

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		マイクロ流体プラットフォームが捉える葉緑体核様体のダイナミクス			
研究テーマ (欧文) AZ		Dynamics of chloroplast nucleoids captured by the microfluidic platform			
研究氏 代表名 者	カナ CC	ニシムラ	ヨシキ	研究期間 B	2014 ~ 2016 年
	漢字 CB	西村	芳樹	報告年度 YR	2016年
	ローマ字 CZ	Nishimura	Yoshiki	研究機関名	京都大・院・理
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都大学大学院 理学研究科 助教			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>細胞核における染色体と同様に、葉緑体ゲノムは細胞内で多様なヒストン様タンパク質と結合し、「核様体」とよばれる DNA-タンパク質複合体を形成する。葉緑体核様体は、ゲノムの複製、修復、遺伝子発現、遺伝の要であると提唱されているが、その具体的なタンパク質構成・機能や動態については未解明な点が多い。申請者らは、葉緑体核様体の分子進化、ダイナミズムに焦点を絞り、その実像に迫った。</p> <p>I. 葉緑体核様体の分子進化：葉緑体核様体は陸上植物からシダ、コケ、藻類に至る広範な生物で観察される普遍的な構造である。しかし、その分子構造の実態はこれまで明らかでなかった。そこで本研究では、葉緑体核様体の中核構造タンパク質に注目し、様々な生物（クラミドモナス、シャジクモ、ゼニゴケ、シロイヌナズナ）を用いた比較進化学的解析をおこなった。その結果、葉緑体核様体はもともと細菌から持ち込まれたタンパク質によって構成されていたが、それが進化とともに細胞核由来のタンパク質に置き換えられていった経緯が明らかになってきた（小林ら、2015）。さらに陸上植物において主要な葉緑体核様体タンパク質として知られる亜硫酸還元酵素については、その C 末にあるアミノ酸配列(C-terminally encoded peptide (CEP))が葉緑体核様体局在の決定因子であることを示した(小林ら、2016)。以上の研究より、蛍光顕微鏡で観察される葉緑体核様体の中核構造は、分子レベルではそれぞれの生物種の進化的背景を反映して多様化していることが明らかになった。</p> <p>II. 葉緑体核様体のダイナミズム：葉緑体核様体の動態がライブイメージングによって捉えた先例はなかった。そこで我々はマイクロ流体デバイスをもちいて生きた緑藻における葉緑体核様体の動態をとらえることに世界ではじめて成功した。間期は5~8個の球状構造であった葉緑体核様体が、葉緑体分裂前にネットワーク状構造へと移行し、分裂が終了すると急速に球状構造に復元するという、ダイナミックな挙動が明らかになった（上村ら、準備中）。さらに我々は葉緑体核様体の形態に大きな影響を与える遺伝子の同定に成功した。我々が注目した遺伝子は葉緑体型 <i>RECA</i> である。この遺伝子を抑制すると葉緑体核様体は1個の大きな塊へと凝集し、過剰発現すると葉緑体全体に広がるファイバーへと変化した。このことは、RecAなどを介した葉緑体 DNA 分子のトポロジー変化が葉緑体核様体の形状を制御する重要因子であることを示している（Odahara, Kobayashi et al., Plant Physiol. 2016）。</p>					
キーワード FA	葉緑体 DNA	葉緑体核様体	マイクロ流体デバイス	分子進化	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Eukaryotic Components Remodeled Chloroplast Nucleoid Organization during the Green Plant Evolution							
	著者名 ^{GA}	Kobayashi et al.	雑誌名 ^{GC}	Genome Biology and Evolution.					
	ページ ^{GF}	1~16	発行年 ^{GE}	2	0	1	5	巻号 ^{GD}	8
雑誌	論文標題 ^{GB}	C-Terminal Region of Sulfite Reductase Is Important to Localize to Chloroplast Nucleoids in Land Plants							
	著者名 ^{GA}	Kobayashi et al.	雑誌名 ^{GC}	Genome Biology and Evolution					
	ページ ^{GF}	1459~1466	発行年 ^{GE}	2	0	1	6	巻号 ^{GD}	8
雑誌	論文標題 ^{GB}	Dynamic interplay between nucleoid segregation and genome integrity in <i>Chlamydomonas chloroplasts</i>							
	著者名 ^{GA}	Odahara et al.	雑誌名 ^{GC}	Plant Physiology					
	ページ ^{GF}	in press	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Chloroplast (cp) DNA is packaged into cpDNA-protein complexes, called cp nucleoids. Cp nucleoids are thought to be functional unit of cpDNA replication, inheritance, and transcription. However, the detailed molecular compositions and their behaviors remain unclear. In this research, we aimed to understand the molecular evolution and dynamics of cp nucleoids.

I. Molecular evolution of cp nucleoids: cp nucleoids are observed as dot-like structure in chloroplasts of diverse taxa of plants and algae. However, their molecular composition and evolutionary process remain largely unclear. In this research, we studied the molecular composition of core structural proteins of cp nucleoids in several key organisms representing evolutionary stages of eukaryotic phototrophs. This analysis showed that recurrent modification of cp nucleoid organization by eukaryotic factors might have been the driving force for the diversification of cp nucleoids since the early stage of green plant evolution (Kobayashi et al., GBE 2015). Furthermore, we also studied sulfite reductase (SiR), which is one of the most abundant components of cp nucleoids in land plants, and found that the C-terminally encoded peptide (CEP) is the major determinant for the cp nucleoid localization for SiR in land plants.

II. Dynamics of cp nucleoids: The dynamic motion of cp nucleoids has been suggested to occur in algae and land plants (Ehara et al., 1990; Terasawa and Sato 2005) but no direct observations have been reported so far. In this research we employed a microfluidic device to culture living cells on a confocal microscope so that we could follow the behaviors of cp nucleoids during chloroplast division. Based on this strategy, we succeeded in capturing the motion of cp nucleoids for the first time (Kamimura et al., in preparation). Furthermore, we successfully identified a gene that has a huge impact on the morphology of cp nucleoids. The gene that we focused was chloroplast-targeted *RECA*. When the gene was repressed by amiRNA technology, cp nucleoids were merged to be 1~2 aggregates. On the contrary, when the gene was over-expressed, cp nucleoids were transformed into a huge fiber, indicating the dynamic interplay between cp nucleoid morphology and cpDNA topology regulated by cpDNA interacting factors including RecA (Odahara, Kobayashi et al., Plant Physiol. 2016).