

葉緑体の発達を適正に制御する新しい因子を発見

概要

ブラシノステロイド（BR）は、植物の葉・茎・根の器官伸長など、植物形態形成を促進的に調節する植物ステロイドホルモンです。BRは同時に植物の葉緑体発達や光合成活性も制御することが知られていましたが、その制御を実際に担う因子や具体的な制御の仕組みについては明らかになっていませんでした。

京都大学大学院生命科学研究科 立花諒 日本学術振興会特別研究員(博士課程学生)、中野雄司 教授、山上あゆみ 助教、宮川拓也 准教授、東京大学 浅見忠男 教授、明治大学 久城哲夫 教授、阿部晋、丸上萌々(当時修士課程学生)らの共同研究グループは、葉緑体発達を適正に制御する新規因子 BPG4 を、BR 生合成阻害剤 Brz を用いたケミカルバイオロジー研究によって発見しました。BPG4 は、BR および光により発現制御され、葉緑体チラコイド膜の層構造と連動する葉緑体発達を抑制する機能を持ち、さらに強光下における光合成過剰によって引き起こされる活性酸素ストレスから回避させる生物学的な役割も持つ新規因子であることが明らかとなりました。本研究による BPG4 の発見は、葉緑体発達制御の分子機構の解明、植物の葉緑体発達や光合成活性が適正に制御された新植物の創製を目指す新技術開発、などに繋がると期待されます。

本研究成果は、2024 年 1 月 8 日（現地時間）に国際学術誌「*Nature Communications*」にオンライン掲載されました。

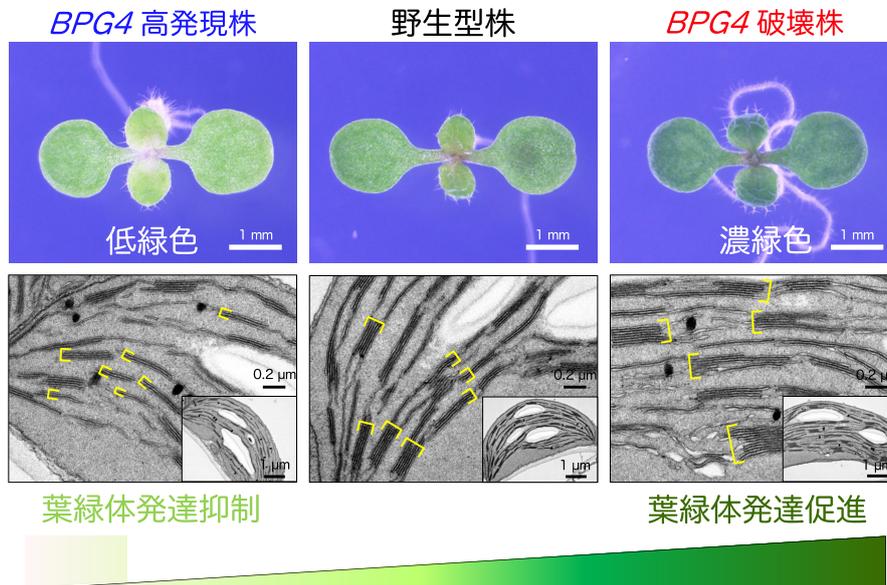


図 1. BPG4 発現量の強弱により植物体の緑化度（上段）・葉緑体発達度（中段）は制御される
中段黄線：葉緑体内の光合成の場であるチラコイド膜層構造の電子顕微鏡観察像

1. 背景

ステロイドホルモン^{*1}は動物、昆虫から植物まで幅広く存在する生理活性化合物であり、植物ではブラシノステロイド(BR)^{*2}と呼ばれる化合物が1970年代に発見されています。ブラシノステロイドは、植物における生理活性化合物群を総称する植物ホルモン類にも分類されており、植物においては葉・茎・根などの器官伸長の促進、環境ストレス耐性向上、病害抵抗性向上、など幅広い植物成長ステージにおいて重要な働きを示す生理活性を持つ化合物であることが近年の研究によって明らかとなりました。

葉緑体は植物固有のオルガネラ（細胞内小器官）として知られます。1990年代に、その機能解明などを目指して突然変異体探索が行われ、暗所発芽条件においても子葉が開き胚軸が短くなり光条件下で発芽したような形態と暗所発芽植物で通常は見られない葉緑体発達や光合成関連遺伝子の発現活性化の両方が観察される突然変異体 *det2* が単離されていました。1997年に、その *det2* 変異体の原因遺伝子が BR 生合成遺伝子であることが報告され、BR は葉緑体発達に重要な役割を果たしていることが明らかとなりました。しかしながら、その後、BR シグナル伝達下流において、この葉緑体発達を制御する鍵遺伝子、つまり、BR の制御下において直接的に葉緑体発達の制御を実行する遺伝子については、明らかにされて来ませんでした。

中野雄司教授らの研究グループは、この BR シグナル伝達下流で働く葉緑体発達の鍵遺伝子の探索を進めてきており、これまでに3種の候補遺伝子を単離し報告してきましたが、その制御機構の本質を担う遺伝子としては、より明瞭な機能を示す未知の遺伝子がさらに存在するのではないかと考えていました。本研究は、この葉緑体発達をより明瞭に制御する鍵遺伝子の探索を、さらに目指すところから始まりました。

2. 研究手法・成果

本研究では、ブラシノステロイド生合成阻害剤 Brz^{*3}によって野生型植物の緑化が促進する現象に着目し、Brz に耐性を示し低緑色形態を維持する突然変異体の探索、単離、原因遺伝子の同定を行うことによって、葉緑体発達の鍵遺伝子候補として、*BPG4* (*Brz-insensitive-pale green4*) を発見しました。この *BPG4* 遺伝子は植物種に進化的に幅広く保存されながら、既知の機能ドメインの認められない新規タンパク質をコードしていました。さらに、*BPG4* 破壊型突然変異体では、クロロフィル（葉緑素）^{*4} 増加を伴う緑化促進とチラコイド膜^{*5}の層構造の層数と連動する葉緑体発達の促進が観察され、*BPG4* 高発現型形質転換植物では、緑化低下と葉緑体発達の抑制が観察されました。

植物の緑化とは、植物生理学的には植物器官におけるクロロフィル（葉緑素）内生量を意味しますが、そのクロロフィル生合成酵素遺伝子群の発現は、GLK1・GLK2 と呼ばれる転写因子によって促進されることが知られていました。そこで *BPG4* タンパク質と GLK タンパク質の関係性について調べたところ、*BPG4* は細胞核の中において GLK と直接結合し、GLK によるクロロフィル生合成酵素遺伝子群の発現を直接阻害していることが明らかになりました。また、BR のシグナル伝達のマスター転写因子としては、中野雄司教授らが単離した BIL1/BZR1 と、その相同性遺伝子 BES1 が広く知られていますが、*BPG4* 遺伝子の発現は、BES1 によって抑制されていることが明らかとなりました。すなわち、*BPG4* は、BR シグナル伝達のマスター転写因子によって制御され、緑化促進転写因子の転写活性抑制を行うことによって、葉緑体発達を抑制する機能を持っていることが明らかとなりました。

一方、この BPG4 は野生型植物において、光照射、Brz 処理、概日リズムによって遺伝子発現が正に活性化され、植物器官においては緑葉で高発現し根では発現していないことが明らかになりました。ここで疑問となったのは、BPG4 は葉緑体発達の抑制機能を持ちながら、なぜ、緑化や葉緑体発達を促進させる環境条件において高く発現しているのか、という機能と発現の一見矛盾と思われる逆比例様関係の意味であり、この謎が BPG4 機能の植物における生物学的意義を解く鍵ではないかと考えました。植物の行う光合成は、葉緑体が太陽光エネルギーの力を借りて、二酸化炭素と水から固形炭素化合物と酸素を産生する反応ですが、強光条件下などにおいて光合成反応が過剰になると、活性酸素が発生してしまい、植物枯死が引き起こされてしまう現象があります。この強光条件下において観察したところ、*BPG4*破壊型突然変異体では活性酸素が発生し光合成活性も低下することに対して、*BPG4*高発現型形質転換植物では活性酸素の発生は抑制され、光合成活性が高く維持されることが明らかとなりました。さらに、光照射時に *GLK* 遺伝子やクロロフィル生合成酵素遺伝子は、非常に早期に光に応答して発現誘導されますが、*BPG4* は光照射後 24 時間程度と遅れて発現上昇することも明らかとなりました。

これらの知見を統合した結果、通常光条件下では転写因子 GLK は光照射を受けて早期発現しクロロフィル生合成と光合成活性を促進し始めますが、BPG4 は GLK を後追いするように遅れて発現し、その後 GLK が過剰な光合成を行わないように抑制する機能を持つと考えられました。さらに強光条件下において BPG4 は GLK の抑制によって GLK が引き起こす過剰な光合成に起因する活性酸素の発生を防ぐ機能を持つ、すなわち BPG4 は葉緑体の恒常性（ホメオスタシス）を維持するホメオスタシスファクターとしての機能も持っていることが明らかとなりました。

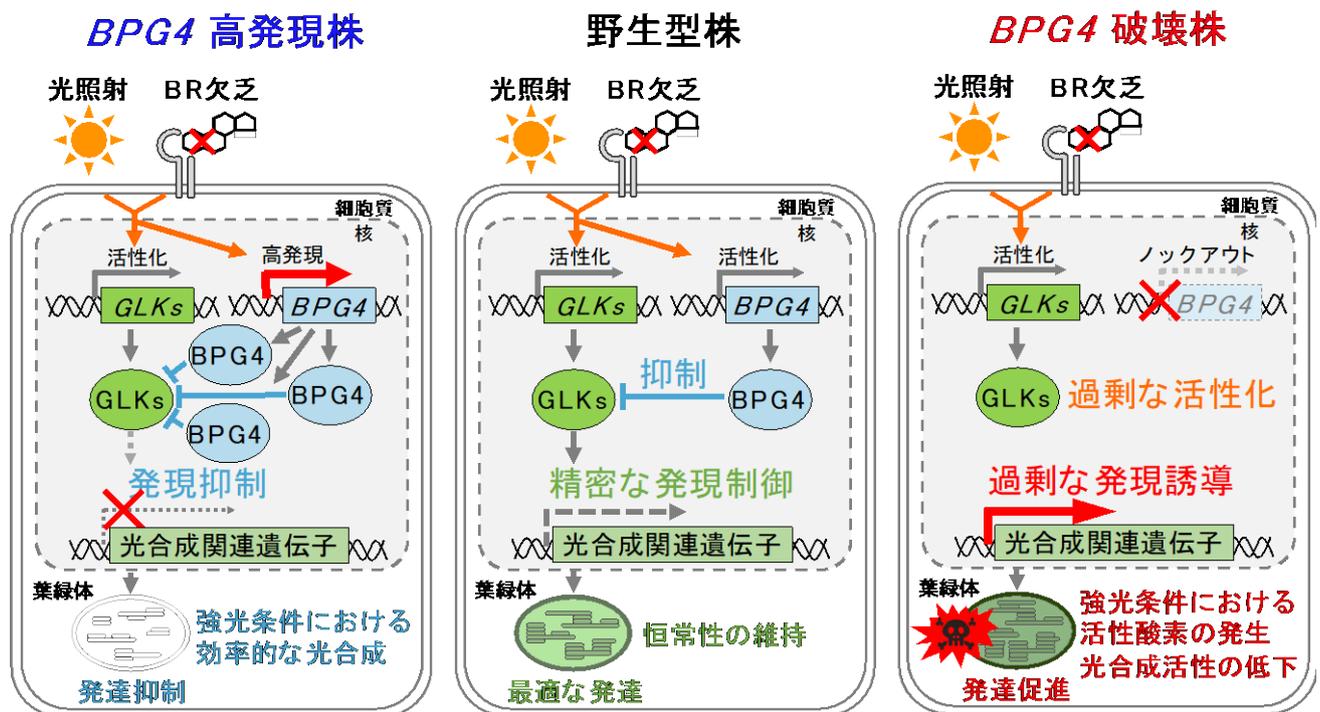


図 2. BPG4 の葉緑体発達制御における分子機能の作業モデル

中：通常光条件下の野生型植物では、*BPG4* 遺伝子が BR と光の制御下において精密な発現制御を受け、BPG4 が葉緑体発達の適正な制御を行う結果、葉緑体恒常性（ホメオスタシス）が健全に維持されている。
 左：強光条件下における *BPG4* 高発現化植物では、BPG4 により葉緑体発達が抑制され、その結果として光合成過剰が抑制され、効率的な光合成が遂行される。

右：強光条件における *BPG4*破壊変異植物では、*BPG4* がいないために葉緑体が過剰に発達促進してしまうため光合成過剰が生じ、その結果として活性酸素が過剰発生する。

弱光条件や変動光条件など、異なる光条件においては、逆に葉緑体発達の促進が求められる状況もあり、*BPG4* の持つ葉緑体発達制御機能は促進化と抑制化の両面において重要と考えられる。

3. 波及効果、今後の予定

本研究で得られた *BPG4* は、BR シグナル伝達経路上に存在すると予測され、長らく探されていた葉緑体発達の制御因子であることが明らかとなりました。さらに *BPG4* は、強光条件下での過剰な光合成を抑制することにより、過剰光合成に由来し細胞毒となる活性酸素の発生を防ぐ葉緑体ホメオスタシスファクターとしての機能も持つことも明らかとなりました。これらの研究は、*BPG4* が葉緑体発達の抑制機能を持ちながら緑化組織で発現している、という一見矛盾と感じられる現象への疑問と興味を解くことから進めました。一方、弱光条件下や変動光条件下など光合成量が足りない状況では、葉緑体発達の促進を植物が求めることも多いため、*BPG4* が光合成活性を促進するために機能する環境条件もあることも予測されます。

このように *BPG4* の発見は、葉緑体発達制御機構を明らかにする手掛かりとなるなどの基礎研究的としての波及効果に加えて、葉緑体発達や光合成活性の促進と抑制を必要に応じて制御した新植物創製に繋がる応用研究としての波及効果が期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、以下の研究費などの支援を受けて実施されました。

科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業（CREST）「二酸化炭素資源化」、日本学術振興会 科学研究費助成事業（21K19077, 21H02114）、生研支援センター・戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）第3期「豊かな食が提供される持続可能なフードチェーンの構築」（JPJ012287）。

<研究者のコメント>

大気中の二酸化炭素増大による地球温暖化・気候異常変動が深刻化する現代において、大気中の二酸化炭素を吸収し植物体に固定する葉緑体の制御機構、葉緑体を支え制御する植物個体レベルの成長制御機構の研究は一層重要になると考えられます。本研究によって得られた *BPG4* は、長らく探されていた BR シグナル伝達下流で葉緑体発達制御と光合成活性制御の本質を担う鍵遺伝子を発見した、という基礎研究の観点から重要なマイルストーンになると考えていますが、同時に植物成長制御技術の開発においても役立つ可能性が期待出来る遺伝子と考えられるため、地球環境改善・食糧増産などに貢献する応用研究へも発展させていきたいと考えています。（中野雄司）

<用語解説>

※1. ステロイドホルモン

多細胞生物が種を越えて広く持っている生理活性化合物。ステロイド骨格と呼ばれる4環性骨格を持つ。哺乳類では筋肉などを作る男性ホルモンのテストステロン、妊娠の維持に関わる女性ホルモンのプロゲステロン、昆虫では脱皮に関係するエクダイソン、植物ではブラシノステロイドが知られている。各生物種において細胞伸長や細胞分裂など、生物種を越えた共通の生理活性を持つと同時に、各生物種に固有の生理活性を持つ化合物。

※2. ブラシノステロイド (BR)

1979年にアメリカ農務省の研究グループがアブラナの花粉から発見し、化学構造を決定した植物ホルモンの一つ。植物に対しては、細胞伸長や細胞分裂の促進など細胞レベルの促進的作用や、子葉の開化、胚軸の伸長、維管束の分化、緑葉の上偏成長、葉柄の伸長、茎の伸長など器官レベルの制御作用、また、ストレス耐性の付与（耐冷、耐塩、耐乾燥）や植物病害抵抗性の促進（植物自然免疫の活性化）、葉緑体発達や光合成の制御など、さまざまな生理作用を示す。

※3. Brz

BR 生合成酵素 DWF4 を特異的に阻害する化合物。1998年に理化学研究所の浅見忠男博士（現：東京大学大学院農学生命科学研究科）らが創製した。Brzを植物に処理すると、植物をBR生合成欠損変異体と同じような形・大きさ・葉色にすることが可能である。

※4. クロロフィル (葉緑素)

光合成明反応において光エネルギーを吸収し化学エネルギーへ変換する初期段階を担う化合物。

※5. チラコイド／チラコイド膜

葉緑体内に存在する扁平な膜胞構造体。光エネルギーを受容する集光性クロロフィル a/b 結合タンパク質 (LHCP)、光合成の光化学系 I 複合体および II 複合体は、このチラコイド膜上に存在し、光合成明反応の場となっている。近年の研究によって、チラコイド膜層構造の増減は、LHCP タンパク質の存在量によって規定されていると考えられており、BPG4 遺伝子によるチラコイド膜層構造の促進制御も BPG4>GLK> LHCP 遺伝子発現とシグナルが伝達される分子制御機構によって起きていると研究チームは考えている。

<論文タイトルと著者>

タイトル BPG4 regulates chloroplast development and homeostasis by suppressing GLK transcription factors and involving light and brassinosteroid signaling.

(BPG4 は光とブラシノステロイドのシグナル伝達下流において転写因子 GLK を抑制し、葉緑体の発達と恒常性 (ホメオスタシス) を制御する)

著者 Ryo Tachibana¹, Susumu Abe^{2,3}, Momo Marugami^{2,3}, Ayumi Yamagami¹, Rino Akema¹, Takao Ohashi¹, Kaisei Nishida¹, Shohei Nosaki⁴, Takuya Miyakawa¹, Masaru Tanokura⁵, Jong-Myong Kim^{2,5,6}, Motoaki Seki², Takehito Inaba⁷, Minami Matsui², Kentaro Ifuku⁸, Tetsuo Kushiro³, Tadao Asami⁵, Takeshi Nakano^{1,2}

所属 ¹Graduate School of Biostudies, Kyoto University.

²RIKEN, Center for Sustainable Resource Science (CSRS).

³School of Agriculture, Meiji University.

⁴Faculty of Life and Environmental Sciences, Tsukuba University.

⁵Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo.

⁶Ac-Planta Inc.

⁷Faculty of Agriculture, University of Miyazaki.

⁸Graduate School of Agriculture, Kyoto University.

掲載誌 *Nature Communications*

DOI <https://doi.org/10.1038/s41467-023-44492-5>