

2022年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	栄養条件下で誘導される葉緑体部分分解制御機構の解析
キーワード	① オートファジー、② 核酸分解、③ 葉緑体分解

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	ヨシタケ ユウシ 吉竹 悠宇志
配付時の所属先・職位等 (令和4年4月1日現在)	明治大学農学部・助教
現在の所属先・職位等 (令和5年7月1日現在)	日本学術振興会・特別研究員 (PD)
プロフィール	2019年3月に東京工業大学 生命理工学院 博士後期課程を修了し、博士(理学)を取得。その後、明治大学 研究・知財戦略機構 博士研究員、同大農学部 助教を経て、現在に至る。これまで、一貫して「植物は栄養ストレス時にどのようにして生き延びているのか」と言う問いを軸に細胞内成分代謝の方面から研究を行っている。

1. 研究の概要

リン酸 (Pi)は植物の三大栄養素と呼ばれており、欠乏環境下では植物の生育は著しく悪化する。以前、私はPi欠乏下で窒素を過剰施肥すると、細胞内成分分解系のオートファジーが葉緑体の一部を分解することで、リン酸欠乏症を緩和することを発見している [Yoshitake *et al.*, 2021, *Plant Physiol.*]. しかし、オートファジーがどのようにして葉緑体の一部を認識し、分解しているのか詳細な分子機構は不明であった。本研究では、ストレス依存的に形成される特殊な葉緑体構造に着目し、Pi欠乏応答機構における葉緑体部分分解機構の解明を目指して、研究を行った。

2. 研究の動機、目的

私が発見した過剰窒素誘導性オートファジーは、葉緑体の一部を分解し、Pi 欠乏症を緩和させることから、葉緑体中の Pi 含有物を分解していると考えた。そこで、私は葉緑体 DNA に着目した。解析の結果、葉緑体 DNA 分解酵素欠損体では窒素を過剰施肥しても、葉緑体の部分分解は抑制されていた。そのため、過剰窒素誘導性オートファジーは葉緑体 DNA 分解によって制御されていることが分かった。さらに、葉緑体形態観察の結果、Pi 欠乏時に窒素を過剰施肥すると葉緑体可溶性部分が管状に伸びた「ストロミュール」という構造体が形成されること、葉緑体 DNA 分解酵素欠損体ではこのストロミュール形成が抑制されることを発見した。さらに、オートファジー不能体ではこのストロミュール形成が促進されていることも発見した。葉緑体 DNA 分解酵素欠損体およびオートファジー不能体はどちらも、葉緑体部分分解が抑制されているのにも関わらず、ストロミュール形成においては真逆の形質を示した (図 1)。こ

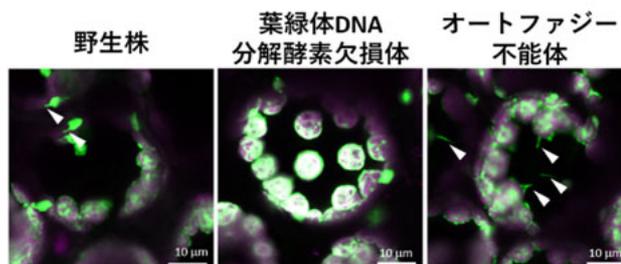


図 1. 葉内細胞の顕微鏡写真

葉緑体色素をマゼンダ、可溶性部分を緑色で示している。白矢頭はストロミュールを指す。

これらのことから、私は Pi 欠乏時に窒素を過剰施肥すると、「(I) 葉緑体 DNA の分解 → (II) ストロミュールの形成 → (III) オートファジー膜の誘引」が引き起こされるという仮説を建てた (図 2)。そこで、私は、Pi 欠乏時の過剰な窒素施肥誘導性ストロミュール形成機構を解明することで、葉緑体 DNA 代謝と葉緑体部分分解機構との間にあるギャップを埋めることができると考えた。

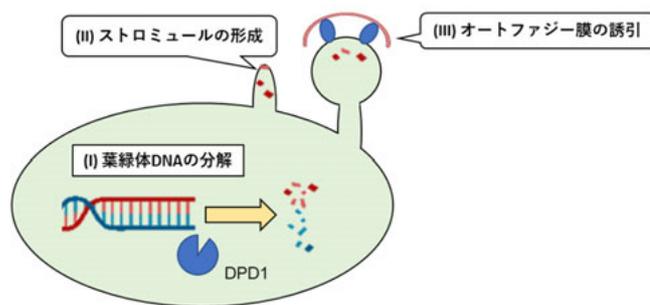


図 2. 葉緑体部分分解機構

3. 研究の結果

未発表データを含むため、概要のみを示す。

ストロミュールの形成を引き起こす因子を特定するため、ストロミュールを過剰に形成するオートファジー不能体にエチルメタンサルホン酸による変異原処理を行い、ストロミュール形成が引き起こされない変異体の探索を行った。その結果、Pi 欠乏時に窒素を過剰施肥しても、ストロミュールが形成されない変異体を 3 個体単離した (図 3)。今後はこれら変異体の原因遺伝子を特定することで、ストロミュール形成因子の特定を目指す。

また、オートファジー膜上に局在するタンパク質と相互作用するタンパク質を共免疫沈降法により単離した。単離したタンパク質を電気泳動によって分子量ごとに分離させたところ、葉緑体部分分解が引き起こされない葉緑体 DNA 分解酵素欠損体では見られないタンパク質バンドが検出された (図 4; 青矢頭)。

このため、本タンパク質は葉緑体部分分解に関与するタンパク質であると判断し、質量分析器によって目的タンパク質の同定を行った。現在は当タンパク質が葉緑体全体に局在するのか、ストロミュールにのみ局在するのか調べるための可視化植物体の作成やストロミュール形成にも関与し得るのか、欠損体の作出を行っている。

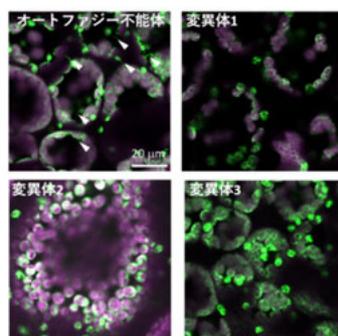


図 3. 各植物体の葉内細胞

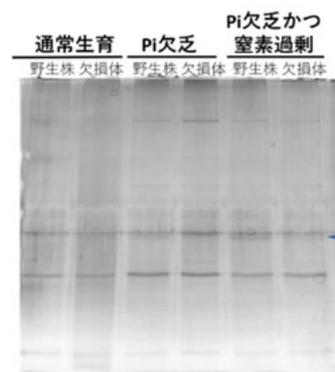


図 4. 電気泳動写真

4. 研究者としてのこれからの展望

これまで、私はオートファジーについて、顕微鏡観察など細胞生物学的な解析を主に行ってきました。対して、本研究では葉緑体 DNA 分解という代謝や生化学の観点からも解析したことで自身の解析の幅が広がったと実感しています。今後はこの経験を活かし、「植物ストレス応答という個体レベルの現象について、生化学という分子レベル、細胞生物学という細胞レベルの観点から解き明かし、応用利用という社会レベルの問題に取り組む研究者」を目指して精進する所存です。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

今回、2022 年度 若手研究者奨励金に採択していただきましたこと、奨励金のためにご寄付いただきましたこと、感謝申し上げます。本奨励金により、「葉緑体分解による Pi リサイクル機構」という私が発見した現象がどのようにして制御されているのか、その仕組みに関わる因子を丁寧に探索することができました。今回、得られた遺伝子およびタンパク質は実際に見られる現象から特定したものであるため、現象の根本的理解に繋がると考えています。今後も研究を重ね、得られた知見を「痩せた土地でも高品質の作物を作る技術の開発」等、社会に還元できるよう精進いたします。今後ともご支援のほど、どうぞよろしくお願い申し上げます。