

平成 29 年 5 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26506001

研究課題名(和文) 宇宙放射線による葉緑体障害とオートファジーを中心とした障害除去機構の実態解明

研究課題名(英文) Solar radiation-induced chloroplast damage and the clearance systems of damaged chloroplasts including autophagy

研究代表者

泉 正範 (IZUMI, Masanori)

東北大学・学際科学フロンティア研究所・助教

研究者番号：80714956

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、宇宙放射線による葉緑体障害の特徴づけを行うこと、その障害を除去し葉緑体機能を維持する「葉緑体クリアランス機構」の解析を行うこと、を目的とした。植物体地上部を用いた各種解析から、(1)各種放射線による葉緑体障害の程度、性質は様ではないこと、(2)オートファジーが紫外線障害時のクリアランス機構として重要な役割を果たしていること、(3)その一つとして、壊れた葉緑体が丸ごと液胞に運ばれ分解されるクロロファジーが起こること、を新たに見出した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on the chloroplast damage due to solar radiation and the clearance system of damaged chloroplasts in Arabidopsis plants. The data supports three major conclusions as follow; (i) the property of chloroplast damage varies due to the type of radiation, (ii) autophagy plays an important role in plant response to UVB damage, (iii) Photodamage induces the digestion of entire collapsed chloroplasts by an autophagy process termed chlorophagy.

研究分野：植物細胞生物学

キーワード：葉緑体 宇宙放射線 光障害 オートファジー クロロファジー 紫外線 植物 シロイヌナズナ

1. 研究開始当初の背景

近年、長期の宇宙滞在を実現するため宇宙空間において植物を栽培することが求められている。植物は長期の有人宇宙活動を支える食糧として必須であり、二酸化炭素の酸素への変換にも機能することから、閉鎖生態系生命維持システム (Controlled Ecological Life Support System: CELSS) の主軸となる。また植物は育て眺めることで人の心を癒すため、人生の質 (Quality of Life: QOL) の向上に有用であり、宇宙飛行士の QOL 向上に貢献できる。宇宙航空研究開発機構 (JAXA) を中心とし、宇宙において農業を行う宇宙農業構想の提言もなされている。

植物は、光エネルギーを利用し、水と二酸化炭素から有機物と酸素を生産する「光合成」により成長する。光合成の場となるのが、植物に特有の細胞内小器官 (オルガネラ) の「葉緑体」である。よって葉緑体機能は、植物の食糧生産と酸素発生のポテンシャルを強く規定している。ゆえに宇宙空間での植物栽培を視野に入れるにあたっては、宇宙放射線、微小重力、低圧力といった宇宙空間特有のストレス要因が、植物葉緑体に及ぼす影響を詳細に把握する必要がある。特に、紫外線、エックス線、ガンマ線などの種々の放射線を含み、大きなエネルギーを持つ宇宙放射線は、葉緑体を構成するタンパク質や脂質、葉緑体 DNA に直接障害を引き起こし、重大な負の影響を与えることが予想される。宇宙放射線障害下で植物の成長に必要な十分な光合成能力を維持するためには、障害を受けた葉緑体成分を速やかに分解、除去する「葉緑体クリアランス」を行い、恒常的な正常成分への更新を行う必要があるものと考えられた。

葉緑体成分の分解は、その分解から派生する窒素や炭素といった栄養素を再利用する「栄養素リサイクル」の観点から作物生産に関わる機構でもある。当該研究代表者らは、この植物栄養学の観点から、葉緑体タンパク質の分解機構について本研究開始以前から研究を行っており、酵母、動物、植物といった真核生物が持つ細胞内自己分解システム「オートファジー」により葉緑体成分が分解されること、この機構が植物の窒素や炭素のリサイクルに寄与すること、を世界に先駆けて明らかにしていた。

2. 研究の目的

オートファジーの第一の役割は、前述した「栄養素リサイクル」である。しかし近年、呼吸を行うオルガネラであるミトコンドリアについて、障害ミトコンドリアを選択的に分解するオートファジー (マイトファジーと呼ばれる) の存在が、酵母、動物で明らかにされるなど、異常成分の分解、除去を担う細胞内クリアランス機構としての役割が注目されている。ゆえに当該研究代表者は、葉緑体オートファジーも宇宙放射線による障害環境下で重要な役割を果たすのではないかと

との着想に至った。実際に、本研究に先行して行っていた解析から、紫外線障害時にオートファジーが機能している可能性を見出していた。

よって本研究では、宇宙放射線による葉緑体障害の特徴づけを行うこと、その障害を除去し葉緑体機能を維持する「葉緑体クリアランス機構」を解明すること、を目的とした。特に、研究代表者らが見出した現象である、オートファジーによる葉緑体分解のクリアランス機構としての役割、メカニズムに主眼を置いた研究を展開することとした。

3. 研究の方法

研究材料として、モデル植物シロイヌナズナを使用した。まず、宇宙放射線による葉緑体障害の特徴づけを行うために、光合成機能の解析技術を活用し、各種放射線による葉緑体機能、光合成能力への影響を比較解析した。その上で、オートファジーのライブイメージング観察や遺伝子発現解析により、そのような障害が生じた際にオートファジーが起きているか、起きていた場合はどのような役割を担うか、を解析した。

加えて、オートファジーによる葉緑体クリアランス機構の詳細なメカニズムを解明するため、光障害時にオートファジーが誘導されない変異体の単離とその原因遺伝子の解析を試みた。また、地表でも生じる過剰な光エネルギー (強光) に対する既知の防御機構が放射線照射下で果たす役割を評価することで、宇宙放射線障害時の葉緑体クリアランス機構の実態を、オートファジーを含めて包括的に理解することとした。

4. 研究成果

(1) 可視光による葉緑体障害は、一過的には光合成機能を著しく低下させるが、数時間通常条件下で栽培することで回復していくのに対し、紫外線 B (UVB) による障害は、短期的には光合成機能の低下は重篤ではが、数日通常条件下で栽培してもその回復が見られないなど、宇宙放射線の種類によって葉緑体機能への障害が異なることが見いだされた。よって種々の放射線を含む宇宙放射線に対する耐性を理解するためには、個別の放射線種に対する植物の応答を詳細に解析する必要があることが示唆された。

(2) 野生株では UVB 照射でオートファジー関連遺伝子の発現が上昇すること、オートファジー機能欠損変異体は UVB 障害時に活性酸素の蓄積と細胞死が強く誘導され、葉が枯死する「UVB 感受性」を示すこと、を見出した。よって UVB 障害時にオートファジーが重要なクリアランス機構として機能していることが明らかとなった。

(3) UVB 障害時のオートファジーの役割を詳細に解析し、UVB により壊れた葉緑体が丸ごと

と液胞へ運ばれ分解される「クロロファジー」が起きていることを発見した。オートファジー機能欠損変異体では細胞質に異常な形態を示す葉緑体が蓄積していたことから、クロロファジーが壊れた葉緑体を取り除くクリアランス機構として働いていることが示唆された。

さらに変異原処理したシロイヌナズナ系統から、光障害時のクロロファジーが誘導されない変異体の単離を行った。最終的に2系統のクロロファジー抑制系統を単離したが、その原因遺伝子の特定までは至らなかった。

(4) 可視光に対する重要な防御機構であることが知られている葉緑体内プロテアーゼ FtsH や活性酸素除去酵素 tAPX の変異体を用いて UVB 耐性を調査したところ、前者は UVB 感受性を示さなかったのに対し、後者は感受性を示した。よって可視光に対する防御機構の中でも、他の放射線防御においても重要な役割を果たすし得るものと、そうでないものが存在することが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

1. Izumi M, Ishida H, Nakamura S, Hidema J (2017) Entire photodamaged chloroplasts are transported to the central vacuole by autophagy. *Plant Cell* 29: 377-394, DOI: 10.1105/tpc.16.00637, 査読有
 2. 和田慎也, 泉正範(2016)生物情報科学・細胞生物学的手法から見えてきた植物栄養応答 2. イネの窒素リサイクルとオートファジー, 日本土壌肥科学雑誌 87: 388-393 査読有
 3. Izumi M, Hidema J, Ishida H (2015) From Arabidopsis to cereal crops: Conservation of chloroplast protein degradation by autophagy indicates its fundamental role in plant productivity. *Plant Signal Behav* 10: e1101199, DOI: 10.1080/15592324.2015.1101199, 査読有
 4. Wada S, Hayashida Y, Izumi M, Kurusu T, Hanamata S, Kanno K, Kojima S, Yamaya T, Kuchitsu K, Makino A, Ishida H. (2015) Autophagy supports biomass production and nitrogen use efficiency at the vegetative stage in rice. *Plant Physiol* 168: 60-73, DOI: 10.1104/pp.15.00242, 査読有
 5. Izumi M, Hidema J, Wada S, Kondo E, Kurusu T, Kuchitsu K, Makino A, Ishida H. (2015) Establishment of monitoring methods for autophagy in rice reveals autophagic recycling of chloroplasts and root plastids during energy limitation. *Plant Physiol* 167: 1307-1320 DOI: 10.1104/pp.114.254078, 査読有
6. Takahashi S, Teranishi M, Izumi M, Takahashi M, Takahashi F, Hidema J. (2014) Transport of rice cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) photolyase into mitochondria relies on a targeting sequence located in its C-terminal internal region. *Plant J* 79: 951-963, DOI: 10.1111/tbj.12598, 査読有
- 〔学会発表〕(計29件)
1. 泉正範, 大友康平, 中村咲耶, 日出間純, 根本知己, 石田宏幸, シロイヌナズナ葉における葉緑体を部分分解するオートファジー経路の動態解析、日本植物生理学会、鹿児島・鹿児島大学、2017年3月16-18日、一般講演
 2. 中村咲耶, 日出間純, 熊崎茂一, 児玉和矢, 石田宏幸, 泉正範, 異常な形態を示す光障害葉緑体はクロロファジーによって選択的に分解される、日本植物生理学会、鹿児島・鹿児島大学、2017年3月16-18日、一般講演
 3. 児玉和矢, 泉正範, 中村咲耶, 寺嶋正秀, 熊崎茂一, 蛍光寿命画像顕微鏡によるシロイヌナズナの野生株とオートファジー欠損株の解析、日本植物生理学会、鹿児島・鹿児島大学、2017年3月16-18日
 4. Li N, Nishimura Y, Ramundo S, Hidema J, Izumi M, Visualization of chloroplast-targeted autophagy in *Chlamydomonas reinhardtii*, 日本植物生理学会、鹿児島・鹿児島大学、2017年3月16-18日
 5. 泉正範, 中村咲耶, 石田宏幸, 日出間純, シロイヌナズナ紫外線障害応答におけるオートファジーの重要性、日本宇宙生物科学会、長久手・愛知医科大学、2016年10月13-15日
 6. 中村咲耶, 日出間純, 石田宏幸, 泉正範, 紫外線障害時のオルガネラ分解における植物オートファジーの役割について、日本宇宙生物科学会、長久手・愛知医科大学、2016年10月13-15日
 7. Kim H, Nakamura S, Ling Q, Jarvis P, Ishida H, Hidema J, Izumi M, Investigation of the

- involvement of ubiquitination associated with chloroplasts in chlorophagy induced by high light damage、日本宇宙生物科学会、長久手・愛知医科大学、2016年10月13-15日
8. 日出間純、泉正範、寺西美佳、中村咲耶、高橋昭久、ISS を利用した植物の太陽粒子線による障害とその修復機構に微小重力環境が及ぼす影響解析、日本宇宙生物科学会、長久手・愛知医科大学、2016年10月13-15日
 9. 泉正範、中村咲耶、石田宏幸、日出間純、シロイヌナズナの光障害時においてオートファジーは異常葉緑体の除去に関わる、日本土壌肥料学会、佐賀・佐賀大学、2016年9月20-22日
 10. 泉正範、光合成オルガネラ「葉緑体」の動的性状を視るバイオイメージング、第一回フロンティアバイオイメージング研究会、仙台・東北大学、2016年7月20日
 11. Izumi M, Ishida H, Nakamura S, Hidema J, Autophagy for the elimination of photodamaged chloroplasts. Gordon research conference on Mitochondria & Chloroplasts, アメリカ合衆国・West Dover、2016年6月19-24日
 12. Nakamura S, Hidema J, Ishida H, Izumi M, Photodamage-induced abnormal chloroplasts are selectively eliminated via microautophagy-like process. Gordon research conference on Mitochondria & Chloroplasts, アメリカ合衆国・West Dover、2016年6月19-24日
 13. 泉正範、石田宏幸、中村咲耶、日出間純、シロイヌナズナの光障害条件におけるオートファジーによる障害葉緑体の除去、日本植物生理学会、盛岡・岩手大学、2016年3月18-20日
 14. 中村咲耶、泉正範、石田宏幸、日出間純、光障害を受けた葉緑体を選択的に除去するクロロファジーの特性について、日本植物生理学会、盛岡・岩手大学、2016年3月18-20日
 15. 東谷篤志、泉正範、邵震華、中村咲耶、オートファジーはシロイヌナズナの花形成における高温障害を緩和する、日本植物生理学会、盛岡・岩手大学、2016年3月18-20日
 16. 邵震華、泉正範、東谷篤志、A role of autophagy in vegetative and reproductive growth under high-temperature condition in *Arabidopsis thaliana*、日本植物生理学会、盛岡・岩手大学、2016年3月18-20日
 17. 泉正範、オートファジーによる光障害葉緑体の除去：選択的クロロファジー、第18回植物オルガネラワークショップ、盛岡・岩手大学、2016年3月17日、招待講演
 18. 中村咲耶、泉正範、石田宏幸、日出間純、太陽放射光による障害葉緑体を分解するオートファジーの解析、日本宇宙生物科学会、東京・帝京大学、2015年9月26-27日
 19. 石田宏幸、西村翼、泉正範、Gad Galili、牧野 周、シロイヌナズナのRCBおよび葉緑体オートファジーにおけるATI(ATG8-interacting proteins)の役割について、日本土壌肥料学会、京都・京都大学、2015年9月9-11日
 20. 和田慎也、林田泰和、泉正範、来須孝光、花俣繁、朽津和幸、牧野周、石田宏幸、イネの栄養成長と老化葉の窒素リサイクルにおけるオートファジーの役割の解析、日本土壌肥料学会、京都・京都大学、2015年9月9-11日
 21. 江口雅丈、吉本光希、木村和彦、泉正範、和田慎也、牧野周、石田宏幸、シロイヌナズナにおけるオートファジーが亜鉛欠乏時に果たす役割、日本土壌肥料学会、京都・京都大学、2015年9月9-11日
 22. Izumi M, Nakamura S, Ishida H, Hidema J, Roles of autophagy in plant response to ultraviolet-B or visible light induced damage, 15th International Congress of Radiation Research, 京都・国立京都国際会館、2015年5月25-29日
 23. 泉正範、日出間純、和田慎也、近藤依里、来須孝光、朽津和幸、牧野周、石田宏幸、イネにおけるオートファジーモニタリング系の構築と葉緑体タンパク質分解における機能評価、東京・東京農業大学、2015年3月16-18日
 24. 中村咲耶、泉正範、石田 幸、坂本亘、日出間純、シロイヌナズナにおけるクロロファジーの誘導要因の解析、日本植物生理学会、東京・東京農業大学、2015年3月16-18日
 25. Izumi M, Nakamura S, Hirota T, Ishida H, Hidema J, Two types of autophagy for chloroplast degradation contribute to recycling of stromal proteins and quality

control of entire chloroplast. Gordon Research Conference on Chloroplast Biotechnology, アメリカ合衆国・ベンチュラ, 2015年1月18-23日

26. 泉正範, 石田宏幸, 牧野周, 日出間純, シロイヌナズナの紫外線障害時に誘導されるオートファジーによる葉緑体分解, 日本宇宙生物科学会, 大阪・大阪府立大学, 2014年9月22-23日
27. 中村咲耶, 泉正範, 日出間純, シロイヌナズナの紫外線障害時における CPD 光回復酵素とオートファジーの重要性評価, 日本宇宙生物科学会, 大阪・大阪府立大学, 2014年9月22 - 23日
28. 泉正範, 石田宏幸, 牧野周, 日出間純, シロイヌナズナにおける葉緑体オートファジーの機能解析 - 光障害時の役割について -, 日本土壌肥料学会, 東京・東京農工大学, 2014年9月9-11日
29. 泉正範, 中村咲耶, 石田宏幸, 日出間純, 光障害応答としての植物オートファジーの機能解析, 日本光生物学協会, 大阪・大阪市立大学, 2014年8月22-23日

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

泉正範 (IZUMI, Masanori)
東北大学・学際科学フロンティア研究所・助教

研究者番号: 80714956

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

日出間 純 (HIDEMA, Jun)
東北大学・大学院生命科学研究科・准教授
研究者番号: 20250855

東谷 篤 (HIGASHITANI, Atsushi)
東北大学・大学院生命科学研究科・教授
研究者番号: 40212162

(4) 研究協力者

中村 咲耶 (NAKAMURA, Sakuya)
東北大学・大学院生命科学研究科・大学院生