

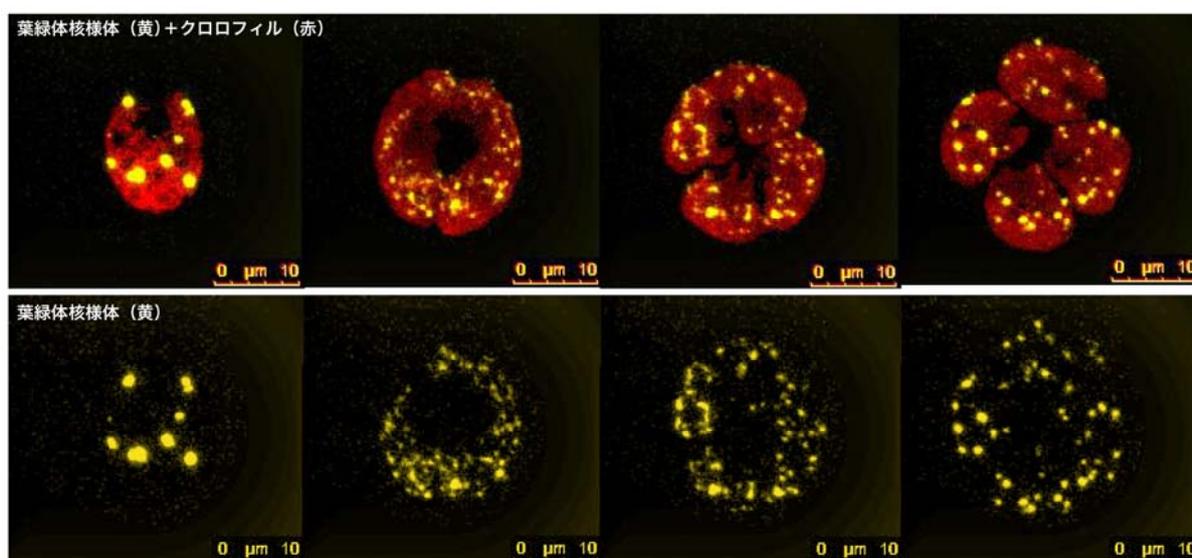
葉緑体の染色体分離の瞬間をとらえた —葉緑体核様体の柔軟なネットワーク構造を解明—

概要

葉緑体は光合成などを担う重要な細胞内小器官です。その起源は独立した藍色細菌がとりこまれて共生したものといわれており、その証拠に葉緑体には独自のゲノム（DNAの全ての遺伝情報）が存在します。葉緑体ゲノムはタンパク質によって折りたたまれて「核様体」を形成し、これらは葉緑体における遺伝子機能の中枢として機能します。しかしこれまで、葉緑体核様体の動きを生きた細胞で捉えた例はありませんでした。そこで京都大学大学院理学研究科 上村嘉誉 修士課程院生（研究当時）、西村芳樹 助教らの研究チームは、単細胞緑藻クラミドモナスに注目し、葉緑体核様体を蛍光タンパク質によって標識し、マイクロ流体デバイスによって観察することにより、その挙動を生きたまま追跡することに成功しました。

クラミドモナスでは、葉緑体はひとつの葉緑体あたり通常5～10個存在する球状構造であると考えられてきました。ところが今回の観察の結果、それら球状の葉緑体核様体が、葉緑体分裂にともなって細かく解体され、互いにつながったネットワーク状構造へと変化し、葉緑体分裂の完了とともに再び球状構造に復帰するというダイナミックな動態が、世界で初めてとらえられました。これにくわえ、葉緑体核様体が凝集してしまう変異体では、葉緑体核様体の新規合成が既成の葉緑体核様体の外側の近傍領域で起きており、そこで形成された微小な粒子が次々に取り込まれる様子がとらえられました。今回の発見により、葉緑体核様体が孤立した球状構造であるとする40年来の定説が覆され、それが実際には柔軟なネットワーク構造を形成していること、さらに葉緑体核様体の近傍領域は、葉緑体ゲノムの複製と核様体構築のホットスポットであることが明らかになってきました。

本研究成果は、2018年5月17日に英国の科学誌「Communications Biology」に掲載されました。



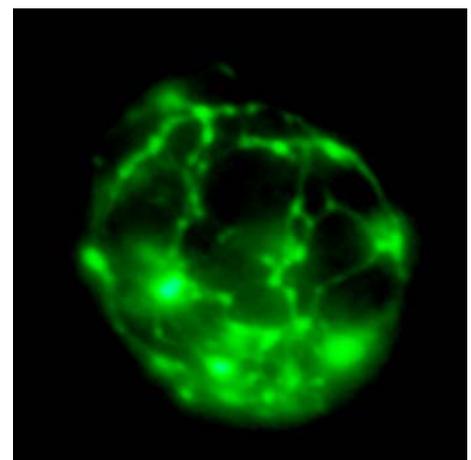
1. 背景

光合成は地球の生命活動の基盤です。それを担っているのは、植物や藻類がもつ直径わずか5マイクロメートルほどの小さな細胞内小器官である葉緑体（色素体）です。葉緑体には、シアノバクテリア様の祖先から引き継がれた独自の葉緑体 DNA があり、これらには光合成装置の構築や葉緑体の形成に欠かせない遺伝子群がコードされています。葉緑体 DNA は裸で葉緑体内に浮遊しているわけではなく、多様なタンパク質によって折りたたまれて“核様体”とよばれる構造を形成しています。葉緑体核様体は、いわば葉緑体にとっての「染色体」であり、細胞核の場合と同様に、葉緑体 DNA の複製・分配の基盤です。

葉緑体核様体はこれまで、おもに蛍光顕微鏡によってさかんに観察され、植物の組織分化や栄養状態によって様々な形態をとること、さらに藻類の種によって多様な分布様式を示すことがわかってきました。しかし、実際に生きた細胞のなかで、葉緑体核様体のうごきを追跡した例はありませんでした。植物細胞のなかには、数十～数百の葉緑体が存在し、それらが細胞内をうごめいているために、ひとつの葉緑体の分裂を長時間にわたって追跡することは困難だったためです。そこで私たちは、ひとつの細胞あたりひとつの葉緑体をもつ単細胞緑藻クラミドモナスに注目することにしました。

2. 研究手法・成果

緑藻クラミドモナスは単純な構造をしており、また蛍光タンパク質によって葉緑体核様体を標識することも可能です。しかしかれらは植物でありながら2本の鞭毛をもって活発に泳ぎまわってしまうため、クラミドモナスの細胞を1箇所固定して長時間にわたって培養しながら、その様子を蛍光顕微鏡で追跡する技術の開発が鍵となりました。そのために採用したのがマイクロ流体デバイスです。この技術では、ガラスと透明な樹脂の間のわずか3～5μmのギャップに細胞を閉じ込め、そこにマイクロポンプをもちいて培地を供給することで細胞の長時間培養と顕微鏡観察を可能とします。これにより、葉緑体分裂時の葉緑体核様体のうごきを世界で初めてとらえることに成功しました。



蛍光タンパク質によって可視化された葉緑体核様体ネットワーク

観察された葉緑体核様体のうごきはダイナミックでした。ひとつの葉緑体あたり5～10個の球状構造として観察される葉緑体核様体は、葉緑体分裂のタイミングが近づくと、激しく動きはじめ、互いにつながったネットワーク構造へと変化していきました。そのネットワーク構造は、葉緑体分裂の直前には葉緑体全体に拡散しましたが、葉緑体分裂の完了とともに急速にうしなわれ、球状構造へと戻っていきました。さらに葉緑体核様体の凝集変異体でも観察をしてみました。その結果、葉緑体核様体の新規の合成が既成の葉緑体核様体の中心ではなく、その近傍領域でおきており、ここで葉緑体 DNA の合成、葉緑体核様体の前駆体の構築がなされたのちに、微細な粒子状構造が次々に取り込まれていくことで葉緑体核様体が大きくなっていくことがわかりました。

3. 波及効果、今後の予定

葉緑体核様体は、葉緑体における染色体ともいえるべき構造で、葉緑体における遺伝子機能の中核といわれています。今回、その動態を追跡するシステムが構築できたことから、今後このシステムをさらに多くの生物や変異体の解析に応用していくことで、核様体の構造制御のしくみ、葉緑体核様体の構造と葉緑体遺伝子の発現機構、葉緑体ゲノムの複製・修復機構との関係性を遺伝子レベルで明らかにしていくことができると期待しています。そうした基礎的知見を蓄積していくことで、将来的には葉緑体の機能を増強し、光合成能力が高く、光ストレス環境に強い農作物の開発にもつなげていくことができるかもしれません。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、文部科学省科研費、新学術領域研究(17H05840)、挑戦的萌芽研究(16K14768)、および基盤研究 B(18H02460)の支援を受けて行われました。

<論文タイトルと著者>

タイトル : Chloroplast nucleoids as a transformable network revealed by live-imaging with a microfluidic device

著者 : Yoshitaka Kamimura¹, Hitomi Tanaka¹, Yusuke Kobayashi², Toshiharu Shikanai¹, Yoshiki Nishimura^{1*}

掲載誌 : Communications Biology DOI : 10.1038/s42003-018-0055-1