



Title	クロロフィル分解に関するSGRとNYC1の協調的発現とその生理的役割 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	佐藤, 智亮
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第13166号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70011
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Tomoaki_Sato_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学）

氏 名 佐藤智亮

学 位 論 文 題 名

クロロフィル分解に関する SGR と NYC1 の協調的発現とその生理的役割

陸上植物はMgを中心金属としたクロロフィルaとクロロフィルbの2種類を光合成色素として用いている。クロロフィル分解の最初のステップは、中心金属のMgを引き抜くことである。この酵素はながらく同定されていなかったが、2016年にクロロフィルaからMgを引き抜く酵素がStay Green (SGR) であることが明らかとなった。一方で、クロロフィルbはMgが強くクロリン環に結合しており、SGRでは引き抜くことはできない。したがって、クロロフィルb分解のためには、まずNon-Yellow Coloring 1 (NYC1) やNYC1 LIKE (NOL) によってクロロフィルaに変換する必要があるはずであるが、SGRだけを一過的に発現させてもクロロフィルbの分解が誘導されることが知られている。本研究の目的は、Mg-脱離酵素であるSGRの発現が、どのような機構でクロロフィルbの分解を誘導するかを明らかにすることである。

シロイヌナズナでSGRを発現誘導したところ、NYC1の発現量やタンパク質の蓄積量に増加が見られた。また、NYC1欠損株でSGRの発現を誘導するとクロロフィルbの分解が抑制された。この結果から、SGRの発現がNYC1の発現を誘導し、クロロフィルbの分解を引き起こすことが明らかとなった。

SGRによるNYC1の発現誘導に関して、酵素であるSGRがNYC1のプロモーターに結合して直接発現を誘導することは考えられない。そこでNYC1の発現に関する転写因子(ORE1, EIN3, ABF4, MYC2, NAC019/046/055/072, ABI5/EEL)の発現量の変化について調べた。その結果、NAC019/055/072とORE1の発現量が増加することが明らかとなった。NAC019/055/072はジャスモン酸に応答する転写因子であり、SGRの発現誘導後18~30時間の間に発現量が増加していた。また、ORE1は老化に関わる転写因子であり、SGRの発現誘導後36時間後に発現量が増加していた。

SGRによってクロロフィルaが分解されると、光化学系が不安定かして分解され、それに伴ってチラコイド膜も減少した。その過程でチラコイド膜の主要な構成成分であるリノレン酸が遊離し、ジャスモン酸が合成されと考えられる。このジャスモン酸はretrograde signalとして働き、NAC019/055/072を誘導し、最終的にNYC1が発現したと予想される。

ORE1については、NYC1と発現量が増加する時期が重なっていた。このことから、ORE1は初期のNYC1の発現にあまり寄与していないと考えられる。ORE1の上流に位置するEELがSGR発現誘導後24時間で発現量が4倍に増加した。EELはアブシジン酸や環境ストレスに応答して発現することが知られている。このことから、ORE1の発現は、少なくとも部分的には、SGRの発現による活性酸素を含む様々なストレスで誘導されたEELによるものと考えられる。

植物の自然老化は発育段階や環境ストレスによる老化関連の植物ホルモンの合成に始まる。その後クロロフィル分解酵素が誘導されてクロロフィルが分解され、クロロフィルが分解されると光化学系のクロロフィル結合タンパク質は構造を保てなくなり分解される。2種類のSGR過剰発現株(SGR/WT, SGR/nyc1 nol)で、クロロフィル結合タンパク質の分解について調べると、SGRの発現誘導後に光化学系Iが光化学系IIよりも早くに分解されること、また、光化学系Iの反応中

心と周辺集光アンテナ、光化学系 II の反応中心が分解されることが両者に共通していた。相違点は *SGR/WT* で光化学系 II の周辺集光アンテナが分解されるが、クロロフィル *b* が分解されない *SGR/nyc1 nol* では分解されないことであった。*SGR/nyc1 nol* のクロロフィル結合タンパク質を解析すると、光化学系 II 周辺集光アンテナが 3 量体で存在することが明らかとなった。精製した 3 量体のクロロフィル *a/b* 比は 0.6 であり、老化前の野生型の半分程度であった。*SGR/nyc1 nol* はクロロフィル *b* が分解されないことから、クロロフィル *a/b* 比の減少はクロロフィル *a* の分解によるものである。以上より、*SGR* は光化学系 II 周辺集光アンテナのクロロフィル *a* を部分的に基質としていることがわかった。分解されないクロロフィル *a* は、クロロフィル *b* によって安定化された光化学系 II 周辺集光アンテナ内部に存在し、*SGR* が作用できないためと考えられる。

透過型電子顕微鏡で葉緑体のチラコイド膜の観察を行ったところ、*SGR/nyc1 nol* においてグラナ構造が厚くなる現象が観察された。クロロフィル *b* は光化学系 II 周辺集光アンテナの構造安定化に寄与しており、グラナは正・負両方の電荷をもつ光化学系 II 周辺集光アンテナ同士や、周辺集光アンテナの負の電荷と Mg^{2+} の電気的相互作用で構造が作られている。このことから、*SGR/nyc1 nol* のグラナ構造が厚くなる現象は、光化学系 II 周辺集光アンテナだけが分解されず蓄積するためと考えられる。

SGR を発現させると、*SGR/WT*、*SGR/nyc1 nol* 共に CO_2 吸収量、光化学系 II の最大量子収率、熱放散が低下した。このことから、*SGR* の発現を誘導させて起こる老化現象は自然老化とほぼ同じであることが明らかとなった。 CO_2 吸収量、光化学系 II の最大量子収率、熱放散の低下は *SGR/nyc1 nol* のほうが大きかった。これは *SGR/nyc1 nol* ではクロロフィル *b* が分解されないために周辺趣向アンテナを分解できず、分解され始めた反応中心に供給されるエネルギー量が過剰になることが原因であると考えられる。

以上より、本研究ではクロロフィル *a* 分解酵素である *SGR* の発現によるクロロフィル *b* の分解が *NYC1* の作用であることが明らかとなり、ジャスモン酸や活性酸素が *SGR* と *NYC1* の橋渡しをしていることが示唆された。*SGR* の発現誘導後、植物は様々な経路で *NYC1* を誘導していた。老化時の細胞では、ある現象を起こす遺伝子が他の反応にも作用して老化関連の諸反応を駆動することで、加速度的に、また安全に老化を進めていると考えられる。本研究では *SGR* がクロロフィル *a* を分解する反応を起点に、ジャスモン酸を介して *NYC1* によるクロロフィル *b* の分解など種々の反応の制御に関わっていた。もし *SGR* と *NYC1* のどちらかの作用が先行し、クロロフィルとクロロフィル結合タンパク質の分解が無秩序に行われると、反応中心と周辺集光アンテナの量比が崩れるなどしてエネルギーの処理が不十分となり活性酸素を生成してしまう。活性酸素は細胞内のタンパク質を分解し、細胞死を起こす。*SGR* と *NYC1* を協調的に発現させるのは、クロロフィルとクロロフィル結合タンパク質の分解を秩序立って均整のとれたものにするためであると考えられる。生活環境を選べない植物にとって、生存に適さない環境では迅速に次世代を作る必要がある。植物は老化時に自己の組織や細胞成分を分解・転流して次世代を生産する。より確実に次世代を生産するには、転流が不十分となる細胞死は避ける必要がある。このように、関連し合う様々な経路を用いて加速度的に老化を進めるのは、次世代をより多く、より確実に生産する一つの生存戦略であると考えられる。