



2017年2月8日

報道関係各位

放射線や化学物質により形成される植物の核内構造体の発見

～植物のストレス診断指標を見出す～

東京理科大学

【要旨】

東京理科大学工学部応用生物科学科の松永 幸大（まつなが さちひろ）教授および理工学研究科博士後期課程1年の平川 健（ひらかわ たけし）らの研究グループは、植物のDNA修復開始時に細胞核内で形成される構造体・RAD54 フォーサイを発見しました。

放射線照射や化学物質暴露はDNA損傷を引き起こし、細胞分裂の遅延や細胞死を介して生物の正常な成長を阻害します。そのため、生物は速やかに、DNA修復を開始します。DNA修復に関わるタンパク質が修復開始時に、どのような挙動を示すのか、よくわかっていませんでした。松永教授らの研究グループは、DNA損傷を引き起こす放射線照射や化学物質暴露などのDNA損傷ストレス直後の植物の細胞核内の構造に注目しました。その結果、DNA損傷ストレスを与えた後30分以内に、クロマチン構造を制御するタンパク質RAD54が集合して、核内構造体（RAD54 フォーサイと命名）を形成することを発見しました。また、RAD54 フォーサイの形成の有無や出来やすさには細胞ごとに特異性がありました。このことは植物であっても、ストレスに対する感受性の強弱やDNA修復速度が細胞ごとに異なることを示しています。

本研究の発見は、植物の細胞核を観察して核内構造体の有無を確認するだけで、放射線や化学物質などによる植物のストレス度合いを診断する方法の開発につながることで期待されます。

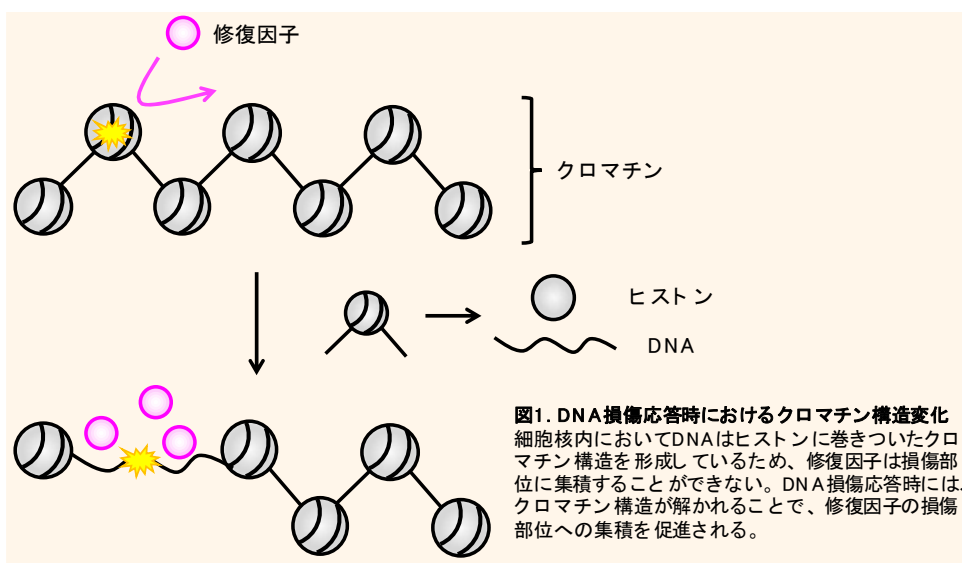
本研究成果は、英国の科学雑誌 *The Plant Journal* のオンライン版において、2月6日に公開されました。

【研究の背景と内容】

放射線、紫外線、化学物質などの要因は、生命情報をコードするDNAに対して傷をつける、すなわちDNA損傷を誘導します。DNA損傷は細胞の自律的細胞死や癌化を誘導する原因となるため、速やかに修復される必要があります。

近年、DNA 損傷ストレスに対する応答時に細胞核内におけるクロマチン構造が変化することが、動物培養細胞や酵母を用いた研究により明らかにされています。細胞核において、DNA はそのまま存在しておらず、ヒストンタンパク質に巻きつき、クロマチン構造を形成しています。クロマチン構造は DNA 修復に対して阻害的な構造であるため、DNA 損傷が生じた際は、クロマチン構造が解かれます (図 1)。このクロマチン構造の変化は DNA 修復の進行に必要不可欠であることが示されていますが、具体的な制御機構については未解明な点が数多く残されています。また、動植物個体を用いて、組織や細胞種ごとに DNA 損傷応答時におけるクロマチン構造変化を観察した研究例はほとんど存在していません。

当研究グループは以前、モデル植物であるシロイヌナズナにおいて、DNA 損傷の一種である DNA 二本鎖切断により、細胞核内のクロマチン動態が構造変換に伴い変化することを明らかにしました。また、この動態変化には、クロマチンリモデリング因子 RAD54 が関与していることも示しました。クロマチンリモデリング因子は、クロマチンからヒストンタンパク質の除去やヒストン修飾の変化を介して、クロマチン動態をダイナミックに変化させます。そこで、当研究グループは、生細胞における RAD54 の動態を解析することで、植物 DNA 損傷応答におけるクロマチン構造変化の制御メカニズムに迫ることにしました。



RAD54 を緑色蛍光タンパク質 EYFP で標識したシロイヌナズナ形質転換株を作製し、細胞内局在を観察しました。その結果、RAD54 は細胞核に局在しており、DNA 二本鎖切断を誘導する放射線を照射したところ、細胞核内でドット状の構造体を形成しました (図 2)。当研究グループはこの構造体を「RAD54 フォーサイ」と名付け、解析を進めました。

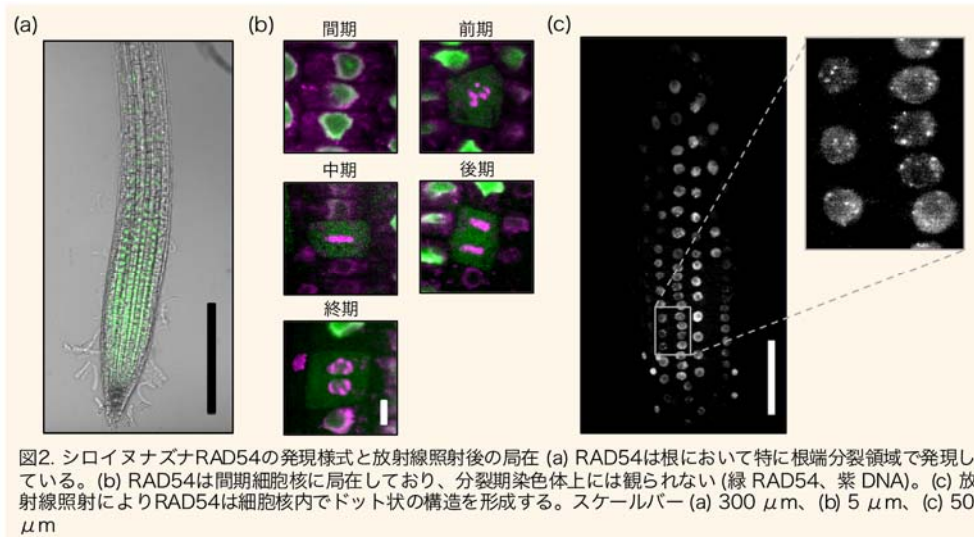


図2. シロイヌナズナRAD54の発現様式と放射線照射後の局在 (a) RAD54は根において特に根端分裂領域で発現している。(b) RAD54は間期細胞核に局在しており、分裂期染色体上には観られない(緑 RAD54、紫 DNA)。(c) 放射線照射によりRAD54は細胞核内でドット状の構造を形成する。スケールバー (a) 300 μ m、(b) 5 μ m、(c) 50 μ m

RAD54 フォーサイは、DNA 損傷が生じた部位に特異的に形成されることや、DNA 損傷のマーカー因子である γ H2AX と共局在したことから、DNA 修復の場であることが示されました。また、RAD54 を欠損した株は DNA 損傷に対して野生株よりも弱い耐性を示したことから、RAD54 フォーサイはストレス存在下の生育において機能していることがわかりました (図3)。

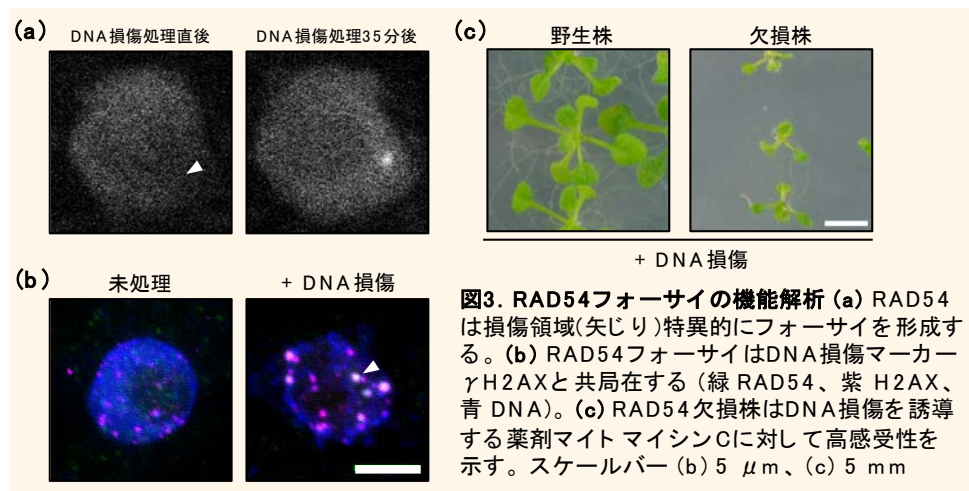
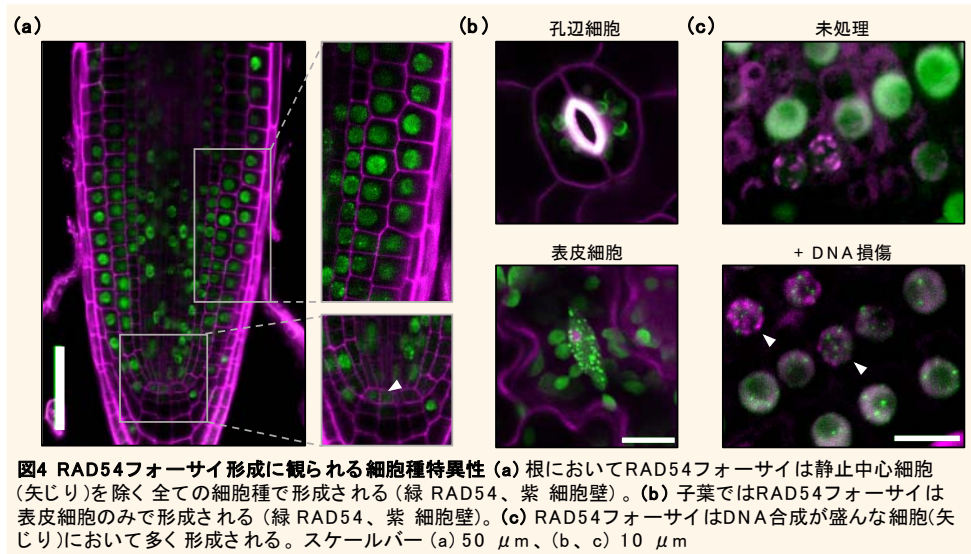


図3. RAD54フォーサイの機能解析 (a) RAD54は損傷領域(矢じり)特異的にフォーサイを形成する。(b) RAD54フォーサイはDNA損傷マーカー γ H2AXと共局在する(緑 RAD54、紫 H2AX、青 DNA)。(c) RAD54欠損株はDNA損傷を誘導する薬剤マイトマイシンCに対して高感受性を示す。スケールバー (b) 5 μ m、(c) 5 mm

次に、RAD54 フォーサイの観察を細胞種ごとに行いました。子葉において、RAD54 フォーサイは表皮細胞のみで観られ、気孔を構成する孔辺細胞では観察されませんでした。根端においては、RAD54 フォーサイは幹細胞に囲まれている静止中心細胞を除く全ての細胞種で観察されました。RAD54 のフォーサイ形成に観られた細胞種特異性に対して、孔辺細胞や静止中心細胞では細胞周期の進行が停止していることから、細胞周期に注目して解析を進めました。その結果、RAD54 フォーサイは DNA 複製が起こる S 期から G2 期の細胞において高い頻度で形成され、G1 期の細胞ではあまり形成されないことを見出しました。このことから、RAD54 フォーサイの形成における細胞種特異性は細胞周期に依存していることがわかりました (図3)。



【成果の意義と社会への貢献】

DNA 損傷ストレス（放射線や化学物質）の感受性評価は、動物では個体レベル（倦怠感、行動異常など）または組織レベル（皮膚や目の異常など）での指標が使用されています。植物は動物と同じ指標が適用出来ず、評価方法も明確に確立されていませんでした。今回の我々が発見した RAD54 フォーサイは、植物の DNA 損傷ストレスに対する初期応答や DNA 修復開始の明確な指標と成り得ます。今後、RAD54 フォーサイ形成機構を調べることで、植物のストレス応答や DNA 修復の初動態勢のメカニズムが明らかになると期待されます。また、RAD54 は、ほとんどすべての植物に共通して存在しているために、様々な植物の DNA 損傷ストレスの指標に成り得ます。RAD54 フォーサイは細胞特異性があることからストレスを受けた場所やストレスの程度を知ることができます。さらに、ストレスを受けてから 30 分以内に形成されて、その数日後に消失します。このような RAD54 フォーサイの時空間的性質を利用して、植物のストレス診断法が開発されることが期待されます。

【論文について】

掲載雑誌: *The Plant Journal*

論文名: RAD54 forms DNA repair foci in response to DNA damage in living plant cells

(RAD54 は植物生細胞の DNA 損傷応答において DNA 修復フォーサイを形成する)

著者: Takeshi Hirakawa、Junko Hasegawa、Charles I. White and Sachihito Matsunaga

(平川 健、長谷川 淳子、Charles I. White、松永 幸大)

DOI: 10.1111/tpj.13499

【研究費】

本研究は以下の科学研究費による支援を受けました。

- ・ JST 戦略的創造研究推進事業 CREST

二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と生産物活用のための基盤技術の創出

- ・ 新学術領域研究 植物の成長可塑性を支える環境認識と記憶の自立分散型統御システム
環境刺激によるクロマチン動態制御機構の解明 (15H05962)

- ・ 基盤研究 B

核内構造ダイナミクスを司る染色体相互作用メカニズムの解明 (26291067)

- ・ 特別研究員奨励費

DNA 損傷に伴うクロマチン構造変化の制御メカニズム (16J06389)

オーキシンにより制御されるクロマチン構造ダイナミクスの解析 (15J07264)

～本件に関するお問い合わせ～

東京理科大学 研究戦略・産学連携センター

〒162-8601 東京都新宿区神楽坂 1-3

TEL : 03-5228-7440 FAX : 03-5228-7441

E-mail : ura@admin.tus.ac.jp