DNA も染色するので葉緑体の核様体 (以下、核様体とのみ記す) の様子も見る事ができた。このような背景の中で申請者は苔類ゼニゴケ幼葉状体の核様体が明暗条件にしたがってその分布様式を変えることに気づいた。核様体は白色光下でいくつかの小さなスペckルを形成して葉緑体内に分散し (光分散)、暗所で葉緑体中央に集合した (暗集合)。この発見を端緒に核様体の光分散・暗集合反応の基本的特徴を調べたところ次のことが分かった。(1)暗集合反応は約 2 日間の暗処理を必要とするのに対し光分散反応は約 3 時間の光照射により誘導される。(2)光分散反応と暗集合反応は繰り返し誘導される。(3)光分散反応は青色光、緑色光、赤色光、遠赤色光のどの波長の光によっても誘導され光強度に依存する。(4)光分散反応は光合成阻害剤存在下では起こらない。

核様体の葉緑体内での分布様式は葉緑体の発生段階に応じて変化することが知られているが申請者が見出した現象は成熟した葉緑体の中で外的刺激に応じて繰り返し起こるものであるため、葉緑体の発生とは独立の事象と考えられる。しかしながら核様体の暗集合・光分散反応の分子機構や生理学的役割は全くわかっていない。

2．研究の目的

葉緑体の光応答反応の中でも、光定位運動はこれまで多くの研究がなされてきた。葉緑体は弱光下で光源に向かって移動して光合成効率を高め、強光下では光合成装置を守るために光から逃れるというもので、これはオルガネラレベルの反応である。一方、本研究では葉緑体内部、すなわちサブオルガネラレベルで起こる光応答反応に着目し、核様体の空間的配置という独自の視点で葉緑体機能を理解することを目指した。

3．研究の方法

核様体の光分散・暗集合反応の生理学的役割を明らかにするために次世代シーケンサーを用いた葉緑体遺伝子発現解析（葉緑体 RNA-seq 解析）を実施した。また、光分散・暗集合反応の際の核様体の高次構造変化を調べるために DAPI を用いた蛍光寿命イメージング解析を実施した。最後に、得られた成果を論文にまとめるために、データの補強を実施した。

4．研究成果

葉緑体 RNA-seq 解析から、核様体の光分散と葉緑体遺伝子の発現変動には相関があることがわかった。さらに、DAPI を用いた蛍光寿命イメージング解析から、DAPI 近傍の DNA のミクロな環境には大きな変化はないが、DNA の高次構造が変わることで核様体の光分散が起こることが示唆された。我々はこうした事実をもとに、葉緑体 DNA の高次構造変化を伴う空間再配置が、葉緑体遺伝子の光依存的な発現を調節するという新たなモデルを提唱する。

これまでの実験では、白色光下で3日間培養した幼葉状体を用いていた。しかし、解析を続けていくなかで、暗集合反応がこの現象を発見した数年前に比べて起こりづらくなるトラブルが生じた。実験条件を再検討した結果、白色光下での培養日数を3日間から7日間に変更することで以前同様に暗集合反応が誘導されるようになった。実験条件変更に伴って全ての実験をやり直すことになり実験計画が大幅に遅れることになったものの、葉緑体核様体の明暗に依存した分散・集合反応の存在の再確認ができたことは不幸中の幸であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石原静圭、坂下幸汰、石田悠介、木森義隆、西村芳樹、小林優介、西村いくこ、岩淵功誠
2. 発表標題 葉緑体核様体にみられる光応答反応—光分散・暗集合反応—
3. 学会等名 第62回 日本植物生理学会 年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石原静圭、坂下幸汰、石田悠介、木森義隆、西村芳樹、小林優介、岩淵功誠、西村いくこ
2. 発表標題 苔類ゼニゴケにおける葉緑体核様体の新奇光応答反応 光分散・暗集合反応
3. 学会等名 第9回 近畿植物学会 講演会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

大阪医科薬科大学・医学部・生物学教室 https://www.ompu.ac.jp/u-deps/bio/

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
---------	---------