

光合成研究

第27巻 第2号 (通巻79号) 2017年8月
NEWS LETTER Vol. 27 NO. 2 August 2017

THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

ご案内	日本光合成学会 次期会長選挙のお知らせ	70
解説特集	「植物のバイオマス生産能力の強化に向けた取り組み」	71
序文	矢守 航 (東京大)	72
解説	オルタナティブ電子伝達による光合成電子伝達制御 山本 宏 (京都大)	74
解説	サーマルイメージング法による気孔 CO ₂ 応答解析から見出された新たな植物環境応答機構 高橋 将 他 (九州大)	84
解説	Rubisco の改変による C ₃ 型植物の光合成機能改良の試み 鈴木 雄二 他 (岩手大 他)	94
解説	ソースおよびシンク能力の改変による植物バイオマス生産能強化 田部 記章 他 (近畿大 他)	103
解説	植物葉群における葉間窒素分配の最適性 彦坂 幸毅 (東北大)	110
特別企画	南仏ポストドク滞在記 溝上 祐介 (CEA Cadarache)	115
報告記事	第8回 日本光合成学会 (年会・公開シンポジウム) 開催報告 杉浦 美羽 (愛媛大) 古本 強 (龍谷大)	117
報告記事	第13回若手の会セミナー開催報告 横山 諒 (岡山大・ウィスコンシン大)	119
報告記事	第1回光合成蛋白質の構造情報利用講習会開催報告 栗栖 源嗣 (大阪大)	120
報告記事	第73回 藤原セミナー International Conference “Molecular Life of Diatoms” を開催して 松田 祐介 (関西学院大)	122
報告記事	13th International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors of Photosynthetic Organisms 参加報告 寺村 美里 (立命館大)	124
集会案内	第33回 (2017) 京都賞記念ワークショップ基礎科学部門シンポジウム	126
事務局からのお知らせ		127
日本光合成学会会員入会申込書		128
日本光合成学会会則		129
幹事会名簿		131
会員名簿		132
編集後記・記事募集		143
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2017 年度役員		144
次期会長選挙 投票用紙		
賛助法人会員広告		

ご案内：日本光合成学会 次期会長選挙のお知らせ

「日本光合成学会会則（平成 21 年 6 月 1 日施行）第 5 条」に基づき、次期会長選挙（任期：平成 31 年 1 月 1 日～平成 32 年 12 月 31 日の 2 年間）を行ないます。本会では任期一年前に新会長を選出し、会の円滑、継続的な運営をはかることになっています。この会報の末尾に添付されている投票用紙に会員の中から会長候補者 1 名の氏名を明記し、同封した返信用封筒に入れて選挙管理委員会宛に 9 月 30 日までにご返送下さい（消印有効）。会員名簿は本号の巻末をご覧ください。

これまでの本会会長は、宮地重遠、西村光雄、佐藤公行、金井龍二、井上頼直、高宮建一郎、村田紀夫（二期）、伊藤繁（二期）、池内昌彦（二期）、田中歩、高橋裕一郎（現会長・二期目：任期 平成 29 年 1 月 1 日～平成 30 年 12 月 31 日）の 諸氏です。「会則 5 条の 1 では会長は二期を超えて再任されないこと」となっております。今回の選挙では村田紀夫、伊藤繁、池内昌彦の三氏と現会長に被選挙権はありません。

日本光合成学会役員選出に関する申し合わせ（平成 27 年 5 月 27 日幹事会）第 2 条「幹事は、会長選挙に推薦する候補者としてふさわしい会員を 3 名連記で投票する。投票結果が上位の会員について、常任幹事会は、本人の意向を確認した上で、若干名を推薦候補者として決定する。」に基づき、常任幹事会は以下の 2 名（五十音順）を会長候補者として推薦します。

鹿内 利治（京都大学） 久堀 徹（東京工業大学）

日本光合成学会 選挙管理委員会

日原 由香子（埼玉大学大学院理工学研究科）

西山 佳孝（埼玉大学大学院理工学研究科）

投票用紙の送付先

〒338-8570

さいたま市桜区下大久保 255

埼玉大学大学院理工学研究科

日原由香子研究室

日本光合成学会選挙管理委員会 行き

解説特集

植物のバイオマス生産能力の強化に向けた取り組み

Editors: 矢守 航 (東京大学)

序文	矢守 航 (東京大)	72
解説 オルタナティブ電子伝達による光合成電子伝達制御	山本 宏* (京都大)	74
解説 サーマルイメージング法による気孔 CO ₂ 応答解析から見出された新たな植物環境応答機構	高橋 将, 門田 慧奈, 祢冨 淳太郎, 射場 厚* (九州大)	84
解説 Rubisco の改変による C ₃ 型植物の光合成機能改良の試み	鈴木 雄二 ^{*,1,3} , 和田 慎也 ^{1,3} , 牧野 周 ^{2,3} (¹ 岩手大、 ² 東北大、 ³ JST-CREST)	94
解説 ソースおよびシンク能力の改変による植物バイオマス生産能強化	田部 記章 ^{1,4} , 田茂井 政宏 ^{*,1,4} , 菊池 彰 ^{2,4} , 横田 明穂 ^{3,4} , 重岡 成 ^{1,4} (¹ 近畿大農学部、 ² 筑波大、 ³ (株)植物ハイテック、 ⁴ JST/CREST)	103
解説 植物葉群における葉間窒素分配の最適性	彦坂 幸毅* (東北大)	110

*責任著者 (corresponding author)

解説特集

序文[‡]

東京大学 大学院理学系研究科

矢守 航¹

世界の人口が増加し続ける一方で、地球温暖化や異常気象の影響を受け、世界規模で深刻な食糧不足を招きつつある。そのような状況下、作物の増収は社会的にも植物科学の分野においても、最も重要な課題の一つである。それに加えて、大気 CO₂ 濃度の増加による地球温暖化の緩和のため、化石燃料に依存しないエネルギー生産が求められており、植物をエネルギー源として利用する動きが進んでいる。また、植物は地球上最大の CO₂ 吸収源であり、大気 CO₂ 濃度上昇抑制そのものへの大きな期待も寄せられている。その中でも、光合成研究は、食糧とエネルギー不足および大気 CO₂ 削減などの極めて重要な問題の解決に直結している。光合成の改変によりバイオマスの向上を真摯に目指す上で、光合成反応における基盤的な研究は不可欠である。このような背景のもとで、現在、種々の大型研究プロジェクトが動いており、植物の物質生産の基本である光合成の制御機構を統合的に理解し、植物の持つ光合成能力や環境適応能力などの物質生産能力を向上させる基盤技術についての研究が進んでいる。

光合成反応は、葉緑体チラコイド膜の電子伝達系によって光エネルギーを化学エネルギー (ATP と NADPH) に変換するプロセスと、葉緑体ストロマの炭酸固定系 (カルビン・ベンソン回路) によって CO₂ を固定し糖やデンプンなどの炭水化物を生産するプロセスに大別できる。後者の過程をもう少し詳細に見てみよう。光合成の基質である CO₂ は、気孔を介して大気中から葉緑体内ストロマまで拡散する。ストロマまで拡散した CO₂ は、酵素 Rubisco によって固定される。Rubisco はリブローズ-1,5-ビスリン酸 (RuBP) に CO₂ を固定し、3-ホスホグリセリン酸 (PGA) を生成する。RuBP の再生産速度は、電子伝達により生産される化学エネルギーのカルビン・ベンソン回路への供給速度やカルビン・ベンソン回路の諸酵素の活性によって決定される。このように見ると、光エネルギーの利用、電子伝達反応、CO₂ の取り込みとその後の代謝反応は密接に関連し、これらが調和して初めて高い光合成活性とバイオマス生産が期待できると言える。

また、これまでは葉レベルでの議論であるが、物質生産能力を議論する上では、植物体の個体レベルで議論する必要がある。葉の窒素含量と光合成速度との間には高い正の相関関係が認められるが、この関係は葉に分配される窒素の 50-60% が光合成系の構成窒素となることで説明される。したがって、いかに窒素含量当たりの光合成能力を向上させることが可能かという点は、個体レベルや群落レベルでの物質生産能力を議論する上で非常に重要となってくる。

本特集では、光合成の統合的理解から光合成効率向上のための技術基盤づくりに関わっている方々に、著者らご自身の成果を中心に近年の動向を解説していただいた。京都大学の山本宏氏には、電子伝達反応の中でも光合成の光利用効率の調整に重要だと考えられている光化学系 I サイクリック電子

[‡]解説特集「植物のバイオマス生産能力の強化に向けた取り組み」

¹連絡先 E-mail: wataru.yamori@bs.s.u-tokyo.ac.jp

伝達の役割とその能力改変について解説していただいた。九州大学の射場厚氏には、気孔における様々な環境情報の受容、伝達、統合機構について概説していただき、気孔開口による CO₂ の取り込み能力の強化について論じていただいた。岩手大学の鈴木雄二氏には、Rubisco の量あるいは酵素機能の改変による光合成の機能改良の試みについて、最近の国内外の動向を中心に紹介していただいた。近畿大学の田茂井政宏氏には、カルビン・ベンソン回路の機能強化による光合成能力の改良について紹介いただいた。また、東北大学の彦坂幸毅氏には、植物葉群内の窒素分配の最適性について解説していただいた。基礎研究は重要で、科学の基盤を構築するばかりでなく新しい分野を切り開くためにも不可欠である。一方で、現代においては、基礎研究の成果をあげるのみならず、その応用にも研究者が考え、提言する必要がでてきたといえる。本特集が光合成反応の制御機構や植物の物質生産能力を向上させる基盤技術について、理解を深める一助となるものと考えている。

最後に本特集の編集にあたっては、光合成研究編集長の伊福健太郎さんに大変お世話になりました。心から御礼申し上げます。

解説

オルタナティブ電子伝達による光合成電子伝達制御[†]

京都大学大学院 理学研究科

山本 宏*

光合成リニア電子伝達反応は、チラコイド膜間プロトン濃度勾配 (ΔpH) と膜電位差 ($\Delta\psi$) の2つの成分からなるプロトン駆動力 (pmf) を生み出している。 ΔpH と $\Delta\psi$ は、共に ATP 合成に等価に寄与するのに対して、 ΔpH のみが電子伝達抑制による光化学系の光防御に関与する。植物が ATP 生産と光防御のトレードオフを最適化する為には、 ΔpH と $\Delta\psi$ の pmf 成分比率の調節が必要である。被子植物ではオルタナティブ電子伝達である光化学系 I (PSI) サイクリック電子伝達が ΔpH 形成を介して、ATP 生産と光防御機構の制御に関与する。一方、シアノバクテリアから裸子植物では、酸素還元を伴うシュードサイクリック電子伝達活性が観察される。シロイヌナズナでのオルタナティブ電子伝達の人為的改変の結果、被子植物でシュードサイクリック電子伝達が PSI サイクリック電子伝達同様に機能した。さらに PSI サイクリック電子伝達が、未知の pmf 成分調節機構と連動する可能性が示された。

1. はじめに: ΔpH による光合成調節

光合成明反応において、太陽光からの光エネルギーは NADPH と ATP の化学エネルギーに変換され、カルビン・ベンソン回路による光合成 CO_2 固定や細胞内の多くの代謝反応に利用される。酸素発生型光合成において、NADPH と ATP は主に、光化学系 II (PSII) での水の酸化により生じた電子を PSI 電子受容体側で $NADP^+$ に受け渡すリニア電子伝達により生産される(図 1)。リニア電子伝達では、電子伝達と共役して PSII での水分解とシトクロム b_6/f (Cyt b_6/f) 複合体での Q サイクルによりプロトン (H^+) をチラコイドルーメンに放出する。この結果、PSII での水分解で生じた 2 電子の移動に伴い、ストロマから 6 分子の H^+ がルーメン側に移動し ($H^+/e^-=3$)、チラコイド膜間プロトン濃度勾配 (ΔpH) を形成する。植物葉緑体 ATP 合成酵素を構成する β サブユニット (3 分子) と c サブユニット (14 分子) の存在比率から、3 分子の ATP 合成に 14 分子の H^+ が必要とされると考えられている^{1,2)}。計算上、リニア電子伝達の ATP と NADPH の生産比率は

約 1.29 となり、カルビン・ベンソン回路で要求される ATP/NADPH 比 1.5 を満たすことができない。また C3 植物において光呼吸が駆動すると ATP 要求度はさらに増加する^{3,4)}。被子植物において、 ΔpH 形成を介して ATP 生産を補い、 CO_2 固定に要求される ATP/NADPH 比を補償すると考えられているのが、後述するオルタナティブ電子伝達の1つである PSI サイクリック電子伝達である(図 1)^{3,5)}。

光合成における ΔpH の役割は、プロトン駆動力 (pmf) 成分として膜電位差 ($\Delta\psi$) と共に ATP 合成に貢献するだけではない。強光下では、ルーメン酸性化による光合成電子伝達のフィードバック制御に関与している。その制御は主に 2 つのメカニズムに依存している。1 つ目がルーメン酸性化により、過剰な光エネルギーを PSII の集光アンテナにおいて熱として捨てる熱散逸である⁶⁾。熱散逸は、クロロフィル蛍光の非光化学的消光 (NPQ) として観察される。熱散逸能の誘導は、種子植物においては、ルーメン酸性化による PsbS タンパク質のプロトン化とキサントフィルサイクル酵素の活性化に依存している⁶⁾。2 つ目が、Cyt b_6/f 複合体のプラストキノール酸化活性の抑制である⁷⁾。光合成において ATP 利用効率

[†]解説特集「植物のバイオマス生産能力の強化に向けた取り組み」

*連絡先 E-mail: yamahiro@pmg.kyoto-u.ac.jp

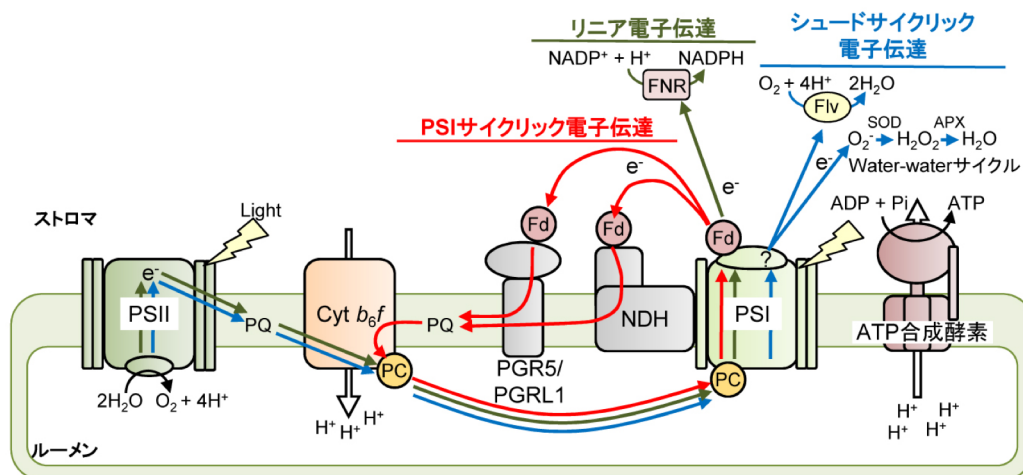


図 1. 光合成電子伝達経路の模式図

リニア電子伝達経路 (H_2O から $NADP^+$) は緑矢印、2つの PSI サイクリック電子伝達経路は赤矢印で示されている。被子植物においては、PGR5/PGRL1 複合体依存経路が主要経路として機能している。マイナー経路に関与する葉緑体 NDH 複合体は、PSI と超分子複合体を形成している。両複合体ともフェレドキシン (Fd) を電子供与体としてプラストキノン (PQ) を還元する。シュードサイクリック電子伝達経路 (H_2O から O_2) は青矢印で示されている。Water-water サイクルでは、PSI による O_2 還元により生じるスーパーオキシド (O_2^-) をスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) が不均化し、生じた過酸化水素 (H_2O_2) をアスコルビン酸ペルオキシダーゼが水へ変換し、無毒化する。Flv は、シアノバクテリアから裸子植物に保存されるが、被子植物では失われている。In vivo において Flv は NAD(P)H または Fd を電子供与体として O_2 を水へ 4 電子還元すると考えられている。PSI サイクリック電子伝達とシュードサイクリック電子伝達は NADPH を生み出すことなく、*pmf* 形成を介して ATP 生産に寄与している。FNR; フェレドキシン-NADP⁺レダクターゼ、PC; プラストシアニン。Shikanai and Yamamoto (2017)²⁶⁾を改変。

が低下した場合、 ΔpH は増大する。ルーメン酸性化は、Cyt *b₆f* 複合体活性のダウンレギュレーションにより PSII から PSI への電子伝達速度を制限する。近年、この“photosynthetic control”とも呼ばれる電子伝達制御が、強光および光強度が変化する変動光下での PSI 光傷害抑制に重要な役割を果たすことが報告されている^{8,9)}。PSI 光傷害・抑制メカニズムの詳細に関しては、過去の解説を参考にして頂きたい^{10,11)}。環境変化や葉緑体代謝の変化により要求される ATP/NADPH 比は変動するが、*pmf* 調節を介した光防御と光合成 CO_2 固定を支える ATP 生産とのトレードオフの最適化に、図 1 に示したオルタナティブ電子伝達が密接に関わっている。

2. PSI サイクリック電子伝達による *pmf* 形成と光合成制御

オルタナティブ電子伝達の 1 つである PSI サイクリック電子伝達は、PSI のみで駆動される。PSI から派生した電子をフェレドキシン介してプラストキノンプールに流し、電子は Cyt *b₆f* 複合体

を経て再度 PSI に戻される (図 1)。NADP⁺還元を伴わずに Cyt *b₆f* 複合体の Q サイクルにより ΔpH 形成することで、ATP/NADPH 比の調節に寄与している。PSI サイクリック電子伝達は、PSI からの電子を電子伝達経路に戻すことから、電子シンクとして PSI から電子を逃す安全弁の機能は持たない。シロイヌナズナを含む被子植物では、2つの独立した PSI サイクリック電子伝達経路が存在している。PROTON GRADIENT REGULATION 5 (PGR5)/PGR5-Like Photosynthetic Phenotype 1 (PGRL1)複合体^{12,13)}と NADH dehydrogenase-like (NDH) 複合体^{14,15)}の 2つのフェレドキシン-プラストキノンレダクターゼ (FQR) に依存した経路である (図 1)。PGR5/PGRL1 依存経路は、そのアンチマイシン A に対する感受性から Arnon らにより約 50 年前に報告された Cyclic photophosphorylation と同一経路であると考えられている^{12,16,17)}。in vitro において、リコンビナント PGR5/PGRL1 複合体自体が FQR 活性を示すことから¹⁸⁾、現在の PGR5/PGRL1 依存経路モデルでは、PSI からの 2 電子移動に伴

い、Q サイクルにより $4H^+$ がルーメンに移動すると考えられている ($H^+/e^-=2$)^{4,17)}。

もう一つの経路に関与する葉緑体 NDH 複合体は、呼吸鎖のプロトンポンプである Complex I (NADH dehydrogenase) の相同タンパク質であり、被子植物では 2 つの PSI 複合体と相対分子量 1 MD を超える PSI-NDH 超複合体を形成している^{19,20)}。Complex I は NADH 酸化ドメインを有し、NADH がキノン還元電子供与体である²¹⁾。一方、葉緑体 NDH は NADH 酸化ドメインの代わりにフェレドキシン結合部位を構成する NdhS サブユニットを有し、アンチマイシン A 非感受性の FQR であると考えられている²²⁻²⁴⁾。立体構造解析により Complex I では NADH 酸化に共役して $4H^+$ が移動することが明らかにされたことから²¹⁾、葉緑体 NDH 依存経路では、NDH 複合体を介した PSI からのプラストキノンプールへの 2 電子移動に共役して $4H^+$ がルーメンに移動し、さらに Q サイクルにより $4H^+$ がルーメンに移動すると考えられている ($H^+/e^-=4$)^{4,17)}。計算上は、NDH 依存サイクリック電子伝達経路の方が PGR5/PGRL1 依存経路よりも効率的に *pmf* 形成に寄与できることになる。しかしながら、葉緑体 NDH がプロトンポンプ活性を有するかどうかは未だ実験的に証明されていない。

PGR5/PGRL1 依存経路または NDH 依存経路を欠損したシロイヌナズナ *pgr5* 変異株および *ndh* 変異株は、上記の *pmf* 形成効率とは相反する表現型を示す。エレクトロクロミックシフト (Electrochromic shift: ECS) 測定により *pmf* サイズを評価した結果、野生株に対して *pgr5* 変異株では *pmf* サイズが著しく減少するのに対して、*ndh* 変異株での *pmf* 低下は僅かである^{25,26)} (図 2)。また *pgr5* 変異株ではルーメン酸性化に依存する NPQ が大きく低下するが、*ndh* 変異株では NPQ 誘導にほとんど影響が見られない¹²⁾。さらに *pgr5* 変異株では、弱光下において光合成電子伝達速度が抑制、飽和する¹²⁾。これらの表現型は、*pmf* 低下による ΔpH 形成 (ルーメン酸性化) と ATP/NADPH 比制御の欠損に起因すると考えられ、PGR5/PGRL1 依存経路が主要な PSI サイクリック電子伝達経路であることを示している。一

方、*pgr5* 欠損株において ECS 解析によるチラコイド膜のプロトン伝導率 g_{H^+} の値が野生株に対して大きくなることから、ATP 合成酵素の活性化が *pgr5* 変異株の表現型の原因とする議論もある²⁷⁾。また *pgr5 ndh* 二重変異株では光合成電子伝達速度と生育が強く抑制されることから、NDH 依存経路も光合成定常状態においてで機能していることが示されている²⁸⁾。

近年、光強度が急激に増減する変動光環境下における PGR5 依存サイクリック電子伝達の PSI 光防御の役割が注目されている。人工的な変動光下において、*pgr5* 変異株は枯死し^{9,29)}、野外の変動光環境下においても、野生株に対して *pgr5* 変異株の生存率は有意に低下する⁹⁾。人工的な変動光および強光下では、野生株に対して *pgr5* 変異株では PSI 光阻害がより強く生じる^{9,12,30)}。この原因として、ATP/NADPH 比の低下による PSI 受容体側での電子伝達律速の増大^{12,30)}、さらに ΔpH 低下が Cyt *b₆f* 複合体活性のダウンレギュレーション能力を低下させ^{9,10)}、PSII より PSI 反応中心 P700 へ電子が流入・滞留することが PSI 光損傷を引き起こしていると考えられている⁵⁾。

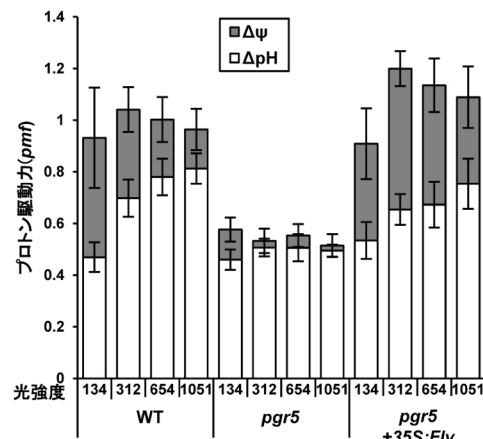


図 2. *pmf* サイズと *pmf* 成分に対するオルタナティブ電子伝達の効果
野生株 (WT)、*pgr5* 変異株および Flv 発現形質転換株 (*pgr5*+35S;*Flv*) の *pmf* サイズと *pmf* 成分を ECS 解析により評価した。ECS 解析の光強度を $134 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ~ $1,051 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で変化させた。Shikanai and Yamamoto (2017)²⁶⁾ を改変。

3. シュードサイクリック (pseudocyclic) 電子伝達 - Flavodiiron protein (Flv) による酸素還元

シュードサイクリック電子伝達は、酸素を PSI 電子受容体とした光合成電子伝達に依存した酸素還元である。PSII での水分解で生じた 2 電子の移動に伴い、ストロマから 6 分子の H⁺がルーメン側に移動し(H⁺/e=3)、チラコイド膜間 ΔpH を形成する。PSI サイクリック電子伝達同様に NADP⁺還元を伴わないことから ATP/NADPH 生産比率の調節に寄与すると考えられている^{3,31)}。被子植物では酸素還元経路として、PSI による酸素還元により生じたスーパーオキシドをスーパーオキシドディスムターゼ (SOD)とアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX)により水に変換し無毒化する water-water サイクルが知られる³²⁾ (図 1)。PSI サイクリック電子伝達同様、water-water サイクルも NADP⁺還元を伴わずに pmf を形成する。しかし water-water サイクルへの電子フラックスは PSII 酸素発生の 5%未満であり、ATP/NADPH 比調節への貢献は僅かである^{31,33,34)}。

シアノバクテリアから C3 植物への進化過程において、電子シンクとして機能する酸素依存型のオルタナティブ電子伝達は、シュードサイクリック電子伝達から光呼吸へ変化している^{11,31,35)}。シアノバクテリアや緑藻では、CO₂濃縮機構により光呼吸が抑制されること、さらにシアノバクテリアや緑藻ルビスコのアキシゲナーゼ反応の酸素への親和性が低いことから、光呼吸経路が電子シンクの機能を果たせないと考えられている³¹⁾。

被子植物とは異なり、シアノバクテリアでのシュードサイクリック電子伝達への電子フラックスは 20%を超え、Flavodiiron protein (Flv) が酸素還元メディエーターとして機能している (図 1)^{31,36,37)}。元々、Flv は嫌気性細菌で、ルブレドキシンを電子供与体とする酸素還元酵素として発見された³⁸⁾。シアノバクテリア Flv は、光合成生物に特有の Class C Flv に分類され、酸素還元に関与する 2 分子の非ヘム鉄を有するメタロ-β-ラクタマーゼ様ドメイン、電子受容に関わるフラビンを有するフラボドキシンドメイン、さらに Class C Flv に特徴的な電子供与体 NAD(P)H から直接電子を受け取る NAD(P)H-フラビンレダクターゼ

様ドメインから構成される³⁹⁾。シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 では、Flv ファミリーのうち、Flv1 と Flv3 のアイソフォームで構成されるヘテロオリゴマーが PSI 受容体側での光依存酸素還元機能し³⁷⁾、変動光下において PSI より電子を逃す安全弁として PSI 光阻害を抑制している⁴⁰⁾。in vitro において、Class C Flv は NAD(P)H を電子供与体として、4 電子還元により酸素を水へ変換することから⁴¹⁾、Flv 依存シュードサイクリック電子伝達は活性酸素種を生成することなく、電子シンクの機能を果たしている (図 1)。酸素発成型光合成生物において、Flv1/Flv3 ホモログ (FlvA/FlvB) はシアノバクテリアから裸子植物にまで保存されているが、被子植物では失われている^{42,43)}。

4. Flv によるオルタナティブ電子伝達の人為的改変

何故、被子植物は進化において Flv を失ったのか？被子植物において、シュードサイクリック電

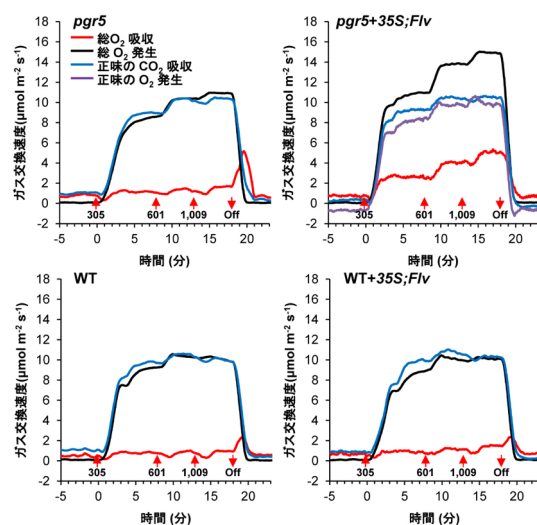


図 3. *pgr5* 変異株背景での Flv 依存酸素吸収

メンブレンインレット質量分析機による総 O₂ 吸収、総 O₂ 発生、正味の CO₂ 吸収および正味の O₂ 発生速度の測定。ガス交換速度測定は、5% CO₂+5% ¹⁸O₂ 下で野生株(WT)、*pgr5* 変異株、Flv 発現形質転換株(WT+35S;Flv) と *pgr5*+35S;Flv のリーフディスクを用いて行った。測定中、光強度 (305 μmol photons m⁻² s⁻¹~1,009 μmol photons m⁻² s⁻¹) を変化させた (赤矢印)。Yamamoto et al (2016)⁴³⁾を改変。

子伝達は PSI サイクリック電子伝達の代替経路として機能できるのか？これらの疑問に答える為に、ヒメツリガネゴケ *Physcomitrella patens* FlvA と FlvB をコードする遺伝子をシロイヌナズナ *pgr5* 変異株と野生株 (WT) に導入した⁴³⁾。発現した Flv は葉緑体にヘテロテトラマーとして蓄積した。光呼吸抑制条件下 (5% CO₂+5% ¹⁸O₂)、Flv 依存酸素還元による ¹⁸O₂ 吸収を、リーフディスクを用いて質量分析装置により測定した結果 (図 3)、*pgr5* 変異株背景 (*pgr5+35S;PpFlv*) では光強度に依存して、Flv による ¹⁸O₂ 吸収速度は増大した。この Flv による酸素還元は、PSII での酸素 (¹⁶O₂) 発生増大を伴い、PSII での水分解より派生する電子の最大 25% を消費した。これは被子植物においても、Flv 依存シュードサイクリック電子伝達がシアノバクテリアと同等、また裸子植物より大きな電子シンクとしての潜在能力を有すること示している^{31,34)}。さらに Flv 依存シュードサイクリック電子伝達は光合成 CO₂ 固定とは競合しない (図 3)。一方、光合成定常状態において、野生株背景 (WT+35S;*PpFlv*) では Flv による酸素吸収は観察されなかった。しかし、アンチマイシン A で処理した WT+35S;*PpFlv* のリーフディスクでは酸素吸収が観察されることから、光合成定常状態で Flv 依存シュードサイクリック電子伝達は PGR5/PGRL1 複合体依存 PSI サイクリック電子伝達と競合しないことが明らかとなった⁴³⁾。

大気下においても、*pgr5* 変異株背景 (*pgr5+35S;Flv*) のみ Flv 依存シュードサイクリック電子伝達が稼動し、光合成電子伝達速度を増加させ (図 4)、ATP 合成酵素の駆動力である *pmf* も野生株レベルに増大させた (図 2)。これらの結果は、ATP 合成に寄与するオルタナティブ電子伝達を、Flv 遺伝子導入により PSI サイクリック電子伝達からシュードサイクリック電子伝達へ人為的に変更可能であることを示している。但し、両オルタナティブ電子伝達間で *pmf* 成分制御は異なっている。既に述べたように、計算上、*pmf* 形成効率はシュードサイクリック電子伝達 (H⁺/e⁻=3) の方が PGR5/PGRL1 依存 PSI サイクリック電子伝達 (H⁺/e⁻=2) より高いと考えられている¹⁷⁾。しかしながら、野生株に対して

pgr5+35S;Flv では、NPQ 誘導が中光度下 (100–800 μmol photons m⁻² s⁻¹) では部分的にしか相補されない (図 4)。これは *pgr5+35S;Flv* では、ΔpH より Δψ が *pmf* 形成に貢献しているためであった (図 2)。また *pgr5* 変異株では ΔpH 成分が *pmf* を占める割合が増大していた。これらの結果から、PGR5/PGRL1 複合体依存 PSI サイクリック電子伝達は、何らかの *pmf* 成分の調節機構と連動している可能性が考えられる。近年、チラコイドに局在するイオンチャネルとトランスポーターが同定され、シロイヌナズナ変異株の解析により *pmf* 成分比率制御への関与が明らかとなった^{44,45)}。PSI サイクリック電子伝達は、これらイオンチャネル・トランスポーターと連動して成分制御を行っている可能性がある。

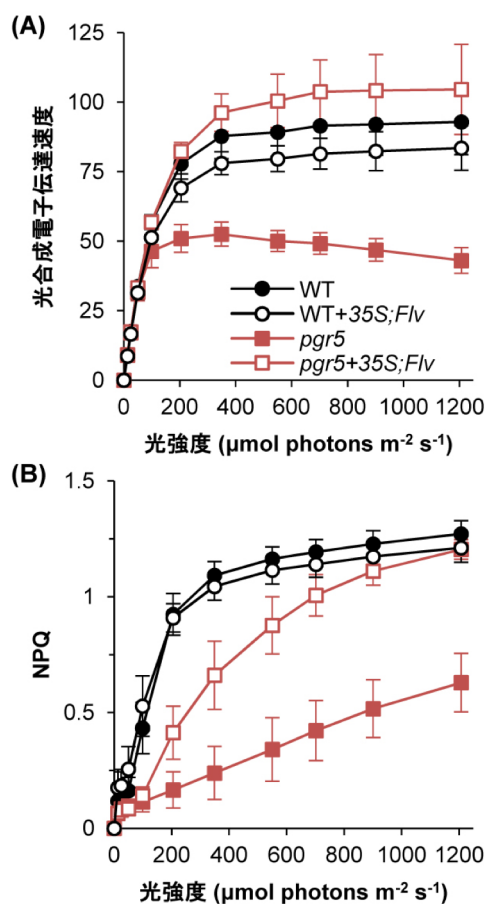


図 4. 光合成電子伝達に対する Flv 発現の影響
光合成パラメータ、(A) 光合成電子伝達速度、(B) NPQ の光強度依存性。光合成電子伝達速度=PSII 量子収率(Y(II)) × 光強度(μmol photons m⁻² s⁻¹)により求められた。Yamamoto et al (2016)⁴³⁾を改変。

5. Flv による PSI 変動光耐性付与

定常光下では、Flv 依存シュードサイクリック電子伝達は PGR5/PGRL1 依存 PSI サイクリック電子伝達と競合できない。しかし、変動光下で Flv は野生株背景においても機能する (図 5)。変動光下では、野生株においても PSI 光阻害が強く誘導されることが報告されている³⁰⁾。5 分間の弱光照射 ($45 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) と 1 分間の強光照射 ($1,942 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の繰り返しからなる変動光処理により、野生株においても PSII 量子収率 (Y(II)) と PSI 量子収率 (Y(I)) が低下するが、Flv 発現株 (WT+35S;Flv) では有意に Y(II) と Y(I) の低下が抑制され、Flv が PSI 光損傷を抑制することが明らかとなった (図 5)。また野生株では、PSI 電子伝達の電子受容体側の律速を示すパラメータ Y(NA) が強光下で急激に増大し PSI 電子受容体の不足状態に陥るのに対して、WT+35S;Flv では Y(NA) 増大は強く抑制された (図 5)。この結果は、Flv は一過的に安全弁として PSI に溜まった電子を排出し、PSI 光損傷を抑制することを示している。これらの結果は、後に報告された Flv と PGR5/PGRL1 複合体を共に有する *Physcomitrella patens*⁴⁶⁾、ゼニゴケ *Marchantia*

*polymorpha*⁴⁷⁾、*Chlamydomonas reinhardtii*⁴⁸⁾ においても、Flv が変動光下で安全弁として機能する結果と一致するものであった。裸子植物が高い光依存酸素吸収活性(10%程度)を有すること³⁴⁾、裸子植物では強光パルス照射で酸素依存的に P700 が即座に酸化されることから、裸子植物でも Flv 依存経路が PSI 光損傷を防ぐ安全弁として電子を排出していると思われる^{11,49,50)}。シアノバクテリアや裸子植物では、光合成定常状態でもシュードサイクリック電子伝達が機能することから^{34,36,37)}、被子植物よりもルーメン酸性化に対する電子伝達ダウンレギュレーションの感受性が低い⁵¹⁾、あるいは PSI サイクリック電子伝達活性が低いのかもかもしれない。

弱光下、Flv 依存シュードサイクリック電子伝達は無駄に還元力を消費する経路の様に思える。しかし、Flv 依存シュードサイクリック電子伝達は、PSI サイクリック電子伝達と光合成 CO₂ 固定と競合しない。さらに生育に対する Flv 発現の負の効果も見られない⁴³⁾。まさに PSI 光損傷を防ぐ安全弁として、必要な時に機能する経路である。何故、被子植物が有用な Flv を失ったのか? この疑問に対する答えは、まだ見出せていない。

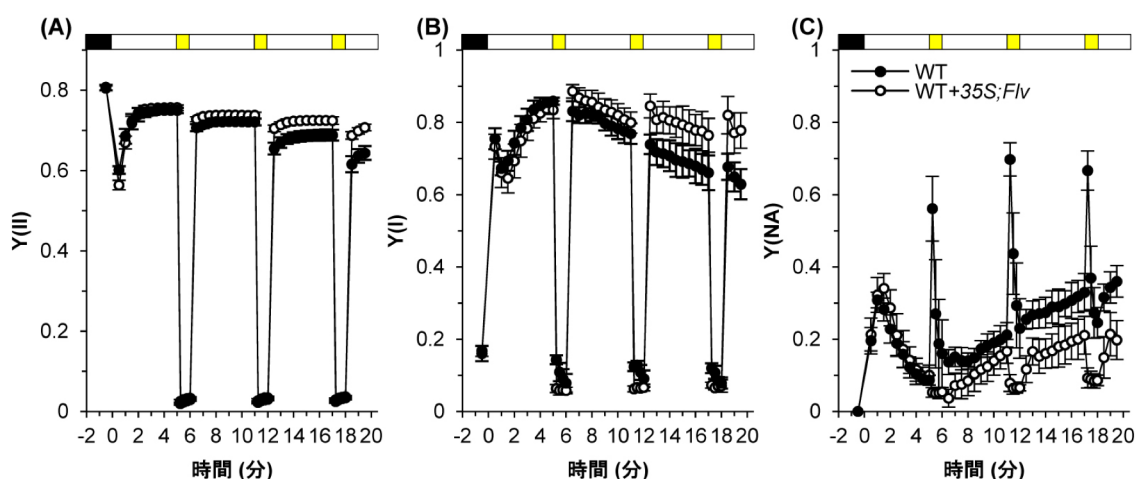


図 5. Flv 依存シュードサイクリック電子伝達による光化学系の光阻害抑制

光合成パラメータ、(A) PSII 量子収率 (Y(II))、(B) PSI 量子収率 (Y(I))、(C) PSI 受容体側律速 (Y(NA)) に対する変動光の影響。野生株 (WT) および形質転換株 (WT+35S;Flv) は、20 分間の暗処理後 (black box)、変動光 ($45 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 5 分間、white boxes/ $1,942 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 1 分間 yellow boxes、3 サイクル) に曝された。Yamamoto et al (2016)⁴³⁾ を改変。

6. おわりに

野外環境下において、光化学系の光阻害が小麦の生産性に影響を与えることが報告されている⁵²⁾。我々は、Flv による PSI 光傷害抑制効果を作物に応用することを進めている。現在、東北大・牧野先生との共同研究として、イネへの Flv 遺伝子導入が行われている。PSI サイクリック電子伝達経路を欠くイネ変異株は、シロイヌナズナ変異株同様に、人工気象室の定常光条件下においても強い生育阻害を受け、光合成 CO₂ 固定速度も野生株に対して有意に低下している。これまでに、Flv 遺伝子導入により変異株の生育と CO₂ 固定速度が、野生株レベルまで回復することが明らかとなっている。野生株背景においても、Flv 遺伝子導入による人工変動光に対する PSI 保護効果が観察されている。野外環境での PSI 光阻害に関する知識は未だ乏しいが、被子植物が進化過程で失った Flv 依存シュードサイクリック電子伝達が、野外環境下での光化学系への光ストレス耐性付与に貢献することを期待している。

謝辞

シロイヌナズナ Flv 発現株の解析は、高橋俊一博士(オーストラリア国立大学、現・基礎生物学研究所)と Murray R. Badger 教授(オーストラリア国立大学)との共同研究として行われたものです。両氏のサポートが無ければ、本研究は完結しませんでした。両氏に深く感謝いたします。また、イネ形質転換株に関する情報をご提供頂きました和田慎也博士と牧野周教授(東北大学)、原稿作成に当たり有益なご助言頂きました鹿内利治教授(京都大学)、適切なお指摘を迅速に下さった査読者の方に感謝いたします。本研究は、JST、CREST(グラント番号 JPMJCR11B1)の支援を受けたものです。最後に、本稿執筆の機会を与えて下さいました編集委員の先生方に御礼申し上げます。

Received May 30, 2017; Accepted Jun 07, 2017; Published Aug 30, 2017

参考文献

1. Seelert, H., Dencher, N.A. and Müller, D.J. (2003). Fourteen protomer compose the oligomer III of the proton-rotor in spinach chloroplast ATP synthase. *J. Mol. Biol.* 333, 337–344.
2. Vollmar, M., Schlieper, D., Winn, M., Büchner, C. and Groth, G. (2009) Structure of the c14 rotor ring of the proton translocating chloroplast ATP synthase. *J. Biol. Chem.* 284, 18228–18235.
3. Allen, J.F. (2003) Cyclic, pseudocyclic and noncyclic photophosphorylation: new links in the chain. *Trends Plant Sci.* 8, 15–19.
4. Kramer, D.M. and Evans, J.R. (2011) The importance of energy balance in improving photosynthetic productivity. *Plant Physiol.* 155, 70–78.
5. Yamori, W. and Shikanai, T. (2016) Physiological functions of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis and plant growth. *Annu. Rev. Plant Biol.* 67, 81–106.
6. Müller, P., Li, X.P. and Niyogi, K.K. (2001) Non-photochemical quenching: a response to excess light energy. *Plant Physiol.* 125, 1558–1566.
7. Stiehl, H.H. and Witt, H.T. (1969) Quantitative treatment of the function of plastoquinone in photosynthesis. *Z. Naturforsch.* B 24, 1588–1598.
8. Joliot, P. and Johnson, G.N. (2011) Regulation of cyclic and linear electron flow in higher plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 13317–13322.
9. Suorsa, M., Järvi, S., Grieco, M., Nurmi, M., Pietrzykowska, M., Rantala, M., Kangasjärvi, S., Paakkarinen, V., Tikkanen, M., Jansson, S. and Aro, E.-M. (2012) PROTON GRADIENT REGULATION5 is essential for proper acclimation of Arabidopsis photosystem I to naturally and artificially fluctuating light conditions. *Plant Cell* 24, 2934–2948.
10. Kono, M. and Terashima, I. (2016) 変動光に対する光合成電子伝達系の応答: PSI の光阻害と防御のメカニズム *光合成研究* 26, 95–105.
11. Shimakawa, G. and Miyake, C. (2017) 植物が安心して光合成できるワケ～PS I を光傷害から護る P700 酸化システム～ *光合成研究* 27, 4–15.
12. Munekage, Y., Hojo, M., Meurer, J., Endo, T., Tasaka, M. and Shikanai, T. (2002) PGR5 is involved in cyclic electron flow around photosystem I and is essential for photoprotection in *Arabidopsis*. *Cell* 110, 361–371.
13. DalCorso, G., Pesaresi, P., Masiero, S., Aseeva, E.,

- Schünemann, D., Finazzi, G., Joliot, P., Barbato, R. and Leister, D. (2008) A complex containing PGRL1 and PGR5 is involved in the switch between linear and cyclic electron flow in *Arabidopsis*. *Cell* 132, 273–285
14. Burrows P.A., Sazanov, L.A., Svab, Z., Maliga, P. and Nixon, P.J. (1998) Identification of a functional respiratory complex in chloroplasts through analysis of tobacco mutants containing disrupted plastid *ndh* genes. *EMBO J.* 17, 868–876.
 15. Shikanai, T., Endo, T., Hashimoto, T., Yamada, Y., Asada, K. and Yokota, A. (1998) Directed disruption of the tobacco *ndhB* gene impairs cyclic electron flow around photosystem I. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 9705–9709.
 16. Tagawa, K., Tsujimoto, H.Y. and Arnon, D.I. (1963) Role of chloroplast ferredoxin in the energy conversion process of photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 49, 567–572.
 17. Shikanai, T. (2016) Regulatory network of proton motive force: contribution of cyclic electron transport around photosystem I. *Photosynth. Res.* 129, 253–260.
 18. Hertle, A.P., Blunder, T., Wunder, T., Pesaresi, P., Pribil, M., Armbruster, U. and Leister, D. (2013) PGRL1 is the elusive ferredoxin-plastoquinone reductase in photosynthetic cyclic electron flow. *Mol Cell* 49, 511–523.
 19. Peng, L., Fukao, Y., Fujiwara, M., Takami, T. and Shikanai, T. (2009) Efficient operation of NAD(P)H dehydrogenase requires supercomplex formation with photosystem I via minor LHCI in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 21, 3623–3640.
 20. Peltier, G., Aro, E-M. and Shikanai, T. (2016) NDH-1 and NDH-2 plastoquinone reductases in oxygenic photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 67, 55–80.
 21. Baradaran, R., Berrisford, J.M., Minhas, G.S. and Sazanov, L.A. (2013) Crystal structure of the entire respiratory complex I. *Nature.* 494, 443–448.
 22. Yamamoto, H., Peng, L., Fukao, Y. and Shikanai, T. (2011) An Src homology 3 domain-like fold protein forms a ferredoxin binding site for the chloroplast NADH dehydrogenase-like complex in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23, 1480–1493.
 23. Yamamoto, H. and Shikanai, T. (2013) *In planta* mutagenesis of Src homology 3 domain-like fold of NdhS, a ferredoxin-binding subunit of the chloroplast NADH dehydrogenase-like complex in *Arabidopsis*: a conserved Arg-193 plays a critical role in ferredoxin binding. *J. Biol. Chem.* 288, 36328–36337.
 24. Shikanai T. (2016) Chloroplast NDH: A different enzyme with a structure similar to that of respiratory NADH dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta* 1857, 1015–1022.
 25. Wang, C., Yamamoto, H. and Shikanai, T. (2015) Role of cyclic electron transport around photosystem I in regulating proton motive force. *Biochim. Biophys. Acta* 1847, 931–938.
 26. Shikanai, T. and Yamamoto, H. (2017) Contribution of cyclic and pseudo-cyclic electron transport to the formation of proton motive force in chloroplasts. *Mol. Plant* 10, 20–29.
 27. Avenson, T.J., Cruz, J.A., Kanazawa, A. and Kramer, D.M. (2005) Regulating the proton budget of higher plant photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 9709–9713.
 28. Munekage, Y., Hashimoto, M., Miyake, C., Tomizawa, K., Endo, T., Tasaka, M. and Shikanai, T. (2004) Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis. *Nature* 429, 579–582.
 29. Tikkanen, M., Grieco, M., Kangasjärvi, S. and Aro, E-M. (2010) Thylakoid protein phosphorylation in higher plant chloroplasts optimizes electron transfer under fluctuating light. *Plant Physiol.* 152, 723–735.
 30. Kono, M., Noguchi, K., Terashima, I. (2014) Roles of the cyclic electron flow around PSI (CEF-PSI) and O₂-dependent alternative pathways in regulation of the photosynthetic electron flow in short-term fluctuating light in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 55, 990–1004.
 31. Badger, M.R., von Caemmerer, S., Ruuska, S. and Nakano, H. (2000) Electron flow to oxygen in higher plants and algae: rates and control of direct photoreduction (Mehler reaction) and rubisco oxygenase. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 355, 1433–1446.
 32. Asada, K. (2000) The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 355, 1419–1431.
 33. Driever, S.M. and Baker, N.R. (2011) The water-water cycle in leaves is not a major alternative electron sink for dissipation of excess excitation energy when CO₂ assimilation is restricted. *Plant Cell Environ.* 34, 837–846.
 34. Shirao, M., Kuroki, S., Kaneko, K., Kinjo, Y., Tsuyama, M., Förster, B., Takahashi, S. and Badger, M.R. (2013) Gymnosperms have increased capacity

- for electron leakage to oxygen (Mehler and PTOX reactions) in photosynthesis compared with angiosperms. *Plant Cell Physiol.* 54, 1152–1163.
35. Hanawa, H., Ishizaki, K., Nohira, K., Takagi, D., Shimakawa, G., Sejima, T., Shaku, K.I., Makino, A. and Miyake, C. (2017) Land plants drive photorespiration as higher electron-sink: Comparative study of post-illumination transient O₂-uptake rates from liverworts to angiosperms through ferns and gymnosperms. *Physiol. Plant.* doi: 10.1111/ppl.12580.
 36. Helman, Y., Tchernov, D., Reinhold, L., Shibata, M., Ogawa, T., Schwarz, R., Ohad, I. and Kaplan, A. (2003) Genes encoding A-type flavoproteins are essential for photoreduction of O₂ in cyanobacteria. *Curr. Biol.* 13, 230–235.
 37. Allahverdiyeva, Y., Ermakova, M., Eisenhut, M., Zhang, P., Richaud, P., Hagemann, M., Cournac, L. and Aro, E-M. (2011) Interplay between flavodiiron proteins and photorespiration in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 286, 24007–24014.
 38. Chen, L., Liu, M.Y., LeGall, J., Fareleira, P., Santos, H. and Xavier, A.V. (1993) Rubredoxin oxidase, a new flavo-hemo-protein, is the site of oxygen reduction to water by the "strict anaerobe" *Desulfovibrio gigas*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 193, 100–105.
 39. Romão CV, Vicente JB, Borges PT, Frazão C, Teixeira M. (2016) The dual function of flavodiiron proteins: oxygen and/or nitric oxide reductases. *J. Biol. Inorg. Chem.* 21, 39–52.
 40. Allahverdiyeva, Y., Mustila, H., Ermakova, M., Bersanini, L., Richaud, P., Ajlani, G., Battchikova, N., Cournac, L. and Aro, E-M. (2013) Flavodiiron proteins Flv1 and Flv3 enable cyanobacterial growth and photosynthesis under fluctuating light. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 4111–4116.
 41. Vicente, J.B., Gomes, C.M., Wasserfallen, A. and Teixeira, M. (2002) Module fusion in an A-type flavoprotein from the cyanobacterium *Synechocystis* condenses a multiple-component pathway in a single polypeptide chain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 294, 82–87.
 42. Allahverdiyeva, Y., Isojärvi, J., Zhang, P. and Aro, E-M. (2015) Cyanobacterial oxygenic photosynthesis is protected by flavodiiron proteins. *Life.* 5, 716–743.
 43. Yamamoto, H., Takahashi, S., Badger, M.R. and Shikanai, T. (2016) Artificial remodelling of alternative electron flow by flavodiiron proteins in *Arabidopsis*. *Nat. Plants* 2, 16012.
 44. Armbruster, U., Correa Galvis, V., Kunz, H.H. and Strand, D.D. (2017) The regulation of the chloroplast proton motive force plays a key role for photosynthesis in fluctuating light. *Curr. Opin. Plant Biol.* 37, 56–62.
 45. Spetea, C., Herdean, A., Allorent, G., Carraretto, L., Finazzi, G. and Szabo, I. (2017) An update on the regulation of photosynthesis by thylakoid ion channels and transporters in *Arabidopsis*. *Physiol. Plant.* doi: 10.1111/ppl.12568.
 46. Gerotto, C., Alboresi, A., Meneghesso, A., Jokel, M., Suorsa, M., Aro, E-M. and Morosinotto, T. (2016) Flavodiiron proteins act as safety valve for electrons in *Physcomitrella patens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 12322–12327.
 47. Shimakawa G, Ishizaki K, Tsukamoto S, Tanaka M, Sejima T, Miyake C. (2017) The liverwort, *Marchantia*, drives alternative electron flow using a flavodiiron protein to protect PSI. *Plant Physiol.* 173, 1636–1647.
 48. Chaux, F., Burlacot, A., Mekhalfi, M., Auroy, P., Blangy, S., Richaud, P. and Peltier, G. (2017) Flavodiiron proteins promote fast and transient O₂ photoreduction in *Chlamydomonas*. *Plant Physiol.* pii: pp.00421.2017. doi: 10.1104/pp.17.00421
 49. Ilík, P., Pavlovič, A., Kouřil, R., Alboresi, A., Morosinotto, T., Allahverdiyeva, Y., Aro, E-M., Yamamoto, H. and Shikanai, T. (2017) Alternative electron transport mediated by flavodiiron proteins is operational in organisms from cyanobacteria up to gymnosperms. *New Phytol.* 214, 967–972.
 50. Takagi, D., Ishizaki, K., Hanawa, H., Mabuchi, T., Shimakawa, G., Yamamoto, H. and Miyake, C. (2017) Diversity of strategies for escaping reactive oxygen species production within photosystem I among land plants: P700 oxidation system is prerequisite for alleviating photoinhibition in photosystem I. *Physiol. Plant.* doi: 10.1111/ppl.12562.
 51. Badger, M.R. and Schreiber, U. (1993) Effects of inorganic carbon accumulation on photosynthetic oxygen reduction and cyclic electron flow in the cyanobacterium *Synechococcus* PCC7942. *Photosynth. Res.* 37, 177–191.
 52. Burgess A.J., Retkute, R., Pound, M.P., Foulkes, J., Preston, S.P., Jensen, O.E., Pridmore, T.P. and Murchie, E.H. (2015) High-resolution three-dimensional structural data quantify the impact

of photoinhibition on long-term carbon gain in wheat canopies in the field. *Plant Physiol.* 69, 1192–1204.

Regulation of photosynthetic electron transport by the alternative electron transports

Hiroshi Yamamoto

Department of Botany, Graduate School of Science, Kyoto University

解説

サーマルイメージング法による気孔 CO₂ 応答解析から見出された新たな植物環境応答機構[†]九州大学大学院 理学研究院 植物生理学研究室
高橋 将, 門田 慧奈, 祢宜 淳太郎, 射場 厚*

気孔は外部環境と体内とをつなぐ通路であり、植物は気孔を通して二酸化炭素 (CO₂) の取り込みと蒸散を行う。植物の葉面温度は気孔開度の指標となり、その変化は気孔が環境変化に応答して開閉運動を行っていることを示している。私たちはこれまでに、サーマルイメージングによって一度に大量の植物体の葉面温度変化を可視化することで、気孔の CO₂ 応答に異常や特徴を持つシロイヌナズナ変異株や野生シロイヌナズナ (エコタイプ) を選抜してきた。それらシロイヌナズナ系統の高 CO₂、明・暗、乾燥などの環境変化に対する気孔応答解析から見出された、新しい環境情報の受容とその統合機構の一端について紹介する。

1. はじめに

気孔を構成する一対の孔辺細胞は、光強度、乾燥、CO₂ 濃度 ([CO₂]) といった多様な外部環境シグナルを受容する。受容された環境シグナルは孔辺細胞の多様な分子機構によって統合され、植物体の成長・生存に最適となるよう気孔開度が調節される。従って気孔は植物の環境感知メカニズムを解明する上で重要な器官であると考えられる。しかしながら、その具体的な分子機構は未だに不明な点が多い。その要因の一つとして遺伝学的な解析がこれまで困難であったことが挙げられる。通常、変異株を単離するためには、数万個体のオーダーで植物体をスクリーニングする必要がある。その膨大な数の植物体における気孔開度を1個体ずつ測定すると非常に手間がかかるため、そのような解析はハードルが高かった。

気孔を介して CO₂ が吸収される時、同時に水蒸気が放出 (蒸散) される。気孔の開口によって蒸散量が増加すると、蒸散とともに熱も奪われ、葉面温度は低下する。逆に、気孔が閉鎖すると蒸散量が減少し、葉面温度は上昇する。サーモグラフィにより植物の葉面温度変化を可視化するこ

とで植物の気孔応答を測定することができる¹⁾。この技法の利点は、一度に大量の数の植物を網羅的かつ非破壊的に観察できることである。植物は低[CO₂]環境下では気孔を開き、高[CO₂]環境下では気孔を閉じる。それぞれの[CO₂]環境下で順応させた植物の葉面温度を測定し、その差分を取ると、葉面温度変化を気孔開閉応答性として評価することができる (図 1)。筆者らは、[CO₂]変化に対する葉面温度変化を指標に変異株スクリーニングを行い、多数の CO₂ 非感受性変異株を単離した¹⁾。さらに、同様の技法を野生シロイヌナズナ集団に対しても用い、[CO₂] 変化に対する気孔応答性に特徴を持つエコタイプを選抜した²⁾。本稿では、CO₂ に加え主要な環境要因である明・暗、乾燥などに対する気孔応答解析によって得られた、分子レベルでの植物における環境情報の受容、伝達、統合機構についての研究成果を紹介する。

2. CO₂ 非感受性変異株の解析により同定された気孔制御因子2.1. 気孔における CO₂ 応答のマスターレギュレータ HT1

high temperature 1 (ht1) 変異株、*ht1-1*、*ht1-2*、*ht1-4*、*ht1-5* は低[CO₂]条件下でも常に高い葉面温

[†]解説特集「植物のバイオマス生産能力の強化に向けた取り組み」

*連絡先 E-mail: iba.koh.727@m.kyushu-u.ac.jp

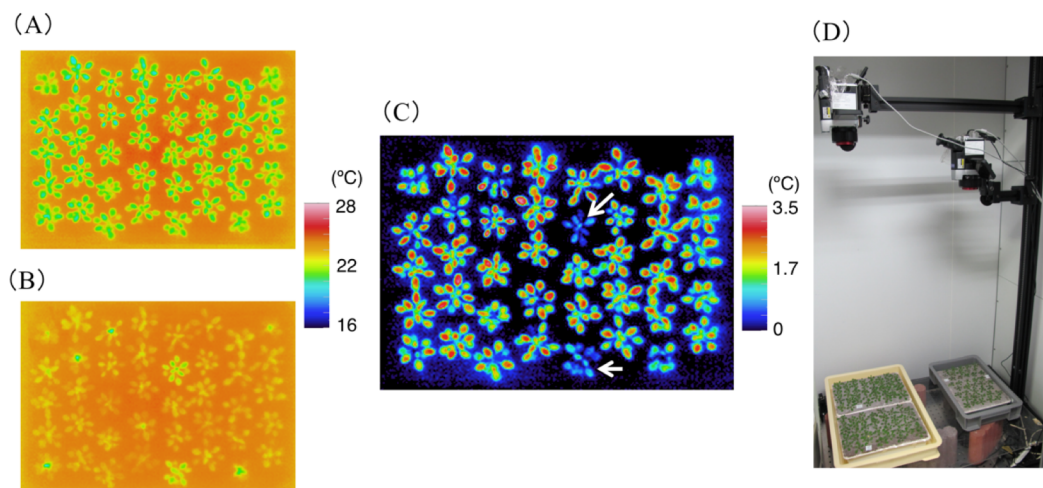


図1. サーモグラフィを用いた気孔 CO₂ 応答性変異株のスクリーニング

(A) 低[CO₂] (0 ppm) 条件下で2時間順応させたシロイヌナズナ変異株のサーモグラフィ画像。(B) 高[CO₂] (1,000 ppm) 条件下で1時間順応させたシロイヌナズナ変異株のサーモグラフィ画像。(C) Bの画像からAの画像を差し引きし、CO₂ 応答性を可視化した。赤くなるほど CO₂ 応答性が高く、青くなるほど CO₂ 応答性が低いことを示す。白矢印で指した植物は CO₂ 応答性に異常を持つ変異株である可能性があると考えられる。(D) 温度・湿度・[CO₂]精密制御チャンバーを用いたサーマルイメージングシステム。

度を示す劣性変異株として上記スクリーニング法によって単離された^{3,4)}。これらの変異株の気孔は[CO₂]変化に応答せず、閉じたままになる。逆に、優性突然変異株 *ht1-3* は高[CO₂]条件下でも常に低い葉面温度を示していた⁴⁾。特に、*ht1-2*、*ht1-3*は低[CO₂]が誘導する気孔開口が全く起こらず、むしろわずかに閉じるという反応が見られ、高[CO₂]が誘導する気孔閉鎖が起こらず、わずかに開口した^{3,4)}。さらに、光照射や気孔閉鎖ホルモンであるアブシジン酸 (ABA) に対する応答性を調べたところ、*ht1-2*、*ht1-3*とも ABA 応答性は正常であった一方、光照射による気孔開口反応は低下していた^{3,4)}。また、*ht1-2* 変異株においては青色光による気孔開口反応は低下するが損なわれなかった^{3,4)}。これらのことから HT1 が CO₂ シグナル伝達経路の主要な制御因子であり、光シグナル伝達経路にも一部関与していることが示唆された。

HT1 はアミノ酸配列の解析から Raf 様グループ C の Mitogen-activated protein kinase kinase (MAPKKK) に分類されることがわかった⁴⁾。HT1 の特性を解析するために、カルシウムキ

レート剤やプロテインキナーゼ阻害剤を用い、HT1 のキナーゼ活性を測定した。その結果、HT1 活性はカルシウムキレート剤の影響を受けず、また、セリン/スレオニンキナーゼ阻害剤によってわずかに活性が抑制された⁴⁾。さらに、C-Raf1 キナーゼ阻害剤によって活性が有意に抑制された⁴⁾。これらのことから、HT1 はカルシウムイオン非依存性のセリン/スレオニン Raf1 キナーゼファミリーに属していることが示唆された。

ht1 アリルには *ht1-1*~*ht1-5* に加え、TILLING 解析によって見出された *ht1-6* と T-DNA を挿入して作成した *ht1-7* が存在している⁴⁾。植物における代表的な Raf ファミリーMAPKKK とのアミノ酸配列比較を行った結果、*ht1-1*、*ht1-4*、*ht1-6* は保存領域の一アミノ酸置換、*ht1-2* は一部の保存領域の欠失、*ht1-5* はナンセンス変異、*ht1-7* は保存領域への T-DNA 挿入が生じていた⁴⁾。一方で、*ht1-3* は非保存領域に一アミノ酸置換が生じていた⁴⁾。*ht1-1* はキナーゼ活性が減少し、*ht1-2* では完全に消失していたことから、キナーゼ活性と表現型が強くリンクしていることが考えられた³⁾。また、HT1 の立体構造予測モデルから、*ht1-1*、

ht1-4, *ht1-6* は突然変異サイトが ATP 結合領域付近に生じたため、また、*ht1-2*, *ht1-5* は立体構造が崩壊したため、キナーゼ活性が維持できなくなったためと考えられた⁴⁾。また、*ht1-3* は、アルギニンの正電荷を帯びた長い側鎖が、リシンに置換されたことによって短くなったため、HT1 のターゲットと相互作用できなくなった可能性が示唆された⁴⁾。

近年、HT1 を中心とした CO₂ シグナル伝達経路が徐々に明らかにされつつある。気孔閉鎖に重要な役割を果たしている OPEN STOMATA1 (OST1) と HT1 の二重変異株 *ost1-3/ht1-2* を作成し、CO₂ 応答性の解析を行った結果、HT1 は機能的に OST1 の上位にあることが示唆された⁵⁾。また、アフリカツメガエル卵母細胞を用いた *in vitro* 実験において、陰イオンチャネルである SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1 (SLAC1) の OST1 による活性化が、HT1 によって阻害されたが、気孔応答に関与すると言われていた MPK12 を共発現させると SLAC1 が再び活性化した⁶⁾。このことから、MPK12 が HT1 の抑制因子として働いている可能性が示唆された。HT1 と OST1 との間にはどのような相互作用があるのか、また、それが SLAC1 の活性化にどのような影響があるのかはまだ明らかになっておらず、*in vivo* における検証実験が必要である。

2.2. 気孔閉鎖を駆動する陰イオンチャネル SLAC1 は異なる部位で CO₂ と ABA のシグナルを受容する

気孔開閉運動において、その駆動力を形成するのに重要なはたらきをしているのが孔辺細胞膜に存在するプロトンポンプやイオンチャネルである。気孔が高[CO₂]や ABA を感知すると孔辺細胞から陰イオンの放出が始まる。これが端緒となって、細胞外への水の流出が生じ、気孔が閉じる。これまで、電気生理学的な手法により、高[CO₂]や ABA などによって孔辺細胞膜上に陰イオン電流が生じており、この電流には、ゆっくり活性化される S (slow) 型と、素早く活性化される R (rapid) 型の二通りが検出されることが報告されている⁷⁾。[CO₂]非感受性変異体として単離

された *carbon dioxide insensitive 3 (cdi3)* 変異体の原因遺伝子は、S 型陰イオンチャネル SLAC1 をコードしていた⁸⁾。SLAC1 は真菌や細菌のジカルボン酸/リンゴ酸輸送体の遠縁のオルソログであり、孔辺細胞の細胞膜で特異的に発現している⁸⁾。アフリカツメガエル卵母細胞を用いた電気生理学的手法より、SLAC1 単体では陰イオンチャネル活性を示さないが、リン酸化因子を同時に発現させることで活性を持つことが示された^{9,10)}。

SLAC1 の活性化には N 末端領域に存在する特定のアミノ酸がリン酸化されることが重要であり、これまでその部位の探索が行われてきた。ABA シグナル伝達因子の一つである OST1 は、N 末端領域に存在する 120 番目のセリンを、また、CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASE 6 (CPK6) は 59 番目のセリンをリン酸化し、SLAC1 を活性化する^{9,10,11,12)}。逆に、ホスファターゼである ABA INSENSITIVE 1 (ABI1) は 59 番目のセリンを脱リン酸化することで SLAC1 を不活性化する¹²⁾。このような ABA を介した SLAC1 の活性化制御メカニズムに加え、SLAC1 が CO₂ によって活性化されるのに必要な領域が近年明らかになった¹³⁾。SLAC1 機能欠損変異体に SLAC1 タンパク質の C 末端または N 末端、また、N 末端と C 末端の両方を欠失させたコンストラクトを導入し、CO₂ と ABA に対する気孔応答性を調べた結果、いずれの形質転換植物も ABA 応答性の欠失は相補されなかったが CO₂ 応答性は回復した¹³⁾。また、N 末端と C 末端の両方を欠失させた SLAC1 形質転換植物を用いて HCO₃⁻ または ABA によって生じる S 型の陰イオン電流を測定したところ、ABA による陰イオン電流の発生は消失していたのに対して、HCO₃⁻ による陰イオン電流の発生は観測された¹³⁾。さらに、SLAC1 の膜貫通領域に存在するアミノ酸の詳細な解析によって、CO₂ 応答に関与している可能性のある 2 つのアミノ酸が見つかった¹³⁾。これらのことから、SLAC1 の CO₂ シグナル受容部位は膜貫通領域に存在しており、SLAC1 は CO₂ シグナルと ABA シグナルを独立して受信していることが明らかになった。SLAC1 のさらなる機能解析から植物の CO₂ 感知メカニズムの解明のみならず、農

業面では乾燥や高[CO₂]環境に適応力のある有用植物の開発につながることを期待される。

2.3. 膜交通因子を介した孔辺細胞・副細胞コミュニケーションによる新しい気孔応答機構

proton ATPase translocation control 1 (patrol1) 変異株は *ht1* 変異株と同様、低[CO₂]条件下でも常に高い葉面温度を示す変異株として単離された¹⁴⁾。*patrol1* 変異株は低[CO₂]、光による気孔開口反応が低下しており、野生株よりも成長が遅かった¹⁴⁾。PATROL1 は Domain of Unknown Function 810 ドメイン、および動物の神経細胞で神経伝達物質の分泌に関わる Munc13 の機能を司る MUN ドメインを持つ¹⁴⁾。MUN ドメインは SNARE 複合体の形成を促進することにより細胞内膜小胞の接合に関わる¹⁵⁾。近年の立体構造解析、コンピュータ予測により MUN の立体構造は他の小胞繫留因子と類似していることが推定された¹⁶⁾。これらのことから PATROL1 が植物でも膜輸送に関わっており、それが植物の気孔運動や生育速度に関与している可能性が示唆された。GFP 標識を施した PATROL1 (GFP-PATROL1) における細胞内局在を調べたところ、孔辺細胞膜上とエンドソームにドット状の構造をとって存在していた¹⁴⁾。さらに、細胞質内の GFP-PATROL1 ドットの密度は環境に応じて変化していた¹⁴⁾。光や水分が十分な条件下では細胞質内の GFP-PATROL1 ドット密度は減少しており、細胞膜の局在は増加していた¹⁴⁾。逆に、暗所や乾燥条件下では細胞膜への局在は減少し、細胞質内のドット密度は増加していた¹⁴⁾。また、GFP-PATROL1 と RFP-AHA1 を共発現させた形質転換植物の孔辺細胞を観察すると、PATROL1 は孔辺細胞膜上に存在するプロトンポンプ AHA1 を細胞質側から裏打ちするように局在していた¹⁴⁾。これらのことから、PATROL1 は、気孔が開くときには AHA1 を細胞膜上に配置し、閉じるときにはその一部を残して細胞質内へ回収する役割を担っていると考えられる。PATROL1 の植物組織における発現部位を調べたところ、PATROL1 は孔辺細胞だけでなく、それを取りまくように存在している副細胞にも存在

していることが明らかになった¹⁷⁾。副細胞においても、PATROL1 は AHA1 と共局在しており、気孔開閉時の副細胞における PATROL1 と AHA1 の挙動を観察すると、孔辺細胞におけるそれらの動態と真逆になることを見出した¹⁷⁾。これらの知見から、孔辺細胞と副細胞からなる気孔装置には、PATROL1 を介した水-イオンシャトル輸送システムが存在すると考えられる(図2)。PATROL1 による AHA1 の細胞膜への局在化はエキソサイトーシスによって、また、撤収はエンドサイトーシスによって行われ、細胞膜と PATROL1 とが相互作用していると考えられる。エキソサイトーシス/エンドサイトーシスに関わる膜結合タンパク質、セカンドメッセンジャーに対する特異的阻害剤を作用させたときの[CO₂]または光強度変化に伴う気孔応答性を調べた結果、ホスファチジルイノシトール 4 キナーゼ (PI4K) 阻害剤が[CO₂]変化に伴う気孔開閉と同時に PATROL1 の孔辺細胞内動態を特異的に阻害することを見出した¹⁸⁾。よって気孔の CO₂ 制御には PI4K による生成物、ホスファチジルイノシトール 4 リン酸が関与していることが示唆された。さらに、PI3K 阻害剤が気孔の明・暗応答を特異的に阻害することを見出した¹⁸⁾。このことは気孔開閉制御において、異なるホスホイノシタイドが関与することを示唆している。

PATROL1 過剰発現株 (PATROL1-OX) の気孔コンダクタンス (蒸散速度) は低[CO₂]処理によって野生株より速く、大きく上昇しており、光に対する応答性も同様であった¹⁴⁾。8 時間明、16 時間暗の短日条件で 7 週間植物を育てると、PATROL1-OX の地上部の生重量は野生株よりも 32% 増加した¹⁴⁾。また、林床環境を擬似的に再現した短時間で強光と弱光が激しく入れ替わる光環境下では、PATROL1-OX と常に気孔が開いている *slac1*、*ost1* は、最大光合成速度に達するまでに要する誘導時間は野生株と比べ短縮されていた¹⁹⁾。PATROL1-OX は野生株が気孔を開くタイミングでより速く、大きく気孔を開き、野生株が気孔を閉じるタイミングでは正常に気孔を閉じることで、水分の過剰な放出を防ぎつつ、効率の良い光合成が可能になっていると考えられる。

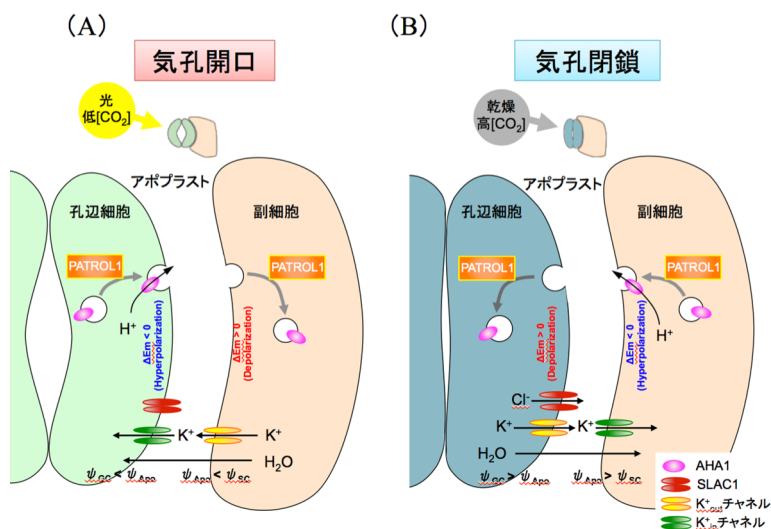


図2. 気孔装置においてPATROL1が介在する水-イオンシャトル輸送モデル (Higaki et al. 2014¹⁷) を改変

(A) 気孔開口：シロイヌナズナ孔辺細胞においてPATROL1はPM H⁺-ATPase (AHA1)を細胞膜へ局在化させる。一方、副細胞においては細胞膜からAHA1を撤収する。K⁺イオンは副細胞から脱分極によって活性化されたK⁺_{out}チャネルによって放出され、孔辺細胞においては過分極によって活性化されたK⁺_{in}チャネルによって取り込まれる。アポプラストを介して両細胞間に水ポテンシャル差が生じ、副細胞から孔辺細胞への水の移動が起こる。(B) 気孔閉鎖：孔辺細胞においてPATROL1はAHA1を細胞膜から撤収する。一方、副細胞においてはAHA1を細胞膜へ局在化させる。K⁺イオンは孔辺細胞から脱分極によって活性化されたK⁺_{out}チャネルによって放出され、副細胞においては過分極によって活性化されたK⁺_{in}チャネルによって取り込まれる。アポプラストを介して両細胞間に水ポテンシャル差が生じ、孔辺細胞から副細胞への水の移動が起こる。 Ψ_{Apo} 、 Ψ_{GC} 、 Ψ_{SC} はそれぞれアポプラスト、孔辺細胞、副細胞の水ポテンシャルを示す。 ΔE_m は膜電位の大きさを示す。PATROL1: PROTON ATPASE TRANSLOCATION CONTROL 1.

副細胞は気孔開閉機能を強化するはたらきがあることが示されており²⁰⁾、これらの知見は、PATROL1に関する研究が新しい細胞間コミュニケーションの解明に貢献するだけでなく、有用植物のバイオマス生産性の向上にも進展をもたらすことが期待される。

3. シロイヌナズナエコタイプを用いた気孔の環境応答メカニズムの解析

3.1. CO₂ 応答に特徴的の形質を持つシロイヌナズナエコタイプ Cvi-0 の気孔応答

モデル植物であるシロイヌナズナは北半球を中心に世界中に分布しており、それぞれの棲息地環境に適応して多様な形質を獲得している²¹⁾。シロイヌナズナにはこのようなDNAレベルで分化した多数の型(エコタイプ)が1,000系統以上報告されている²²⁾。一般的に、エコタイプを用いた

研究は形態学的な面から棲息地環境と植物の表現型との関わりを探索する研究に重点がおかれている。しかしながら、エコタイプ間の多様性について生理学的な面からの研究例は少ない。

北アフリカ西方沖に位置する島国の、標高およそ2,000 mの高地に棲息するエコタイプ Cape Verde Islands (Cvi-0)²³⁾は、これまでにオゾンや塩害に対する高感受性、サリチル酸とジャスモン酸の過剰産生性、また低い病害抵抗性を示すエコタイプとして知られていた^{24,25,26)}。Cvi-0の[CO₂]変化に対する気孔応答性をサーモグラフィで調べ、シロイヌナズナ標準系統のCol-0と比較したところ、高[CO₂]条件下でも常に低い葉面温度を示していた²⁷⁾。Cvi-0の気孔開度、気孔コンダクタンスを測定すると、Cvi-0はCol-0と比べ、高い開度、コンダクタンス値を示し、それらの変化率も低下していた²⁷⁾。さらに明・暗、湿度変化に対しても応答性が低く、気孔を閉じにくい形質を

持っていることがわかった²⁷⁾。その原因として、Cvi-0 は Col-0 と比べ ABA を多く合成するが、ABA に対する気孔応答性が低下していること、孔辺細胞内のイオン・有機酸の蓄積量が増加していることが考えられる²⁷⁾。

最近、Cvi-0 のこの特徴的形質は、MPK12 に生じた一アミノ酸置換によるものであり²⁸⁾、このアミノ酸置換が MPK12 とそのターゲットである CO₂ シグナル伝達因子 HT1 との結合能を減少させ、HT1 が不活性化型の状態を維持できなくなることが明らかになった²⁹⁾。

3.2. 気孔の CO₂ 応答性が緩慢なシロイヌナズナエコタイプの環境応答性

Cvi-0 の解析から、エコタイプ集団の中にも気孔応答性に興味深い形質を持つものがあることがわかった。気孔の環境応答メカニズムの解明には、変異株を用いて一つの遺伝子に焦点を当てて研究が行われているが、環境変化に対してはたらくシグナル伝達経路には、多くの遺伝子が関わった複雑なネットワークが形成されていると考えられる³⁰⁾。エコタイプ集団を用いて環境変化に対する気孔応答性を見ることで、野生植物に備わっている環境シグナル伝達情報の統合機構について新しい知見が得られることが期待される³¹⁾。

Arabidopsis Biological Resource Center から入手した、Cvi-0 を除く 374 系統のエコタイプ集団についてサーマルイメージング解析を行い、Col-0 と比べ、[CO₂]変化に伴う葉面温度変化が小さいエコタイプを 47 系統選抜した²⁾。さらにこれらの系統について気孔コンダクタンス測定を行い、[CO₂]変化に対する応答性が特に緩慢である 3 系統のエコタイプ、Köln (Kl-4)、Gabelstein (Ga-0)、Chisdra (Chi-1) を見出した²⁾ (図 3)。気孔コンダクタンスは気孔密度、気孔サイズ、気孔開度に影響を受けることが知られている。これらの要素を Col-0 と比較したところ、Kl-4、Ga-0、Chi-1 は気孔密度、気孔サイズについては、Col-0 との違いは見られなかったが、[CO₂]変化に対する気孔開度の変化率は小さくなっていった²⁾。つまり、Kl-4、Ga-0、Chi-1 は気孔開度変化が小さいことにより、緩慢な CO₂ 応答性を示していた。Kl-4、

Ga-0、Chi-1 が他の重要な環境要因である明・暗、湿度、ABA にどのような応答性を示すのかについても調べたところ、明・暗の変化に対する気孔応答性は、CO₂ 応答性と同様、Col-0 と比べ緩慢な応答性を示した²⁾。一方で、湿度変化に対しては Col-0 と同程度の応答性を示したが、ABA に対しては Col-0 と比べ緩慢な応答性を示した²⁾。これらの知見は、環境シグナル伝達経路において、光と CO₂ のシグナル伝達経路はその一部を共有しているが、湿度に対するシグナル伝達経路は独立して制御されていることを示唆している²⁾。また、湿度応答には ABA シグナル伝達経路とは独立した経路が存在することも示唆された²⁾。シロイヌナズナ変異株を用いた研究においても、光と CO₂ のシグナル伝達経路がリンクしているかどうかということは現在でも議論が続いている³²⁾。また、乾燥を感知して気孔閉鎖させるシグナル伝達経路には、ABA 依存のおよび ABA 非依存の経路が存在することが過去の研究において示唆されていたが³³⁾、これらの知見は ABA 非依存の経路の存在を裏付けた。

3.3. 巨大気孔を持つシロイヌナズナエコタイプ Me-0 の環境適応

Mechtshausen (Me-0) は[CO₂]変化に伴う葉面温度変化が小さい 47 系統の中から注目されたエコタイプで、気孔の長径が Col-0 と比べて約 1.5 倍という特徴的な形質を示している³⁴⁾。気孔面積は約 1.9 倍を有しており、気孔密度は約 60%まで低下している³⁴⁾。細胞サイズ拡大を引き起こす原因の一つに、倍数性の増加が考えられるが³⁵⁾、Me-0 の孔辺細胞内の核を蛍光顕微鏡およびフローサイトメトリを用いて調べた結果、Me-0 では 2 倍体である標準 Col 系統 (2 倍体 Col) のほぼ 2 倍で、人為的に作製された Col 4 倍体系統 (4 倍体 Col) とほぼ同じ核サイズ及び DNA 量を有していた³⁴⁾。さらに 4 倍体 Col の気孔サイズおよび密度は Me-0 とほぼ同等であった。このことから、Me-0 の気孔が巨大化している原因は倍数性の増加であることがわかった。CO₂ および明暗応答に対する気孔コンダクタンス変化を測定したところ、Me-0 は、2 倍体 Col よりも高いコン

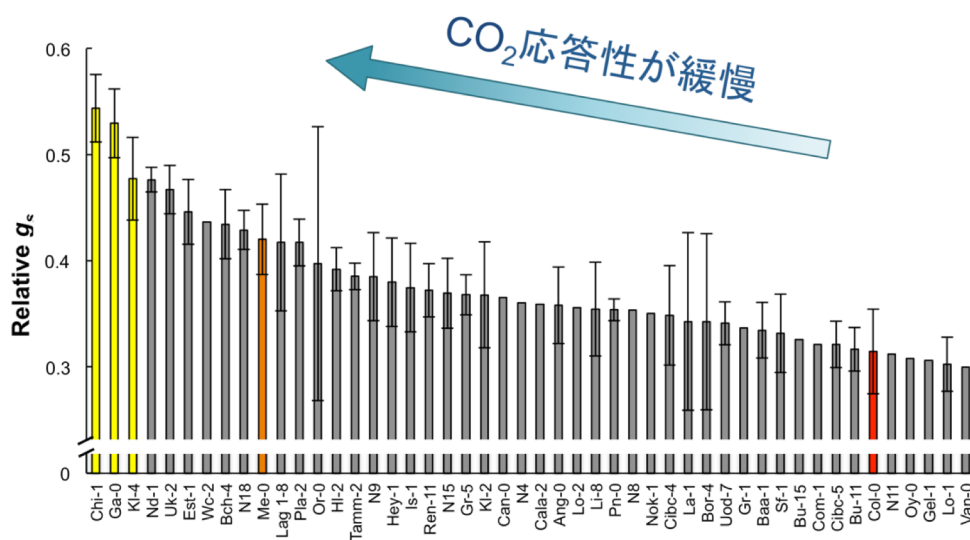


図3. シロイヌナズナエコタイプ集団の気孔で見られる多様な CO_2 応答性 (Takahashi et al. 2015²⁾ を改変) 縦軸は 0 ppm [CO_2] で 2 時間順応させたときの気孔コンダクタンス (g_s) を 1 とした際の、1,000 ppm [CO_2] で 1.5 時間順応させたときの相対的な g_s を示す。すなわちグラフの左側に名前が挙がっているエコタイプほど CO_2 応答性が緩慢であることを意味している。Chi-0、Ga-0、Kl-4 (黄バー) は特に緩慢な CO_2 応答性を示す。巨大気孔を持つ Me-0 (オレンジバー) も解析したエコタイプ集団の中では緩慢な CO_2 応答性を示した。赤バーは標準系統 Col-0。エコタイプ集団の CO_2 応答性には幅があることが、この図から見てとれる。

ダクタンスを示す一方で、4 倍体 Col では、Me-0 のような気孔コンダクタンスの上昇は見られなかった³⁴⁾。

この Me-0 と 4 倍体 Col の気孔コンダクタンスの差は、各々の気孔開口能力にある可能性が考えられる。ABA に対する応答性を調べたところ、4 倍体 Col は 2 倍体 Col および Me-0 に比べて ABA 感受性が高いことがわかった³⁴⁾。このため、気孔が過剰に閉口していることが考えられる。他のシロイヌナズナエコタイプ (あるいは他植物種) においても人為的に倍数性増加を引き起こすと ABA 応答関連遺伝子の発現変動^{35,36)}や気孔コンダクタンスの減少³⁷⁾が見られることが報告されており、シロイヌナズナにおいて倍数性の増加は遺伝子レベルで気孔閉鎖誘導を引き起こす可能性があるが、Me-0 では倍数性増加による気孔開口の抑制が緩和されており、気孔サイズの拡大がもたらす潜在的ガス交換能力の向上を十分に活かすことができるのではないかと考えられる。Me-0 から得られた知見は、高等植物の 4 倍体は潜在的には高いガス交換能力を持つが、実際にガ

ス交換効率を上昇させるには、巨大気孔を開かせるための高い気孔開口能力が必要であることを示唆している³⁴⁾。

4. おわりに

今回紹介したシロイヌナズナ変異株、エコタイプにおける一連の研究は、気孔の環境シグナル伝達経路に未解明の制御機構が存在していることを示している。未同定の因子や、すでに発見された因子の新しい役割を探索することによって、これまで点と点でしか浮かび上がっていなかった環境シグナル伝達経路の全体像が見えてくるものと考えている。近い将来、タンパク質間のネットワーク制御や複雑な環境シグナル伝達経路を処理するシステムの研究の進展によって気孔の環境応答メカニズムの解明が一気に進むことが期待される。

気孔開閉による CO_2 の取り込みと蒸散量の調節は、植物の光合成効率、水利用効率に深く影響を及ぼすことから、植物の成長、ひいては食料生産性や気候変動にもなう植物生態系への影響

に重要な意味を持つ。気孔が重要な研究分野でありながら、解明すべき課題が数多く残されている現状は、いかにこの分野が魅力と挑戦すべき課題に満ちているかを表している。

謝辞

本研究の一部は、文部科学省科研費 (JP21114002, JP26221103, JP15K18556, JP16H07045) および JST、CREST (JPMJCR1505) の援助を受けて行われました。本稿執筆の機会を与えていただいた日本光合成学会ならびに編集委員の方々に御礼申し上げます。

Received May 25, 2017; Accepted June 15, 2017;

Published Aug 30, 2017

参考文献

1. Negi, J., Hashimoto-Sugimoto, M., Kusumi, K. and Iba, K. (2013) New approaches to the biology of stomatal guard cells. *Plant Cell Physiol.* 55, 241–250.
2. Takahashi, S., Monda, K., Negi, J., Konishi, F., Ishikawa, S., Hashimoto-Sugimoto, M., Goto, N. and Iba, K. (2015) Natural variation in stomatal responses to environmental changes among *Arabidopsis thaliana* ecotypes. *PLoS One* 10, e0117449.
3. Hashimoto, M., Negi, J., Young, J., Israelsson, M., Schroeder, J.I. and Iba, K. (2006) *Arabidopsis* HT1 kinase controls stomatal movements in response to CO₂. *Nat. Cell. Biol.* 8, 391–397.
4. Hashimoto-Sugimoto, M., Negi, J., Monda, K., Higaki, T., Isogai, Y., Nakano, T., Hasezawa, S. and Iba, K. (2016) Dominant and recessive mutations in the Raf-like kinase *HT1* gene completely disrupt stomatal responses to CO₂ in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 67, 3251–3261.
5. Matrosova, A., Bogireddi, H., Mateo-Peñas, A., Hashimoto-Sugimoto, M., Iba, K., Schroeder J.I. and Israelsson-Nordström M. (2015) The HT1 protein kinase is essential for red light-induced stomatal opening and genetically interacts with OST1 in red light and CO₂-induced stomatal movement responses. *New Phytol.* 208, 1126–1137.
6. Hórak, H., Sierla, M., Töldsepp, K., Wang, C., Wang, Y-S., Nuhkat, M., Valk, E., Pechter, P., Merilo, E., Salojärvi, J., Overmyer, K., Loog, M., Brosché, M., Schroeder, J.I., Kangasjärvi, J. and Kollist, H. (2016) A dominant mutation in the HT1 kinase uncovers roles of MAP kinases and GHR1 in CO₂-induced stomatal closure. *Plant Cell* 28, 2493–2509.
7. Schroeder, J.I., Allen, G.J., Hugouvieux, V., Kwak, J.M. and Waner, D. (2001) Guard cell signal transduction. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52, 627–658.
8. Negi, J., Matsuda, O., Nagasawa, T., Oba, Y., Takahashi, H., Kawai-Yamada, M., Uchimiya, H., Hashimoto, M. and Iba, K. (2008) CO₂ regulator SLAC1 and its homologues are essential for anion homeostasis in plant cells. *Nature* 452, 483–486.
9. Lee, S.C., Lan, W., Buchanan, B.B. and Luan, S. (2009) A protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling in plant guard cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 21419–21424.
10. Geiger, D., Scherzer, S., Mumm, P., Stange, A., Marten, I., Bauer, H., Ache, P., Matschi, S., Liese, A., Al-Rasheid, K.A., Romeis, T. and Hedrich, R. (2009) Activity of guard cell anion channel SLAC1 is controlled by drought-stress signaling kinase-phosphatase pair. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 21425–21430.
11. Mori, I.C., Murata, Y., Yang, Y., Munemasa, S., Wang, Y.F., Andreoli, S., Tiriack, H., Alonso, J.M., Harper, J.F., Ecker, J.R., Kwak, J.M. and Schroeder, J.I. (2006) CDPKs CPK6 and CPK3 function in ABA regulation of guard cell S-type anion- and Ca²⁺-permeable channels and stomatal closure. *PLoS Biol.* 4, e327.
12. Brandt, B., Brodsky, D.E., Xue, S., Negi, J., Iba, K., Kangasjärvi, J., Ghassemian, M., Stephan, A.B., Hu, H. and Schroeder, J.I. (2012) Reconstitution of abscisic acid activation of SLAC1 anion channel by CPK6 and OST1 kinases and branched ABI1 PP2C phosphatase action. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 10593–10598.
13. Yamamoto, Y., Negi, J., Wang, C., Isogai, Y., Schroeder, J.I., and Iba, K. (2016) The transmembrane region of guard cell SLAC1 channels perceives CO₂ signals via an ABA-independent pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 28, 557–567.
14. Hashimoto-Sugimoto, M., Higaki, T., Yaeno, T., Nagami, A., Irie, M., Fujimi, M., Miyamoto, M., Akita, K., Negi, J., Shirasu, K., Hasezawa, S. and Iba,

- K. (2013) A Munc13-like protein in *Arabidopsis* mediates H⁺-ATPase translocation that is essential for stomatal responses. *Nat. Commun.* 4, 2215.
15. Ma, C., Li, W., Xu, Y. and Rizo, J. (2011) Munc13 mediates the transition from the closed syntaxin-Munc18 complex to the SNARE complex. *Nature Struct. Mol. Biol.* 18, 542–549.
 16. Pei, J., Ma, C., Rizo, J. and Grishin, N.V. (2009) Remote homology between Munc13 MUN domain and vesicle tethering complexes. *J. Mol. Biol.*, 391, 509–517.
 17. Higaki, T., Hashimoto-Sugimoto, M., Akita, K., Iba, K. and Hasezawa, S. (2014) Dynamics and environmental responses of PATROL1 in *Arabidopsis* subsidiary cells. *Plant Cell Physiol.* 55, 773–780.
 18. Takahashi, S., Monda, K., Higaki, T., Hashimoto-Sugimoto, M., Negi, J., Hasezawa, S. and Iba, K. (2017) Differential effects of phosphatidylinositol 4-kinase (PI4K) and 3-kinase (PI3K) inhibitors on stomatal responses to environmental signals. *Front. Plant Sci.* 8, 677.
 19. Kimura, H., Hashimoto-Sugimoto, M., Iba, K., Terashima, I. and Yamori, W. (2017) Increased stomatal conductance shortens photosynthetic induction time during the high light phase of fluctuating light. 第 58 回日本植物生理学会年会, PL-065.
 20. Raissig, M.T., Matos, J.L., Gil, M.X.A., Kornfeld, A., Bettadapur, A., Abrash, E., Allison, H.R., Badgley, G., Vogel, J.P., Berry, J.A. and Bergmann, D.C. (2017) Mobile MUTE specifies subsidiary cells to build physiologically improved grass stomata. *Science* 355, 1215–1218.
 21. Mitchell-Olds, T. and Schmitt, J. (2006) Genetic mechanisms and evolutionary significance of natural variation in *Arabidopsis*. *Nature* 441, 947–952.
 22. The 1001 Genomes Consortium (2016) 1,135 genomes reveal the global pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 166, 481–491.
 23. Lobin, W. (1983) The occurrence of *Arabidopsis thaliana* in the Cape Verde Islands. *Arab. Info. Ser.* 20, 119–123.
 24. Brosche, M., Merilo, E., Mayer, F., Pechter, P., Puzorjova, I., Brader, G., Kangasjärvi, J. and Kollist, H. (2010) Natural variation in ozone sensitivity among *Arabidopsis thaliana* accessions and its relation to stomatal conductance. *Plant Cell Environ.* 33, 914–925.
 25. Rao, M.V. and Davis, K.R. (1999) Ozone-induced cell death occurs via two distinct mechanisms in *Arabidopsis*: the role of salicylic acid. *Plant J.* 17, 603–614.
 26. Overmyer, K., Brosché, M. and Kangasjärvi, J. (2003) Reactive oxygen species and hormonal control of cell death. *Trends Plant Sci.* 8, 335–342.
 27. Monda, K., Negi, J., Iio, A., Kusumi, K., Kojima, M., Hashimoto, M., Sakakibara, H. and Iba, K. (2011) Environmental regulation of stomatal response in the *Arabidopsis* Cvi-0 ecotype. *Planta* 234, 555–563.
 28. Marais, D.L.D., Auchincloss, L.C., Sukamtoh, E., McKay, J.K., Logan, T., Richards, J.H. and Juenger, T. (2014) Variation in *MPK12* affects water use efficiency in *Arabidopsis* and reveals a pleiotropic link between guard cell size and ABA response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 2836–2841.
 29. Jakobson, L., Vaahtera, L., Töldsepp, K., Nuhkat, M., Wang, C., Wang, Y-S., Hörak, H., Valk, E., Pechter, P., Sindarovska, Y., Tang, J., Xiao, C., Xu, Y., Talas, U.G., García-Sosa, A.T., Kangasjärvi, S., Maran, U., Remm, M., Roelfsema, M.R.G., Hu, H., Kangasjärvi, J., Loog, M., Schroeder, J.I., Kollist, H. and Brosche, M. (2016) Natural variation in *Arabidopsis* Cvi-0 accession reveals an important role of *MPK12* in guard cell CO₂ signaling. *PLoS Biol.* 14, e2000322.
 30. Hetherington, A.M. and Woodward, F.I. (2003) The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424, 901–908.
 31. Alonso-Blanco, C. and Koornneef, M. (2000) Naturally occurring variation in *Arabidopsis*: an underexploited resource for plant genetics. *Trends Plant Sci.* 5, 22–29.
 32. Roelfsema, M.R., Hanstein, S., Felle, H.H. and Hedrich, R. (2002) CO₂ provides an intermediate link in the red light response of guard cells. *Plant J.* 32, 65–75.
 33. Assmann, S.M., Synder, J.A. and Lee, Y.R.J. (2000) ABA-deficient (*aba1*) and ABA-insensitive (*abi1-1*, *abi2-1*) mutants of *Arabidopsis* have a wild-type stomatal response to humidity. *Plant Cell Environ.* 23, 387–395.
 34. Monda, K., Ara, H., Ishigaki, G., Akashi, R., Negi, J., Kojima, M., Sakakibara, H., Takahashi, S., Hashimoto-Sugimoto, M., Goto, N. and Iba, K. (2016) Enhanced stomatal conductance by a spontaneous *Arabidopsis* tetraploid, Me-0, results from increased stomatal size and greater stomatal aperture. *Plant Physiol.* 170, 1435–1444.

35. Allario, T., Brumos, J., Colmenero-Flores, J.M., Iglesias, D.J., Pina, J.A., Navarro, L., Talon, M., Ollitraut, P. and Morillon, R. (2013) Tetraploid Rangpur lime rootstock increases drought tolerance via enhanced constitutive root abscisic acid production. *Plant Cell Environ.* 36, 856–868.
36. Pozo, J.C. and Ramirez-Parra, E. (2014) Deciphering the molecular bases for drought tolerance in *Arabidopsis* autotetraploids. *Plant Cell Environ.* 37, 2722–2737.
37. Kondorosi, E., Roudier, F. and Gendreau, E. (2000) Plant cell-size control: growing by ploidy? *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 488–449.

New Approaches to the CO₂ Sensing and Signaling in the Arabidopsis Stomatal Complex

Sho Takahashi, Keina Monda, Juntaro Negi and Koh Iba*

Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University

解説

Rubisco の改変による C₃ 型植物の光合成機能改良の試み[†]

岩手大学農学部, JST-CREST

鈴木 雄二*, 和田 慎也

東北大学大学院農学研究科, JST-CREST

牧野 周

Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) は光合成および光呼吸の初発反応を担う酵素であり、現在の気象条件の最大光合成速度を律速する因子になっている。また、Rubisco は C₃ 植物の葉において最も多量に存在するタンパク質で、環境条件によっては Rubisco への窒素投資が過剰となり他の光合成機能因子との不均衡が生じる。このことから、Rubisco は C₃ 植物の光合成機能改良のターゲットとされている。本解説では、Rubisco の量あるいは酵素機能の改変による C₃ 光合成の機能改良の試みについて、最近の報告を中心に紹介する。

1. Rubisco の酵素としての特性と光合成に及ぼす影響

Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) はリブローズ 1,5-ビスリン酸 (RuBP) と CO₂ から 2 分子の 3-ホスホグリセリン酸 (3-PGA) を生成する、光合成炭素同化の初発反応である炭酸固定反応を担う¹⁾。Rubisco の代謝回転速度は非常に低く、C₃ 植物では 25°C 条件で 1 反応中心当たり 1.9-3.2 回/秒に過ぎない²⁾。Rubisco は RuBP と O₂ から 3-PGA と 2-ホスホグリコール酸をそれぞれ 1 分子生成する酸素化反応も行い、これが炭酸固定反応と競合する^{1,3)}。酸素化反応は Rubisco が触媒する反応の過程において、同一の反応中間体に対し CO₂ および O₂ が拮抗的に反応するため不可避免的に生じる。生成した 2-ホスホグリコール酸は葉緑体、ペルオキシゾーム、ミトコンドリアにまたがる光呼吸の代謝を経て 3-PGA として炭素同化系に回収されるが、この際に CO₂ の発生や ATP や還元力の消費がなされる。C₃ 植物では光呼吸により光合成同化炭

素の約 3 割が損失するとされている³⁾。これらの要因から、Rubisco は CO₂ の濃度が低く、光化学系・電子伝達系でのエネルギー生産が十分な強光条件では光合成の律速因子となると考えられている^{4,5,6)}。Rubisco は地上で最も多量に存在するタンパク質としても知られており⁷⁾、C₃ 植物においては葉の全窒素の 15-35% をも占めているが^{8,9)}、これは植物が独立栄養を営むためには Rubisco の酵素としての性能が低い大量に必要なためであると考えられている。ただし、将来的な高 CO₂ 環境、すなわち基質である CO₂ の濃度が十分な場合などでは、もう一方の基質である RuBP の供給や Pi 再生産能力が光合成の律速因子となるため^{4,10)}、Rubisco の量が過剰となるといった側面もある。これらのことから、Rubisco に着目した C₃ 植物の光合成機能改良の方向性として、その適量化、すなわち、量的抑制による高 CO₂ 環境下での光合成窒素利用効率の向上や、量的増強による現在の気象環境下での光合成速度の増加が考えられる。さらには、ホスト植物の Rubisco をより高機能なものと置換することで Rubisco に要する窒素投資を低減させ、光合成の

[†]解説特集「植物のバイオマス生産能力の強化に向けた取り組み」

*連絡先 E-mail: ysuzuki@iwate-u.ac.jp

窒素利用効率を向上させようという方向性も挙げられる。

2. Rubisco のサブユニット構成

維管束植物、藻類および多くの光合成細菌の Rubisco はフォーム I と呼ばれる大小 8 つずつのサブユニットからなる 16 量体である^{11,12)}。フォーム I の Rubisco はさらに維管束植物、真核藻類、藍藻のグリーンタイプ、非緑色藻類、光合成細菌のレッドタイプに分類される。大サブユニットは葉緑体に存在する *rbcL* 遺伝子により、小サブユニットは核に存在する *RBCS* 遺伝子によりそれぞれコードされている^{13,14)}。活性中心はこのうち RbcL に存在し、RBCS は Rubisco ホロ酵素の安定性や、活性の最大化、CO₂ に対する基質特異性に関与していると推定されている。*RBCS* 遺伝子は比較的小さい遺伝子族を形成しており、分子種数は植物種によって異なっている¹⁵⁾。フォーム I の他に、紅色非硫黄細菌、化学合成細菌、渦鞭毛藻において RbcL のダイマーとして存在するフォーム II、古細菌において RbcL のダイマー、8 量体、10 量体として存在するフォーム III、CO₂ を主要な炭素源として用いない細菌に存在し、炭酸固定反応は行わず硫黄代謝に関与するフォーム IV (Rubisco-Like Protein; RLP) も存在する^{11,12)}。

3. Rubisco の量的改変による光合成機能改良の試み

3-1) Rubisco 量の抑制

Rubisco の量は高 CO₂ 環境下で過剰となるため、その分を減少させ、余剰となった窒素を他の光合成機能因子へ分配することで光合成機能や個体生育を改善できると考えられる。イネにおいては野生型の 60-70% の Rubisco 量で高 CO₂ 環境下で適量となると見積もられたため、*RBCS* 遺伝子のアンチセンス法による発現抑制によりそのような組換え体が作製された¹⁶⁾。その結果、Rubisco 以外への光合成機能因子への窒素分配が非特異的にはあるが実際に増加し、高 CO₂ 条件での光合成速度が 5-15% 増加した。ただし、この組換えイネでは生育初期に Rubisco 量が強く抑制されたため個体バイオマス生産が改善されることはな

かった¹⁷⁾。このため、個体の一生の間に Rubisco 量が安定して適量に保たれているイネを作製する必要があると考えられた。イネでは *RBCS* 遺伝子族は 5 分子種から形成され、そのうち 4 分子種が葉で主に発現している¹⁸⁾。この 4 分子種のうち 1 つずつを RNAi 法で発現抑制したところ、Rubisco 量は野生型の 66-96% となり、個体の生育段階により大きく変化することはない¹⁹⁾。光合成特性についても *RBCS* アンチセンスイネ同様に高 CO₂ 条件での光合成速度に向上がみられ、結果として個体バイオマス生産量が最大で 2 割程度増加した²⁰⁾。このように、イネでは Rubisco の適量化により高 CO₂ 環境での光合成・個体生育の改善に成功したが、この方法は全ての植物に適用可能ではないと思われる。例えば、Rubisco を抑制した組換え植物はタバコでも作製されているが、Rubisco 量の減少にともない硝酸プールの増加を引き起こしていた^{21,22)}。その一方で、イネ葉においては硝酸のプールサイズ自体がきわめて小さいとともに、そのような現象は認められなかった¹⁶⁾。このように、葉における硝酸の蓄積がポイントとなりそうである。

3-2) Rubisco 量の増強

逆に、Rubisco 量を増強することで低 CO₂ から現在の大気環境下で光合成や個体バイオマス量が増加するのだろうか。葉内の至適窒素分配をシミュレーションにより予測した場合、Rubisco 量は現在の 1.5 倍程度と見積もられている²³⁾。Rubisco 量増強の試みとして過去にシラカバ^{24,25)} やコムギ²⁶⁾ において、器官非特異的に高い活性を持つプロモーターの制御下で *RBCS* 遺伝子の過剰発現が試みられたが、Rubisco 量が増加することはなかった。一方、イネにおいて *RBCS* 遺伝子の過剰発現を *RBCS* 遺伝子自身のプロモーターの制御下で試みたところ Rubisco 量の 20-30% の増加が認められた²⁷⁾。しかし、光合成速度は Rubisco 量の増加にともない上がることはなく、Rubisco 量当たりで見ると低下した。Rubisco 量増強イネでは Rubisco 以外への窒素分配が減少するとともに、Rubisco の生体内での活性化率の低下やいくつかのカルビン-ベンソン回

路の中間代謝産物のプールサイズの増加がみられた²⁸⁻³⁰⁾。これらのことから、Rubisco量の増加にともない光合成の反応プロセス全体のバランスが崩れたものと予測された。最近、Rubisco量増強イネで増加がみられたセドヘブツロース 7-リン酸の代謝を担う酵素トランスケトラーゼも同時に増強されたものの、光合成速度に変化は見られなかった³¹⁾。代謝産物のプールサイズの変動は有用な情報ではあるが、実際の代謝産物のフローを見ているわけではないので注意を要する。このように、Rubisco量の増強は必ずしもイネの光合成機能の大きな改良に結び付いておらず、その原因は解明されていない。Rubisco量増強イネにおいて、Rubisco量の増強のためにRubisco以外的高分子窒素画分から一律に10%程度の窒素が奪われることになる。電気泳動レベルで特異的な量的変動を示したタンパク質はこれまでのところ見つけられていない (Suzuki and Makino, 未発表)。このように、光合成は非常に微妙なバランスの上に成り立っていると考えられる。ただし、Rubisco量増強イネでは窒素の吸収量が増加しており、低CO₂では個体バイオマス量が若干増加するという効果は見られた³²⁾。内在性のRubisco量の増加に成功した遺伝子組換え植物の実例は、私たちのイネだけであり、他植物種においてはどのような効果が現れるかは、非常に興味深いところである。

4. Rubiscoの酵素特性の改良の試み

4-1) 「より良いRubisco」の探索

Rubiscoの酵素的性質には生物種間差があり、一般的に炭酸固定反応の比活性 k_{cat}^c とO₂に対するCO₂の基質特異性 [specificity factor (S_{clo})] との間にはトレードオフの関係があるとされている^{12,33,34)}。その理由は、カルボキシレーション時にCO₂およびRuBPが形成する遷移状態とカルボキシレーションによる反応生成物であるC₆化合物カルボキシケトアラビニトールビスリン酸との構造的な類似性にあると考えられている³⁵⁾。すなわち、CO₂への基質特異性 S_{clo} が高いRubiscoでは、遷移状態と反応生成物がより類似した構造となるためCO₂付加の際にO₂との分別が容易にな

るが、反応生成物が反応中心とより強く結合するために3-PGAへの開裂が遅くなるとされている。その一方で、CO₂への基質特異性 S_{clo} が低いRubiscoでは、遷移状態と反応生成物の構造が比較的類似しておらずCO₂付加の際にO₂との分別が容易ではないが、反応生成物と反応中心との結合が弱いために3-PGAへの開裂は早くなるとされている。高CO₂環境で進化したプロテオバクテリアやCO₂濃縮機構を持つC₄植物や藻類、藍藻ではRubiscoのCO₂への基質特異性 S_{clo} は低い一方で比活性 k_{cat}^c は高く、逆にC₃植物やCO₂濃縮機構を持たない藻類ではRubiscoのCO₂への基質特異性 S_{clo} は高い一方で比活性 k_{cat}^c は低い^{12,34)}。また、溶存CO₂濃度が高くなる低温環境に適応した植物のRubiscoでは比活性 k_{cat}^c が高く、逆に温暖な環境に適応した植物では低い傾向にある^{36,37)}。乾燥環境に適応した植物や乾燥ストレスで気孔を閉じやすい植物のRubiscoではCO₂への基質特異性 S_{clo} が高くなる傾向にある^{38,39)}。これらのことから、Rubiscoは活性中心のCO₂環境における光合成速度が高くなるように進化してきたものと考えられる。

ただし、比活性 k_{cat}^c とCO₂への基質特異性 S_{clo} との関係にはある程度のばらつきがあるため、Rubiscoのキネティクスのパラメーターを光合成モデル^{40,41)}に当てはめることでより性能の良いRubiscoを選抜することができる。CO₂に対する基質特異性 S_{clo} 自体もその指標となると考えられている^{42,43)}。紅藻*Griffithsia monilis*のRubiscoはCO₂への基質特異性 S_{clo} が高く、比活性 k_{cat}^c も維持されていることから、タバコのRubiscoと置換した場合には光飽和ではいずれのCO₂濃度においても光合成速度が増加すると見積もられている⁴⁴⁾。C₃型の作物のRubiscoを*G. monilis*のもので置換すると個体群での一日当たりの光合成量が25%以上増加するとも見積もられている³³⁾。これに加え、炭酸固定反応の反応効率、すなわち比活性と21% O₂条件でのCO₂に対するミカエリス定数との比 ($k_{cat}^c/K_c^{21\% O_2}$) も指標となりえる^{42,43)}。炭酸固定反応の効率の高いトウモロコシ等のNADP-ME型のC₄植物のRubiscoでC₃型光合成が行われた場合、タバコやコムギのRubiscoと

比べ現在の気象条件下でも光合成速度が高くなると見積もられている⁴⁵⁾。なお、これらのパラメーターのうちCO₂への基質特異性 S_{co} については、光呼吸がストレス条件下での過剰エネルギー消費に寄与している可能性があるため⁴⁶⁻⁴⁸⁾、過度に高くない方が安全であるとも考えられる。実際、Rubisco量を抑制したイネにおいてはCO₂補償点近傍でのPSIの還元状態が亢進し、強いストレスを受けている状態になっていた⁴⁹⁾。これは光合成とともに光呼吸も抑制されたためである。

宿主植物によっては、近縁の種から比活性 k_{cat} およびCO₂への基質特異性 S_{co} がともに高いものを選ぶことも可能であり、将来的な異種Rubiscoの導入を考えた場合にも適している。コムギ連においては、オオムギとヤギムギのRubiscoがコムギのRubiscoに対しこのような特性を持ち、コムギRubiscoと置換した場合には最大で2割程度の光合成速度の増加が見込まれている⁵⁰⁾。さらに様々な種間についても調べられ、高性能のRubiscoが新たに見出されている⁵¹⁾。他方、将来的な高CO₂環境下では光呼吸は抑制されるため、比活性 k_{cat} が高いRubiscoの方が有利であるとの考え方から、C₄植物や寒冷地や高山に生育する植物のRubiscoも着目されている^{37,52,53)}。さらには、シアノバクテリアが持つカルボキシゾームや藻類が持つピレノイドといったCO₂濃縮機構を維管束植物の葉緑体にRubiscoごと移植しようとの試みがなされつつある⁵⁴⁻⁵⁷⁾。その他にも、実験室レベルでRubiscoの酵素的特性を進化させることができるかという試みもある。古細菌*Methanococcoides burtonii*の非光合成Rubiscoにランダムなアミノ酸変異を生じさせたものの中から、ある程度比活性 k_{cat} に改良がみられたRubiscoが選抜された⁵⁸⁾。

4-2) 異種生物由来Rubisco導入の試み

Rubiscoの活性中心はRbcLに存在することから、宿主植物のRbcLの置換の試みが進められてきている(文献⁵³⁾参照)。宿主植物としては葉緑体形質転換が比較的容易なタバコが主として用いられている。これまでに問題になってきたのは、RbcLがシアノバクテリアや紅藻、単子葉

植物由来の場合にはホロ酵素が宿主植物内に形成されないことであった。一方、双子葉植物由来の場合にはタバコRBCSとのLS異種間Rubiscoは形成され、例えばC₄型植物*Flaveria bidentis*のRbcLを導入した際にはLS異種間Rubiscoに高比活性・低CO₂親和性型といったC₄型の特性が付与されていた⁵⁹⁾。しかし、形成されるLS異種間Rubiscoの量が少ないことで光合成速度の低下が生じるという問題があった。これに対する解決策が近年見出されつつある。Rubiscoホロ酵素のアッセンブルには分子シャペロンが関与しており⁶⁰⁾、例えばトウモロコシのRubisco量が減少したミュータントでBundle Sheath Defective 2 (BSD2)⁶¹⁾、Rubisco Accumulation Factor 1 (RAF1)⁶²⁾、Rubisco Accumulation Factor 2 (RAF2)⁶³⁾が見出されている。これらはRBCSと一過的な複合体を形成し、シャペロニンでフォールディングされたRbcLをシャペロニンから受け取り、大小サブユニットの複合体を形成する役割を担うことが示唆されている⁶³⁾。タバコの内在性*rbcL*遺伝子をシロイヌナズナの*rbcL*遺伝子で置換する際に、シロイヌナズナの*RAF1*遺伝子を同時に導入することで、Rubisco量、光合成速度および個体バイオマス量の低下がある程度緩和された⁶⁴⁾。このことは、異種RbcLとこれに適した分子シャペロンも同時に導入することでRubisco量の減少を防ぐことができることを意味する。ただし、この研究例ではタバコのRBCSに対し作用するのはシロイヌナズナの*RAF1*となっているため、前述のような反応機作⁶³⁾が実際に作用しているかどうかは不明である。

維管束植物へのカルボキシゾームの移植においては、前述のようにシアノバクテリアのRbcLをタバコに導入してもホロ酵素が形成されないという問題があった。これに対し、タバコ葉緑体に*Synechococcus elongatus* PCC7942の大小サブユニット遺伝子とRubiscoホロ酵素のアッセンブルの過程で作用するシャペロン*rbcX*⁶⁵⁾を同時に導入したところ、形質転換体のRubisco量は野生型よりも大幅に低下したものの導入遺伝子由来のRubiscoのみが蓄積していた⁵⁴⁾。なお、*rbcX*を発現コンストラクトから除いた場合でも同程度

の量の Rubisco ホロ酵素が蓄積した⁵⁵⁾。 *S. elongatus* PCC7942 で *rbcX* をノックアウトしても Rubisco ホロ酵素はアSEMBルされており⁶⁶⁾、いずれの場合でも内在性 RAF1 がホロ酵素のアSEMBルを担っていたのではないかと予測されている。カルボキシゾームの構成要素の同時発現についても研究が進んできており、Rubisco 遺伝子とともにカルボキシゾーム形成開始時の Rubisco の重合を担う *ccmM35* 遺伝子⁶⁷⁾ を同時に導入することで、葉緑体内で Rubisco が重合することが観察された^{54,55)}。さらに、カルボキシゾームの構成要素のうち、殻を構成するものを含むいくつかをタバコ・ベンサミアナで一過的に同時に発現させたところ、カルボキシゾーム様の構造が観察された⁶⁸⁾。これらのことは、高等植物のストロマでもカルボキシゾームが形成できる可能性を示している。ただし、そのためには各構成要素を適正量、適正な量比で発現させる必要があると指摘されている。

異種生物由来の RBCS の導入は過去にクラミドモナスにおいてなされており、ハウレンソウ、シロイヌナズナ、ヒマワリといった維管束植物の RBCS で置換したところ、これらの Rubisco が持つ低比活性・高 CO₂ 基質特異性といった性質が LS 異種間 Rubisco に反映されていた⁶⁹⁾。維管束植物においても異種生物由来の RBCS の導入についての知見が蓄積しつつある。イネにおける光合成機能改良のために C₄ 植物であるソルガム由来の高比活性・低 CO₂ 基質特異性 Rubisco の RBCS 遺伝子を導入したところ、全小サブユニットのうち 30-79% がソルガム由来のものとなった組換え体が得られ、Rubisco の酵素特性が高比活性・低 CO₂ 基質特異性に変化していた⁵²⁾。ただし、光合成速度が増加することはなかった。その理由として、Rubisco の比活性および量の増加による Rubisco の能力の増加に対して電子伝達能力が不足していたことが指摘されている。その一方で、イネに低温耐性の C₃ 型植物であるチモシー由来の高比活性・低 CO₂ 基質特異性 Rubisco の RBCS 遺伝子を導入しても Rubisco の酵素特性は大きく変化することはなかった⁷⁰⁾。また、シロイヌナズナで主に発現する *RBCS1A* および *3B* 遺伝子の

二重変異体にトランジットペプチドを *RBCS1A* のものと置換したクラミドモナスの RBCS 遺伝子を導入したところ、比活性 k_{cat} と CO₂ への基質特異性 S_{co} がともに低下した⁵⁷⁾。このように、導入する Rubisco の酵素的性質が常に LS 異種間 Rubisco に反映されるとは限らないようである。

5. おわりに

以上、Rubisco の改変による C₃ 型光合成の機能改変に関する最近の情報を紹介した。Rubisco 量の抑制により高 CO₂ 環境に適したイネの作製には成功したものの、光合成および個体バイオマス生産の改善は著しいものではなかった。さらなる改善のためには、Rubisco 以外の光合成を律速する因子に重点的に窒素を分配する必要がある。Rubisco 量を増強する場合には、それらの因子を明らかにしないと飛躍的な光合成機能改善は期待できない。

Rubisco の酵素機能の改良における問題は、葉緑体形質転換を行うことができる植物種が限られているということであり、特に作物における実験系の開発が望まれる。RbcL もしくは RBCS の置換に関しては、宿主植物と異種生物の相性の良さに関する分子的基盤として、鍵となるアミノ酸や部分的配列の特定も必要となる。Rubisco の完全置換も視野に入れると、内在性の RBCS 遺伝子の発現をいかに抑制するかが課題となるが、このためにはゲノム編集技術が必要となる。その上で、望むような Rubisco を必要量だけ発現させるための分子的な基盤を解明し操作しなければならない。今回は触れなかったが、Rubisco アクティベースを介した Rubisco の活性化制御の問題も生じる。これらの課題を解決するまでには、まだまだ超えなくてはならないいくつかの壁がある。

謝辞

今回紹介した研究例の一部は、科研費 (26450074, JP16H02538) および JST-CREST (植物頑健性) からの補助で行われた。ここに厚く御礼申し上げる。

Received May 31, 2017; Accepted June 12, 2017;

Published Aug 30, 2017

参考文献

- Lorimer, G.H. (1981) The carboxylation and oxygenation of ribulose 1,5-bisphosphate: The primary events in photosynthesis and photorespiration. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 32, 349–383.
- 牧野周 (2014) Rubisco の機能と光合成. 光合成研究と産業応用最前線 pp 43–52, エヌ・ティー・エス, 東京.
- Ogren, W.L. (1984) Photorespiration: pathways, regulation, and modification. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 415–442.
- von Caemmerer, S. and Farquhar, G.D. (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153, 376–387.
- Evans, J.R. (1986) The relationship between CO₂-limited photosynthetic rate and ribulose-1,5-bisphosphate-carboxylase content in two nuclear-cytoplasm substitution lines of wheat and coordination of ribulose-bisphosphate-carboxylation and electron-transport capacities. *Planta* 167, 351–358.
- Makino, A., Mae, T. and Ohira, K. (1988) Differences between wheat and rice in the enzyme properties of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and their relationship to photosynthetic gas exchange. *Planta* 174, 30–38.
- Ellis, R.J. (1979) The most abundant protein in the world. *Trend. Biochem. Sci.* 4, 241–244.
- Evans, J.R. (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia* 78, 9–19.
- Makino, A., Sakashita, H., Hidema, J., Mae, T., Ojima, K. and Osmond, B. (1992) Distinctive responses of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and carbonic anhydrase in wheat leaves to nitrogen nutrition and possible relationships to CO₂-transfer resistance. *Plant Physiol.* 100, 1737–1743.
- Sharkey, T.D. (1985) Photosynthesis in intact leaves of C₃ plants: physics, physiology and rate limitations. *Bot. Rev.* 51, 53–105.
- Andersson, I. and Backlund, A. (2008) Structure and function of Rubisco. *Plant Physiol. Biochem.* 46, 275–291.
- Whitney, S.M., Houtz, R.L. and Alonso, H. (2011) Advancing our understanding and capacity to engineer nature's CO₂-sequestering enzyme, Rubisco. *Plant Physiol.* 155, 27–35.
- Dean, C., Pichersky, E. and Dunsmuir, P. (1989) Structure, evolution and regulation of *rbcS* genes in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 415–439.
- Spreitzer, R.J. (2003) Role of the small subunit in ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Arch. Biochem. Biophys.* 414, 141–149.
- Manzara, T. and Gruissem, W. (1988) Organization and expression of the genes encoding ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in higher plants. *Photosynth. Res.* 16, 117–139.
- Makino, A., Shimada, T., Takumi, S., Kaneko, K., Matsuoka, M., Shimamoto, K., Nakano, H., Miyao-Tokutomi, M., Mae, T. and Yamamoto, N. (1997) Does decrease in ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase by antisense *rbcS* lead to a higher N-use efficiency of photosynthesis under conditions of saturating CO₂ and light in rice plants? *Plant Physiol.* 114, 483–491.
- Makino, A., Harada, M., Kaneko, K., Mae, T., Shimada, T. and Yamamoto, N. (2000) Whole-plant growth and N allocation in transgenic rice plants with decreased content of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase under different CO₂ partial pressures. *Aust. J. Plant Physiol.* 27, 1–12.
- Suzuki, Y., Nakabayashi, K., Yoshizawa, R., Mae, T. and Makino, A. (2009) Differences in expression of the *RBCS* multigene family and Rubisco protein content in various rice plant tissues at different growth stages. *Plant Cell Physiol.* 50, 1851–1855.
- Ogawa, S., Suzuki, Y., Yoshizawa, R., Kanno, K. and Makino, A. (2012) Effect of individual suppression of *RBCS* multigene family on Rubisco contents in rice leaves. *Plant Cell Environ.* 35, 546–553.
- Kanno, K., Suzuki, Y. and Makino, A. (2017) A small decrease in Rubisco content by individual suppression of *RBCS* genes leads to the improvement of photosynthesis and greater biomass production in rice under conditions of elevated CO₂. *Plant Cell Physiol.* 58, 635–642.
- Quick, W.P., Schurr, U., Fichtner, K., Schulze, E.-D., Rodermeil, S.R., Bogorad, L. and Stitt, M. (1991) The impact of decreased Rubisco on photosynthesis, growth, allocation and storage in tobacco plants

- which have been transformed with antisense *rbcS*. *Plant J.* 1, 51–58.
22. Masle, J., Hudson, G.S. and Badger, M.R. (1993) Effects of ambient CO₂ concentration on growth and nitrogen use in tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants transformed with an antisense gene to the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Plant Physiol.* 103, 1075–1088.
 23. Zhu, X.G., de Sturler, E. and Long, S.P. (2007) Optimizing the distribution of resources between enzymes of carbon metabolism can dramatically increase photosynthetic rate: a numerical simulation using an evolutionary algorithm. *Plant Physiol.* 145, 513–526.
 24. Valjakka, M., Aronen, T., Kangasjärvi, J., Vapaavuori, E. and Häggman, H. (2000) Genetic transformation of silver birch (*Betula pendula*) by particle bombardment. *Tree Physiol.* 20, 607–613.
 25. Sillanpää, M., Kontunen-Soppela, S., Luomala, E.M., Sutinen, S., Kangasjärvi, J., Häggman, H. and Vapaavuori, E. (2005) Expression of senescence-associated genes in the leaves of silver birch (*Betula pendula*). *Tree Physiol.* 25, 1161–1172.
 26. Mitchell, R.A.C., Joyce, P.A., Rong, H., Evans, V.J., Madgwick, P.J. and Parry, M.A.J. (2004) Loss of decreased-rubisco phenotype between generations of wheat transformed with antisense and sense *rbcS*. *Ann. Appl. Biol.* 145, 209–216.
 27. Suzuki, Y., Ohkubo, M., Hatakeyama, H., Ohashi, K., Yoshizawa, R., Kojima, S., Hayakawa, T., Yamaya, T., Mae, T. and Makino, A. (2007) Increased Rubisco content in transgenic rice transformed with the 'sense' *rbcS* gene. *Plant Cell Physiol.* 48, 626–637.
 28. Makino, A. and Sage R.F. (2007) Temperature response of photosynthesis in transgenic rice transformed with 'sense' or 'antisense' *rbcS*. *Plant Cell Physiol.* 48, 1472–1483.
 29. Suzuki, Y., Miyamoto, T., Yoshizawa, R., Mae, T. and Makino, A. (2009) Rubisco content and photosynthesis of leaves at different positions in transgenic rice with an overexpression of *RBCS*. *Plant Cell Environ.* 32, 417–427.
 30. Suzuki, Y., Fujimori, T., Kanno, K., Sasaki, A., Ohashi, Y. and Makino, A. (2012) Metabolome analysis of photosynthesis and the related primary metabolites in the leaves of transgenic rice plants with increased or decreased Rubisco content. *Plant Cell Environ.* 35, 1369–1379.
 31. Suzuki, Y., Kondo, E. and Makino, A. (2017) Effects of co-overexpression of the genes of Rubisco and transketolase on photosynthesis in rice. *Photosynth. Res.* 131, 281–289.
 32. Sudo, E., Suzuki, Y. and Makino, A. (2014) Whole-plant growth and N utilization in transgenic rice plants with increased or decreased Rubisco content under different CO₂ partial pressures. *Plant Cell Physiol.* 55, 1905–1911.
 33. Zhu, X.-G., Portis Jr, A.R. and Long, S.P. (2004) Would transformation of C₃ crop plants with foreign Rubisco increase productivity? A computational analysis extrapolating from kinetic properties to canopy photosynthesis. *Plant Cell Environ.* 27, 155–165.
 34. Tcherkez, G. (2013) Modelling the reaction mechanism of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and consequences for kinetic parameters. *Plant Cell Environ.* 36, 1586–1596.
 35. Tcherkez, G.G.B., Farquhar, G.D. and Andrews, T.J. (2006) Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all ribulose bisphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 7246–7251.
 36. Sage, R.F. (2002) Variation in the *k_{cat}* of Rubisco in C₃ and C₄ plants and some implications for photosynthetic performance at high and low temperature. *J. Exp. Bot.* 53, 609–620.
 37. Ishikawa, C., Hatanaka, T., Misoo, S. and Fukayama, H. (2009) Screening of high *k_{cat}* Rubisco among Poaceae for improvement of photosynthetic CO₂ assimilation in rice. *Plant Prod. Sci.* 12, 345–350.
 38. Galmés, J., Flexas, J., Keys, A.J., Cifre, J., Mitchell, R.A.C., Madgwick, P.J., Haslam, R.P., Medrano, H. and Parry, M.A.J. (2005) Rubisco specificity factor tends to be larger in plant species from drier habitats and in species with persistent leaves. *Plant Cell Environ.* 28, 571–579.
 39. Galmés, J., Kapralov, M.V., Andralojc, P.J., Conesa, M.À., Keys, A.J., Parry, M.A.J. and Flexas, J. (2014) Expanding knowledge of the Rubisco kinetics variability in plant species: environmental and evolutionary trends. *Plant Cell Environ.* 37, 1989–2001.
 40. Farquhar, G.D., von Caemmerer, S. and Berry J.A. (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149, 78–90.
 41. von Caemmerer, S. (2000) Biochemical models of

- leaf photosynthesis. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia.
42. Andrews, T.J. and Whitney, S.M. (2003) Manipulating ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase in the chloroplasts of higher plants. *Arch. Biochem. Biophys.* 414, 159–169.
 43. Sharwood, R.E. and Whitney, S.M. (2014) Correlating Rubisco catalytic and sequence diversity within C₃ plants with changes in atmospheric CO₂ concentrations. *Plant Cell Environ.* 37, 1981–1984.
 44. Whitney, S.M., Baldet, P., Hudson, G.S. and Andrews, T.J. (2001) Form I Rubiscos from non-green algae are expressed abundantly but not assembled in tobacco chloroplasts. *Plant J.* 26, 535–547.
 45. Sharwood, R.E., Ghannoum, O. and Whitney, S.M. (2016) Prospects for improving CO₂ fixation in C₃-crops through understanding C₄-Rubisco biogenesis and catalytic diversity. *Curr. Opin. Plant Biol.* 31, 135–142.
 46. Winkler, A, Lea, P.J., Quick, W.P. and Leegood R.C. (2000) Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355, 1517–1529.
 47. Wilhelm, C. and Selmar, D. (2011) Energy dissipation is an essential mechanism to sustain the viability of plants: The physiological limits of improved photosynthesis. *J. Plant Physiol.* 168, 79–87.
 48. 嶋川銀河, 三宅親弘 (2017) 植物が安心して光合成できるワケ～PS I を光傷害から護る P700 酸化システム～. 光合成研究 27, 4–15.
 49. Wada, S., Suzuki, Y., Miyake, C. and Makino, A. (2017) Changes in the redox state of PSI in transgenic rice plants with a decrease or increase in Rubisco content under low [CO₂] condition. Abstract Book. Annual Meeting of JSPP 2017, 102.
 50. Prins, A., Orr, D.J., Andralojc, P.J., Reynolds, M.P., Carmo-Silva, E. and Parry, M.J.A. (2016) Rubisco catalytic properties of wild and domesticated relatives provide scope for improving wheat photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 67, 1827–1838.
 51. Orr, D.J., Alcântara, A., Kapralov, M.V., Andralojc, P.J., Carmo-Silva, E. and Parry, M.J.A. (2016) Surveying Rubisco diversity and temperature response to improve crop photosynthetic efficiency. *Plant Physiol.* 172, 707–717.
 52. Ishikawa, C., Hatanaka, T., Misoo, S., Miyake, C. and Fukayama, H. (2011) Functional incorporation of sorghum small subunit increases the catalytic turnover rate of Rubisco in transgenic rice. *Plant Physiol* 156, 1603–1611.
 53. 深山浩 (2013) 高 CO₂ 環境に適した Rubisco の導入によるイネの光合成能力の改良. 光合成研究 23, 24–32.
 54. Lin, M.T., Occhialini, A., Andralojc, P.J., Parry, M.A.J. and Hanson, M.R. (2014) A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops. *Nature* 513, 547–550.
 55. Occhialini, A., Lin, M.T., Andralojc, P.J., Hanson, M.R. and Parry, M.A. (2016) Transgenic tobacco plants with improved cyanobacterial Rubisco expression but no extra assembly factors grow at near wild-type rates if provided with elevated CO₂. *Plant J.* 85, 148–160.
 56. Hanson, M.R., Lin, M.T., Carmo-Silva, A.E. and Parry M.A.J. (2016) Towards engineering carboxysomes into C3 plants. *Plant J.* 87, 38–50.
 57. Atkinson, N., Leitão, N., Orr, D.J., Meyer, M.T., Carmo-Silva, E., Griffiths, H., Smith, A.M. and McCormick, A.J. (2017) Rubisco small subunits from the unicellular green alga *Chlamydomonas* complement Rubisco-deficient mutants of *Arabidopsis*. *New Phytol.* 214, 655–667.
 58. Wilson, R.H., Alonso, H. and Whitney, S.M. (2016) Evolving *Methanococcoides burtonii* archaeal Rubisco for improved photosynthesis and plant growth. *Scientific Reports* 6, Article number: 22284.
 59. Whitney, S.M., Sharwood, R.E., Orr, D., White, S.J., Alonso, H. and Galmés, J. (2011) Isoleucine 309 acts as a C₄ catalytic switch that increases ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (rubisco) carboxylation rate in *Flaveria*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 14688–14693.
 60. Hauser, T., Popilka, L., Hartl, F.U. and Hayer-Hartl, M. (2015) Role of auxiliary proteins in Rubisco biogenesis and function. *Nat. Plants* 15065.
 61. Brutnell, T. P., Sawers, R. J., Mant, A. and Langdale, J.A. (1999) Bundle sheath defective 2, a novel protein required for post-translational regulation of the *rbcl* gene of maize. *Plant Cell* 11, 849–864.
 62. Feiz, L., Williams-Carrier, R., Wostrikoff, K., Belcher, S., Barkan, A. and Stern, D.B. (2012) Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase accumulation factor1 is required for holoenzyme assembly in maize. *Plant Cell* 24, 3435–3446.
 63. Feiz, L., Williams-Carrier, R., Belcher, S., Montano, M., Barkan, A. and Stern, D.B. (2014) A protein with

- an inactive pterin-4a-carbinolamine dehydratase domain is required for Rubisco biogenesis in plants. *Plant J.* 80, 862–869.
64. Whitney, S.M., Birch, R., Kelso, C., Beck, J.L. and Kapralov, M.V. (2015) Improving recombinant Rubisco biogenesis, plant photosynthesis and growth by co-expressing its ancillary RAF1 chaperone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 3564–3569.
65. Saschenbrecker, S., Bracher, A., Rao, K.V., Rao, B.V., Hartl, F.U. and Hayer-Hartl, M. (2007) Structure and function of RbcX, an assembly chaperone for hexadecameric Rubisco. *Cell* 129, 1189–1200.
66. Emlyn-Jones, D., Woodger, F.J., Price, G.D. and Whitney, S.M. (2006) RbcX can function as a Rubisco chaperonin, but is non-essential in *Synechococcus* PCC7942. *Plant Cell Physiol.* 47, 1630–1640.
67. Cameron, J.C., Wilson, S.C., Bernstein, S.L. and Kerfeld, C.A. (2013) Biogenesis of a bacterial organelle: the carboxysome assembly pathway. *Cell* 155, 1131–1140.
68. Lin, M.T., Occhialini, A., Andralojc, P.J., Devonshire, J., Hines, K.M., Parry, M.A.J. and Hanson, M.R. (2014) β -Carboxysomal proteins assemble into highly organized structures in *Nicotiana* chloroplasts. *Plant J.* 79, 1–12.
69. Genkov, T., Meyer, M., Griffiths, H. and Spreitzer, R.J. (2010) Functional hybrid rubisco enzymes with plant small subunits and algal large subunits: engineered *rbcS* cDNA for expression in *Chlamydomonas*. *J. Biol. Chem.* 285, 19833–19841.
70. Fukayama, H., Koga, A., Hatanaka, T. and Misoo, S. (2015) Small subunit of a cold-resistant plant, timothy, does not significantly alter the catalytic properties of Rubisco in transgenic rice. *Photosynth. Res.* 124, 57–65.

Challenges for the improvement of C_3 photosynthesis via genetic manipulation of Rubisco

Yuji Suzuki^{1,3,*}, Shinya Wada^{1,3} and Amane Makino^{2,3}

¹Faculty of Agriculture, Iwate University, ²Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University,

³JST-CREST

解説

ソースおよびシンク能力の改変による植物バイオマス生産能強化[‡]

¹近畿大学農学部, ²筑波大学, ³(株)植物ハイテック, ⁴JST/CREST
田部 記章^{1,4}, 田茂井 政宏^{*,1,4}, 菊池 彰^{2,4}, 横田 明穂^{3,4}, 重岡 成^{1,4}

イモ類は単位面積当たりの収穫量およびハーベストインデックスが栽培作物中でほぼ最大であることから、生産性向上のターゲット作物として適しており、二酸化炭素資源化に大いに有効である。バイオマス生産能の強化には、ソース能とシンク能の同時強化が望まれる。そこで、光合成カルビン回路の律速段階である2つのホスファターゼ反応をラン藻由来のフルクトース-1,6-/セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ (FBP/SBPase) 遺伝子の導入によって強化し、野生種スイカの乾燥時の急速な根の発達に関わる *CLRAN1* 遺伝子の導入によってシンク能を強化する。これらの形質転換植物は隔離ほ場レベルで評価し、実用化に向けた植物生産性強化の技術基盤を整備することが望まれる。

1. はじめに

持続可能な低炭素化社会を構築するためには、植物の光合成 CO₂ 固定化能力を飛躍的に高め、地球規模でのバイオマス生産増加、乾燥や強光ストレスが深刻な地帯でのバイオ資源生産を図らなければならない。そもそも、植物は自身が有する光合成 CO₂ 固定能力を 100% 発揮しているのだろうか。地表に届いている太陽光の光量子密度は約 2,000 μmol photons/m²/s である。これを受け取る植物葉内のクロロフィル (Chl) 量は約 500 μmol/m² であるが、葉面積指数 (LAI) を考慮すると 2,000 μmol/m² 程度となり、太陽光を効率よく受けとることができる。一方、光合成 CO₂ 固定における必要光量子数はカルビン回路の生化学的 CO₂ 固定反応だけだと 8~10 であるが、植物全体では 18~22 程度となる。したがって、植物体が自己再生しながら光合成を行う際の最大 CO₂ 固定速度は、太陽光の光量子密度と植物が必要とする光量子数から 100 μmol/m²/s 程度 (2,000/18~22) であると見積もられる。一方、植物葉中のリブロース-1,5-ビスリン酸 (RuBP) カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) の最大活性はダイズで 89 μmol/m²/s、個葉光合成活

性が高いヒマワリでは 100 μmol/m²/s に達する。すなわち、太陽光量子量、Chl 量、LAI、Rubisco 量はすでに完璧に最適化されていることになる。しかし、実際の CO₂ 固定速度は C₃ 植物で 20~30 μmol/m²/s、C₄ 植物で 25~35 μmol/m²/s 程度である¹⁾。光が十分にあり、電子伝達系が律速にならない環境でのこの光合成 CO₂ 固定速度の低さの原因は Rubisco の CO₂ への親和性の低さとオキシゲナーゼ反応、さらには後述の通り Rubisco の基質である RuBP の再生速度が考えられる。Rubisco の CO₂ への親和性の低さは Rubisco 量を増やすことで克服できると期待されるが、実際には Rubisco 量を増やすと Rubisco の活性化率が低下してしまうことが知られている²⁾。それならば、Rubisco 量の改変を目指すのではなく、いま植物がもっている Rubisco に最大限の仕事をさせる機能環境を整えてやることができないだろうか。これらのことから、光合成能力 (ソース能) を高める方法として、第 1 にカルビン回路の環境を改善し、RuBP 再生効率を改善すると共に Rubisco の機能抑制の原因を取り除くこと、第 2 にシンク能を強化してシンクによる葉の光合成フィードバックを無くすとともに貯蔵能も拡大することが考えられる。

一方、植物の光合成 CO₂ 固定化能力を飛躍的に高めてバイオマス生産を向上させるには、どの様

[‡]解説特集「植物のバイオマス生産能力の強化に向けた取り組み」

*連絡先 E-mail: tamoi@nara.kindai.ac.jp

な植物を対象にするかは非常に重要な問題となる。難耕作地帯での栽培が可能で、環境への負荷が少なく、地球温暖化を迎えても人口増に見合う生産性が確保でき、石油に代わる工業原料を提供し、エネルギー供給に貢献する植物や作物を用いる事が最も望ましい。単位耕作面積当たりの収穫量とハーベストインデックス(作物の全乾物重当たりの収穫部位の乾物重)を比較してみると、日本の主要作物であるイネでは収穫量は 7 トン/ha/年、ハーベストインデックスは 50%であるが、作物の中ではイモ類が大きな数値を示す。ジャガイモの収穫量は 35-40 トン/ha/年、ハーベストインデックスは 60-70%、サツマイモの収穫量は 30 トン/ha/年、ハーベストインデックスは 80%である³⁾。また、栽培適地に関して、サツマイモは中緯度から赤道近く、ジャガイモは中緯度地域となっており、より広い地域でのバイオマス生産を可能にするためにはイモ類をターゲットにすることは非常に好ましいと考えられる。

本稿では、これまでに我々が蓄積してきた研究成果を元に、イモ類のソース・シンク機能強化による生産性増大に向けた取り組みについて紹介する。

2. カルビン回路の強化によるイモ類のソース能力の向上

1990 年代に世界で繰り返された植物カルビン回路の代謝律速段階の解析研究から、カルビン回路ではセドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ (SBPase)、フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ (FBPase)、Rubisco が律速となって十分な光合成速度に達していないことが判明していた⁴⁻¹¹⁾。そこで我々は、FBPase と SBPase の両反応を触媒するラン藻由来のフルクトース-1,6-/セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ (FBP/SBPase) 遺伝子をタバコ核ゲノムもしくは葉緑体ゲノムに導入したところ、形質転換体では野生型と比較して 25~50%もの光合成の促進と 50~80%のバイオマス生産の増加が認められた^{12,13)}。この光合成の昂進は、FBP/SBPase の導入によって Rubisco の基質である RuBP の濃度上昇に

よって活性化された Rubisco アクティベースがさらに Rubisco を活性化することが原因であった^{12,14)}。さらに、シロイヌナズナ、レタス、ユーグレナに FBP/SBPase を導入した際にも同様にバイオマス増産効果が見られた^{13,16,17)}。また、Bernacchiらのグループはダイズに、Liらのグループはイネに FBP/SBPase を導入し、光合成活性の増加およびバイオマスの増産が見られることを報告している^{18,19)}。一方、Rainesらのグループを中心に、SBPase および FBPase を単独で導入した場合にも光合成機能の向上、バイオマス増産効果が見られているが、両酵素遺伝子を同時に導入した場合および FBP/SBPase 遺伝子を導入した場合に比べると効果は低い^{14,20-22)}。これらの結果より、FBP/SBPase の導入は、Rubisco の機能環境の改善によるイモ類植物のソース能向上に利用できると考えられ、まずはサツマイモへの FBP/SBPase 遺伝子導入を試みた。

サツマイモは分子生物学的な情報がほとんどないことから、まずは CaMV35S プロモーター制御下で FBP/SBPase を葉緑体に恒常的に発現させたサツマイモ形質転換体 (35Spro:FS 株) を作出した。FBP/SBPase の高発現が見られた株では、総 FBPase 活性は野生株の約 2.2 倍に、2,000 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ での光合成活性は野生株の約 1.9 倍に上昇していた。しかし、いずれの系統においても生育促進およびバイオマスの増大は認められなかった。イネやシロイヌナズナでの FBP/SBPase 発現解析の結果から、FBP/SBPase の恒常的発現は光合成活性には正の効果を示すものの、生育には負の効果を示す場合がある¹⁶⁾。これは、フルクトース 6-リン酸 (F6P) \rightleftharpoons フルクトース 1,6-ビスリン酸 (FBP) 間及びセドヘプツロース 7-リン酸 (S7P) \rightleftharpoons セドヘプツロース 1,7-ビスリン酸 (SBP) 間に futile cycle が生じることによるエネルギーロスが生じることが原因ではないかと考えられる。そのため、FBP/SBPase 遺伝子の導入には、宿主植物で機能する緑色組織特異的なプロモーターが必要であると思われる。そこで、サツマイモの緑色組織で特異的に発現する Rubisco スモールサブユニットプロモーター (*plbrbcS1*) を単離し²³⁾、このプロモーター制御

下で *FBP/SBPase* を発現させた“改良型 *FBP/SBPase* 導入サツマイモ”(IbRbcS1pro:FS 株) を作出した。IbRbcS1pro:FS 株における総 *FBPase* 活性は非組換え体の約 1.4 倍に、2,000 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ での光合成活性は非組換え体の約 1.3 倍に上昇していた。さらに、IbRbcS1pro:FS 株の地上部は非組換え体と比較して有意に増加していた (図 1)。しかし、この系統の塊根数は非組換え体と比較して増加していたが、塊根重量に有意差は認められなかった。また、特定網室での栽培により生育特性を比較したところ、いずれの形質転換体もグロースチャンパー内での結果と同様の傾向を示した。ソース能およびシンク能が異なるジャガイモ株をいろいろな組合せで接ぎ木し、ソースとシンクの生産性を調べた報告では、シンク能力の大きい作物ではソース能力とシンク能力を個別に向上させても植物体全体の生産性向上には結びつかないとされている²⁴⁾。従って、タバコやシロイヌナズナなど、明確なシンク器官を有しない植物では、*FBP/SBPase* 遺伝子導入によるソース機能の向上はバイオマス増産に直結していたが、サツマイモのように明確なシンク器官を有する植物では、シンク器官の肥大はソース器官からの糖の転流量だけではなく、他の因子によって制限されている可能性が高いことが予想される。

3. イモ類のシンク能強化に向けた取り組み

イモ類植物におけるシンク機能の評価は、これまで分子レベルでの解析は行われてこなかった。特に、サツマイモの根の発達の分子機構や塊根が肥大化する機構、ジャガイモのストロンの形態形成や塊茎肥大化の機構は未だに不明である。また、重大な問題であるが、主要作物においてすら生産機能向上のためのシンク・ソースバランスの最適化は旧来の品種改良によって達成されてきたに過ぎず、現在の最先端科学は全く踏み込めていないままであり、分子レベルでの解析と分子育種が必要な時期に来ている。

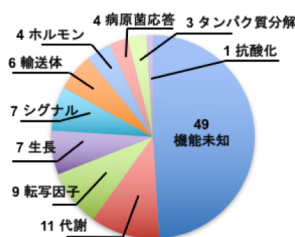
サツマイモの塊根は不定根が特定の時期に肥大した光合成産物貯蔵組織である。不定根原基は茎に存在する節より形成され、大きさを増した後



図 1. 改良型 *FBP/SBPase* 導入サツマイモの表現型

非組換え体 (左) と比較して、改良型 *FBP/SBPase* 導入サツマイモ (右) では蔓数、葉数、塊根数が増加している。地上部の新鮮重量は非組換え体と比較して改良型 *FBP/SBPase* 導入サツマイモ株で増加していたが、塊根の重量には両株間で有意差は認められなかった。

に伸長し塊根へと成長する。また、同じ節から遅れて形成される原基は前者よりも太くならず、根長は短く塊根へ成長することは少ない。この現象は、不定根原基の形成時期が、塊根形成に際して重要な因子となることを示唆している。しかしながら、ゲノム情報の乏しいサツマイモにおける塊根形成機構に関する分子生物学的な知見はほとんどない。そこで、サツマイモ (*Ipomoea batatas* (L.) Lam. cv. Kokei 14) の茎および不定根原基のトランスクリプトームを次世代シーケンサーを用いて解析し、不定根原基形成時に発現誘導される遺伝子の同定を試みた (Tanabe et al. submitted)。その結果、不定根原基での発現が茎と比較して 2 倍以上高い 6,219 コンティグを得た。このうち、節での発現が高い TOP 100 コンティグには他の植物に認められる胚発生や細胞肥大に関するホモログが多く存在していた (図 2)。これらの結果は、サツマイモにも他のモデル植物と同様な形態形成機構が保存されていることを強く示唆していた。そこで、RNA-seq 解析より得られた節高発現遺伝子のサツマイモにおける組織特異的発現を半定量的 RT-PCR によって解析し、22 遺伝



不定根原基における発現が高かった遺伝子の例

機能	遺伝子名	発現比
胚発生	AP2-like エチレン応答転写因子 (BBM)	- 11.23
	AP2-like エチレン応答転写因子 (AIL6)	- 10.35
	AP2-like エチレン応答転写因子 (PLT2)	- 9.92
	AP2-like エチレン応答転写因子 (PLT3)	- 9.29
	Late embryogenesis abundant protein-related (LEA)	- 10.62
	オーキシン応答転写因子 (ARF5)	- 9.11
	Scarecrow (SCR)	- 8.66
細胞分化	GIGANTEA	- 10.43
	extensin-like	- 9.56
	beta expansin 1 precursor	- 9.08

図 2. 不定根原基と茎間のトランスクリプトーム解析

茎と比較して不定根原基での発現が 2 倍以上高かった遺伝子のトップ 100 コンティグを機能により分類(数字は遺伝子数を示す)および不定根原基における発現が高かった遺伝子として主なものを挙げた。

子に関して不定根原基での発現が茎より高いことを確認した。さらに、個々の遺伝子の機能解析のために、サツマイモから完全長 cDNA を単離し、シロイヌナズナへ過剰発現させたラインを作成した。その中で、PLATZ (plant AT-rich sequence and zinc-binding protein; IbPLATZ) 転写因子を恒常的に過剰発現させたシロイヌナズナは矮性の表現型を示した (図 3A)。GUS レポーターアッセイの結果、IbPLATZ プロモーターは根端特異的であった。そこで、IbPLATZ 遺伝子をオウゴンプロモーター制御下で発現させたところ、形質転換シロイヌナズナはコントロール株と比較して根の伸長促進を示した (図 3)。これらの結果から、IbPLATZ 遺伝子は根の発達を促進することによるシンク能の強化に利用できると思われる。

一方、植物の環境応答研究の一環として野生種スイカの乾燥強光への耐性に興味を持ち、その分子機構を研究してきた。特に、野生種スイカは土壌乾燥に伴い、栽培種スイカに比べて急速に根を発達させることを見出した。この発達中の根のプロテオーム並びにトランスクリプトーム解析から、CLRANI 遺伝子を見出した²⁵⁾。この遺伝子を

35S プロモーター制御下でシロイヌナズナ、タバコやジャガイモで発現させると、これらの植物の根の発達を促進した^{26,27)} (図 4)。ジャガイモではストロンの先端に塊茎が形成され、サツマイモでは根の肥大化によって塊根が形成される。したがって、これらの植物のシンク機能強化には根やストロンの発達を促進する遺伝子の機能が重要である。サツマイモの塊根、ジャガイモの塊茎ともに腋芽が地中の暗黒下で分化して生じたものであり、CLRANI 遺伝子の発現様式から考えて、これらの遺伝子はシンク器官の発達を通してシンク能の強化に利用できると思われる。実際に、CLRANI 遺伝子を CaMV35S プロモーター制御下で発現させた形質転換ジャガイモを作成したところ、形質転換体ではストロン数、塊茎数ともに野生株と比較して増加していた。

4. ソース・シンク能同時強化に向けた今後の展望

これまでの結果から、イモ類においても光誘導的にラン藻由来 FBP/SBPase 遺伝子を発現させることによってソース能を向上させることが可能である一方で、イモ部分のバイオマス増産にはソース能とシンク能の両方を同時に強化する必要が

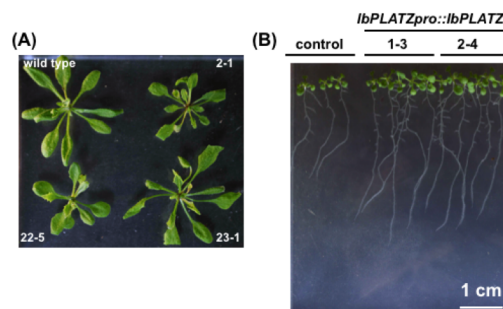


図 3. IbPLATZ 導入によるシロイヌナズナへの影響

(A) CaMV35S プロモーターを用いて、IbPLATZ を恒常的に過剰発現させた株 (35Spro::IbPLATZ)。野生株と比較して、35Spro::IbPLATZ 株では葉の歪曲および矮化が見られた。(B) IbPLATZ プロモーター制御下で IbPLATZ を導入したシロイヌナズナ (IbPLATZpro::IbPLATZ)。野生株と比較して、IbPLATZpro::IbPLATZ 株では根の伸長および即根数の増加が見られ、それに伴って地上部の肥大化が見られた。

あることが明らかとなった。横田らと共同研究を



図4. CLRAN1 導入によるジャガイモ塊茎数の増加 (Breeding Science 65: 77–84 (2015)より転載)
CaMV35S プロモーターを用いて CLRAN1 を恒常的に過剰発現させた株 (右) では非組換え体 (左) と比較して塊根数が増加している。しかし、CLRAN1 過剰発現株のそれぞれの塊根は野生株と比較して小さくなっており、CLRAN1 導入によりシンク器官が強化されても、地上部のソース能力が同じであれば、それぞれの塊根に分配される糖が少なくなるためではないかと考えられる。

行っているインドネシアの Suharsono らのグループは、緑色組織特異型 FBP/SBPase と恒常型 CLRAN1 を導入したジャガイモ品種 Nooksack では塊茎数および塊茎重量が増加することを報告している²⁸⁾。一方、根の伸長に関わる *IbPLATZ* および *CLRAN1* 遺伝子を導入する際には、その遺伝子を適切な器官・時期に発現制御できるプロモーターを用いる事が効果的であることも明らかとなった。そこで現在は、光誘導型プロモーター (*rbcs* プロモーター) 制御下で *FBP/SBPase* 遺伝子を、*IbPLATZ* もしくは *CLRAN1* 遺伝子をサツマイモ *IbPLATZ* プロモーターもしくはジャガイモ内生 *RAN* プロモーター制御下でそれぞれ組み合わせさせて発現させるコンストラクトをサツマイモおよびジャガイモに導入した形質転換体の解析を進めている。作物は、全ての栽培環境で良好に育つものではない。その作物に合った最適な栽培環境を探さなくてはならない。特に遺伝子組換えを行なって出来た作物については、実験室内では優れたパフォーマンスを示すものの、変動要素の多い屋外での栽培になると予想通りの形質を示さないことも多い。今後は実用環境に近い特定網室および隔離ほ場での生産性評価を行い、将来的には海外での栽培も視野に入れて研究を進める必要があると考えている。

謝辞

本研究は 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」研究領域の支援 (JPMJCR12B3) を受け実施された。また、研究の一部は、植物科学最先端研究拠点ネットワーク (PSR-net) により整備された研究設備を用い、筑波大学遺伝子実験センター形質転換植物デザイン研究拠点 (PTraD initiative) の支援を受けて実施された。

Received May 31, 2017; Accepted June 21, 2017;

Published Aug 30, 2017

参考文献

1. von Caemmerer, S. and Quick, W.P. (2000) Rubisco: Physiology in vivo. In *Photosynthesis: Physiology and metabolism* pp85–113, Kluwer Academic Press.
2. Suzuki, Y., Miyamoto, T., Yoshizawa, R., Mae, T. and Makino, A. (2009) Rubisco content and photosynthesis of leaves at different positions in transgenic rice with an overexpression of RBCS. *Plant Cell Environ.* 32, 417–427.
3. FAOSTAT (2014) URL: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
4. Stitt, M. and Sonnewald, U. (1995) Regulation of metabolism in transgenic plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46, 341–368.
5. Fridlyand, L.E., Backhausen, J.E. and Scheibe, R. (1999) Homeostatic regulation upon changes of enzyme activities in the Calvin cycle as an example for general mechanisms of flux control. What can we expect from transgenic plants? *Photosynth. Res.* 61, 227–239.
6. Raines, C.A. (2003) The Calvin cycle revisited. *Photosynth. Res.* 75, 1–10.
7. Woodrow, I.E. and Mott, K.A. (1993) Modeling C3 photosynthesis: a sensitivity analysis of the photosynthetic carbon reduction cycle. *Planta* 191, 421–432.
8. Koßmann, J., Sonnewald, U. and Willmitzer, L. (1994) Reduction of the chloroplastic fructose-1,6-bisphosphatase in transgenic potato plants impairs photosynthesis and plant growth. *Plant J.* 6, 637–650.

9. Harrison, E.P., Willingham, N.M., Lloyd, J.C. and Raines, C.A. (1998) Reduced sedoheptulose-1,7-bisphosphatase levels in transgenic tobacco lead to decreased photosynthetic capacity and altered carbohydrate accumulation. *Planta* 204, 27–36.
10. Ölçer, H., Lloyd, J.C. and Raines, C.A. (2001) Photosynthetic capacity is differentially affected by reductions in sedoheptulose-1,7-bisphosphatase activity during leaf development in transgenic tobacco plants. *Plant Physiol.* 125, 982–989.
11. Poolman, M.G., Ölçer, H., Lloyd, J.C. and Fell, D.A. (2001) Computer modeling and experimental evidence for two steady state in the photosynthetic Calvin cycle. *Eur. J. Biochem.* 268, 2810–2816.
12. Miyagawa, Y., Tamoi, M. and Shigeoka, S. (2001) Overexpression of a cyanobacterial fructose-1,6-/sedoheptulose-1,7-bisphosphatase in tobacco enhances photosynthesis and growth. *Nature Biotechnol.* 19, 965–969.
13. Yabuta, Y., Tamoi, M., Yamamoto, K., Tomizawa, K., Yokota, A. and Shigeoka, S. (2008) Molecular design of photosynthesis-elevated chloroplasts for mass accumulation of a foreign protein. *Plant Cell Physiol.* 49, 375–385.
14. Tamoi, M., Nagaoka, M., Miyagawa, Y. and Shigeoka, S. (2006) Contribution of fructose-1,6-bisphosphatase and sedoheptulose-1,7-bisphosphatase to the photosynthetic rate and carbonflow in the Calvin cycle in transgenic plants. *Plant Cell Physiol.* 47, 380–390.
15. Ichikawa, Y., Tamoi, M., Sakuyama, H., Maruta, T., Ashida, H., Yokota, A. and Shigeoka, S. (2010) Generation of transplastomic lettuce with enhanced growth and high yield. *GM Crops* 1, 322–326.
16. Otori, K., Tanabe, N., Maruyama, T., Sato, S., Yanagisawa, S., Tamoi, M. and Shigeoka, S. (2017) Enhanced photosynthetic capacity increases nitrogen metabolism through the coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation in *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Res. J. Plant Res.* 30, 909–927.
17. Ogawa, T., Tamoi, M., Kimura, A., Mine, A., Sakuyama, H., Yoshida, E., Maruta, T., Suzuki, K., Ishikawa, T. and Shigeoka, S. (2015) Enhancement of photosynthetic capacity in *Euglena gracilis* by expression of cyanobacterial fructose-1,6-/sedoheptulose-1,7-bisphosphatase leads to increases in biomass and wax ester production. *Biotechnol. Biofuel.* 8, 80.
18. Köhler, I.H., Ruiz-Vera, U.M., VanLooke, A., Thomey, M.L., Clemente, T., Long, S.P., Ort, D.R. and Bernacchi, C.J. (2017) Expression of cyanobacterial FBP/SBPase in soybean prevents yield depression under future climate conditions. *J. Exp. Bot.* 68, 715–726.
19. Gong, H.Y., Li, Y., Fang, G., Hu, D.H., Jin, W.B., Wang, Z.H. and Li, Y.S. (2015) Transgenic rice expressing Ictb and FBP/SBPase derived from cyanobacteria exhibits enhanced photosynthesis and mesophyll conductance to CO₂. *PLOS ONE* 10, 1371.
20. Lefebvre, S., Lawson, T., Fryer, M., Zakhleniuk O.V., Lloyd, J.C. and Raines, C.A. (2005) Increased sedoheptulose-1,7-bisphosphatase activity in transgenic tobacco plants stimulates photosynthesis and growth from an early stage in development. *Plant Physiol.* 138, 451–460.
21. Rosenthal, D.M., Locke, A.M., Khozaei, M., Raines, C.A., Long, S.P. and Ort, D.R. (2011) Over-expressing the C₃ photosynthesis cycle enzymes sedoheptulose-1,7-bisphosphatase improves photosynthetic carbon gain and yield under fully open air CO₂ fumigation (FACE). *BMC Plant Biol.* 11, 123.
22. Simkin A.J., McAusland, L., Headland, L.R., Lawson, T. and Raines, C.A. (2015) Multigene manipulation of photosynthetic carbon assimilation increases CO₂ fixation and biomass yield in tobacco. *J. Exp. Bot.* 66, 4075–4090.
23. Tanabe, N., Tamoi, M. and Shigeoka, S. (2015) The sweet potato *RbcS* gene (*IbRbcS1*) promoter confers high-level and green tissue-specific expression of the *GUS* reporter gene in transgenic Arabidopsis. *Gene* 567, 244–250.
24. 井上晴喜、田中明 (1978) source-sink 関係よりみたバレイシヨの野生株と栽培種の比較. *土肥誌* 49, 321–327.
25. Yoshimura, K., Masuda, A., Kuwano, M., Yokota, A. and Akashi, K. (2008) Programmed proteome response for drought avoidance/tolerance in the root of a C₃ xerophyte (wild watermelon) under water deficits. *Plant Cell Physiol.* 49, 226–241.
26. Akashi, K., Yoshimura, K., Kajikawa, M., Hanada, K., Kosaka, R., Kato, A., Katoh, A., Nanasato, Y., Tsujimoto, H. and Yokota, A. (2016) Potential involvement of drought-induced Ran GTPase *CLRan1* in root growth enhancement in a xerophyte wild watermelon. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 7, 1–

- 10.
27. Katoh, A., Ashida, H., Kasajima, I., Shigeoka, S. and Yokota, A. (2015) Potato yield enhancement through intensification of sink and source performances. *Breeding Sci.* 65, 77–84.
28. Suharsono, F. and Widyastuti, U. (2016) Genetic transformation of potato (*Solanum tuberosum* L.) Cv. Nooksack with FBPase/CIRan1 genes mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Pak. J. Biotechnol.* 12, 187–192.

Development in biomass productivity through simultaneous improvement of functions of sink and source organs in plants

Noriaki Tanabe^{1,4}, Masahiro Tamoi^{1,4}, Akira Kikuchi^{2,4}, Akiho Yokota^{3,4}, Shigeru Shigeoka^{1,4}

¹Faculty of Agriculture, Kindai University, ² Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, ³Plant High Technology Institute, ⁴CREST/JST

解説

植物葉群における葉間窒素分配の最適性[‡]

東北大学大学院生命科学研究所

彦坂 幸毅*

植物葉群内の葉窒素含量の勾配は、植物群落の光合成量の決定要因の一つである。窒素分配の生態学的意義は、最適化理論に基づいて議論されてきた。現実の植物群落の窒素分配は最適化理論の予測に近いが、葉群光合成速度を最大にする最適分配よりは傾きが緩い。理論が初めて発表されたのは30年以上前だが、理論と現実の不一致の原因は今なお明らかになっておらず、現在も多くの論文が発表されている。本稿では、著者らの成果を中心に近年の動向を紹介する。理論的研究では、散乱光のみを考えるか、あるいは直達光と散乱光を分けて考えるかによって最適窒素分配が異なることが示された。実験研究ではメタ解析が行われ、木本群落・草本群落共通の傾向があることが明らかになった。また、窒素分配が最適に近い、例外的な植物が見出された。窒素分配は、まだ改良の余地があり、育種のターゲットとなり得る形質である。

1. はじめに

窒素は、多くの生態系で植物の成長を律速する資源である¹⁾。これは、光合成などの植物機能のために多くの窒素を必要とするからである。自然選択の結果、植物はバイオマス生産において効率よく窒素を利用するために様々なしくみを進化させてきた。

多くの植物群落では、葉面積あたりの窒素含量(以下 N_{area})が上部の葉ほど高いという垂直的な勾配がある。例えば、セイタカアワダチソウの群落では、最上部の葉の N_{area} は最下部の葉の N_{area} の約2倍である²⁾。この勾配は効率よい窒素利用のための適応的な戦略であると考えられている³⁾。今から30年前の1987年には、最適窒素分配理論を葉群光合成モデルに組み込んだ論文が廣瀬忠樹氏らにより発表され²⁾、窒素分配が葉群光合成速度に強い影響をもつことが示されている。これらの進展は、その後の植生機能モデルの発展の礎となった。

本稿では、葉群窒素分配の最適性について、著者らの近年の成果を中心に紹介する。第一に、最適窒素分配の理論について簡単に紹介する。第二に、最適分配と現実の分配について紹介する。最後に、なぜ現実の分配が最適ではないのか、これまでの議論を簡単に紹介する。なお、本稿は昨年発表した総説⁴⁾の主要なポイントを解説し、さらにその後の知見を加えたものである。詳細はそちらを参照されたい。

2. 最適窒素分配理論

葉の光合成能力と N_{area} の間に強い関係があることはよく知られている^{5,6)}。ただし、光合成速度と N_{area} の間の相関はどの光強度でも関係が見られるわけではなく、強い相関があるのは強光下に限られる⁷⁾。強光下では、 N_{area} が高いほど光合成速度が上がるが、弱光下では関係は弱くなり、 N_{area} を高くしても光合成速度はそれほど上がらないか、あるいは低下してしまう。植物がもてる窒素が有限であることを考慮すれば、暗い環境にいる葉に多くの窒素をもたせるのはムダであり、その窒素を明るい環境にある葉に送れば、葉群全

[‡]解説特集「植物のバイオマス生産能力の強化に向けた取り組み」

*連絡先 E-mail: hikosaka@m.tohoku.ac.jp

体の光合成速度の増加につながる。この理論を最初に数式化したのは Field³⁾ である。

Field³⁾のモデルは、式は単純だが偏微分方程式を用いているため、そのままでは使いにくい。本年京都賞を受賞することとなった Farquhar⁸⁾ は、飽和光下の最大光合成速度 (A_{\max}) と N_{area} の間に直線の相関があるという簡単な仮定を置くと、葉が受ける光強度 (I) と A_{\max} が比例するように窒素を分配すれば、葉群光合成速度が最大になると指摘した。

$$A_{\max 1} : A_{\max 2} : A_{\max 3} : \dots = I_1 : I_2 : I_3 : \dots \quad (1)$$

ここで下付の数字は異なる葉を意味する。この指摘は Anten et al.⁹⁾ によって数学的に証明された。

最適な場合、葉群内でどのように窒素が分配されるかについて、少し詳しく説明する。 A_{\max} と N_{area} の間の関係は、正の X 切片をもつ直線の間になることが多い。

$$A_{\max} = a(N_{\text{area}} - N_b) \quad (2)$$

ここで a は係数である。 N_{area} の X 切片の値 (N_b) を構造窒素量、 N_{area} から X 切片の値を引いた値を光合成窒素量と便宜的に呼ぶ。窒素分配が最適な場合、葉の光環境と光合成窒素量は比例する。光環境は、群落最上部から、葉層を通過するにしたがい減衰する。この減衰パターンは、Beer 則によって表すことができる¹⁰⁾。

$$I = I_0 \exp(-K_L F) \quad (3)$$

ここで、 I と I_0 はそれぞれ群落内と群落最上部の水平面光強度、 K_L は吸光係数、 F は積算葉面積指数 (上部から葉面積を積算し、土地面積で除した値) である。同様に N_{area} の減衰も指数関数によって表すことができる。

$$N_{\text{area}} = (N_0 - N_b) \exp(-K_b F) + N_b \quad (4)$$

ここで、 N_0 は最上部の葉の N_{area} 、 K_b は光合成窒素分配係数、 N_b は A_{\max} - N_{area} 関係の X 切片である。

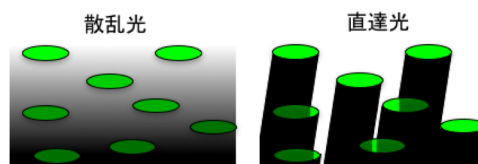


図 1. 散乱光と直達光の減衰パターンの模式図
Hikosaka (2016) より改変して転載。

Anten et al.⁹⁾ は、 $K_L = K_b$ となったときに、その窒素分配が最適であることを数学的に証明した。

以上の理論は、同一の F (すなわち高さ) では光強度が均一である場合にのみ成り立つ。しかしながら、野外ではこの仮定は必ずしも成立しない。野外で晴れた場合には、太陽から直接届く直達光と、空中で散乱し、あらゆる方向から届く散乱光が存在する (図 1)。直達光は、葉群内で減衰するのは、光強度ではなく光が届く確率である。すなわち、一つの方向からしかこないため、いったん葉に遮蔽されるとその下にはほとんど直達光は届かないが、遮蔽されなければ、葉群下部でも強い光が届く。一方、散乱光は様々な方向からの光が混在しているため、平均化されやすく、葉群内では光強度が減衰し、同じ F では同じ光強度を受けると仮定して差し支えない。したがって、「光強度 (の期待値) と A_{\max} が比例すれば最適」という Farquhar⁸⁾ や Anten et al.⁹⁾ のモデルは、散乱光下のみでしか成り立たない、といえる。Hikosaka¹¹⁾ は散乱光のみ、直達光のみ、散乱光 + 直達光での最適窒素分配を理論的に計算した。その結果、直達光があると、最適窒素分配はより急になることを数学的に明らかにした (図 2)。

3. 現実の植物葉群における窒素分配

最適窒素分配と現実の植物葉群の窒素分配を初めて比較したのも Field³⁾ である。Field³⁾ は、低木において N_{area} に勾配があることを見出したが、その分配は最適分配に比べて緩かった。以降、多くの研究が最適と現実の比較を行ってきた。多少の例外はあるものの、ほとんどの研究が、現実の葉群の窒素分配が最適ではないことを報告している (過去の研究は散乱光下の最適窒素分配の

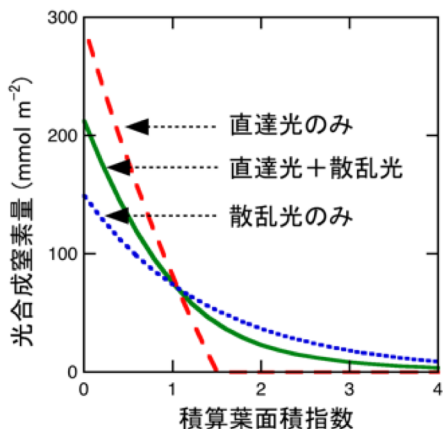


図 2. 散乱光のみ、直達光のみ、そして散乱光 + 直達光における最適窒素分配

縦軸は光合成窒素量（葉窒素量から光合成-窒素関係の X 切片を差し引いたもの）、横軸は積算葉面積指数。Hikosaka (2014) より改変して転載。

みを考えているが、直達光を考慮しても結論は変わらない）。

Hikosaka et al.¹²⁾ はこれまでに得られた窒素分配の研究結果を収集し、メタ解析を行った。393 の植物葉群の窒素分配係数と環境要因について調べた結果、以下のような傾向が明らかとなった。

1) 多くの植物では、 K_b の値は吸光係数 K_L 、葉群の総葉面積指数、気温、緯度、標高の影響を受ける。これらの要因のうち、最も重要な要因は K_L であり、大まかに見ると K_b は K_L と比例しており、 K_b の値は K_L の約半分である（図 3）。

$$K_b = 0.5K_L \quad (10)$$

2) コムギとその他の植物とでは傾向が大きく異なり、コムギでは窒素分配係数 K_b の値は、 K_L との間に相関がなく、葉群の総葉面積指数に依存する。コムギで他種と異なる傾向が得られる理由は不明である。

3) 木本とコムギ以外の草本の間で、 K_b と K_L の関係に大きな差はない。

このように、コムギ以外の植物では窒素分配を最適にはしていないことが改めて明らかになった。一方で、Muryono et al.¹³⁾ は非常に興味深い現象を見出した。イネの品種タカナリは、日本で

最も収量が高いイネ品種の一つである。タカナリの収量が高い理由の一つは、タカナリの葉の N_{area} が高く、光合成能力が高いことであることがわかっている（例えば文献 14）。ただし、先行研究では葉群最上部の葉しか調べておらず、葉群全体に対する調査は行われていなかった。Muryono et al.¹³⁾ はタカナリと普及品種コシヒカリの窒素利用を比較した。コシヒカリの窒素分配と K_L の関係は、Hikosaka et al.¹²⁾ のメタ解析で得られたコムギ以外の種における関係と同様であったが、タカナリの窒素分配は急で、同じ K_L で比較すると、コシヒカリよりも窒素分配係数が約 2 倍の値であった。タカナリの葉群全体に含まれる窒素量はコシヒカリの窒素量よりも低く、窒素勾配を急にしていることで最上部の葉の窒素含量を高くしていることが明らかとなった。タカナリが窒素分配を急にできる理由は明らかではない。

4. なぜ実際の窒素分配は最適ではないのか？

ここまで見てきたように、現実の窒素分配は、理論が予測する最適分配とは大きく異なる。なぜ実際の窒素分配は最適ではないのか、という疑問は Field³⁾ 以来多くの研究者がもち、様々な仮説が示されてきた。以下、主なものを記す。

1) 光合成関連のパラメータの単純化によるエラー

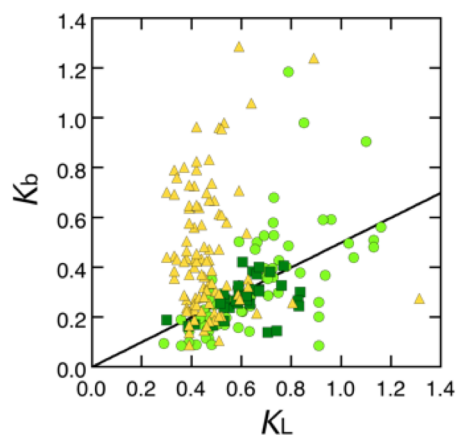


図 3. 窒素分配のメタ解析結果

K_b は葉窒素分配係数、 K_L は吸光係数を意味する。四角は木本植物群落、三角はコムギ群落、丸はコムギ以外の草本群落の値。実線はコムギを除いた群落に対する回帰直線。Hikosaka et al. (2016) より改変して転載。

- 2) 水分通導や気孔の制限の影響
- 3) 最上部の葉の形態や窒素含量に対する制限
- 4) 最下部の葉の形態や窒素含量に対する制限
- 5) 窒素転流のコスト
- 6) 被食の圧力
- 7) 隣接個体との競争
- 8) Coordination 説
- 9) 葉群ではなく個葉の光合成効率を最大にしている

これら仮説の多くは、「最適窒素分配理論では考慮していない制約があるため、植物は窒素分配を最適にできない」、あるいは、「何らかの制約を考慮すれば、現実の窒素分配こそが最適である」、と主張する(1~7)。残りの仮説は、葉群光合成ではなく別の何かを最適化していると主張する(8・9)。本稿では、紙面の都合によりこれらの仮説について説明をしない。詳細については Hikosaka⁴⁾ を参照していただきたい。

これらの仮説の多くは、一部の植物群落に見られる傾向を説明できるが、全ての植物の傾向を统一的に説明できるものではない。例えば、誰でも思いつくであろう窒素転流のコストについて考えてみよう。草本植物群落では新しい葉のほとんどは植物の最上部に展開し、若い葉は強い光を受けるが、葉齢を経るとともに光環境は悪くなっていく。これに伴って、窒素を古い葉から若い葉に再転流しているが、そのコストは窒素分配の最適性に影響する可能性がある。一方、成熟した木本植物群落(森林)では、若い葉は最初からそれぞれの位置で展開し、光環境はある程度固定されているので、葉の間では大規模な窒素再転流は起こっていないと考えられる。窒素の転流コストが大きな影響をもつならば、草本群落と木本群落の間に窒素勾配に違いがあると期待されるが、Hikosaka et al.¹²⁾ のメタ解析では大きな違いがなかった。このことは、窒素の転流コストが重要ではないことを示唆している。

なぜ実際の窒素分配は最適ではないのか、という問いは、今後も議論される重要な疑問であると考えられる。

5. おわりに

窒素分配理論が植物生態学で話題になった頃、筆者は学部生で、この問題に興味をもって植物生理生態の分野に飛びこんだ。院生の頃にはつる植物を水平に這わせることで、窒素分配に対して光や葉齢といった要因がどのような効果をもつかを解析した^{15,16)}。実は、筆者はその後この問題にあまり興味をもたなくなり、ごく最近まで自分の研究テーマとはしていなかった。その後葉群光合成に関する教科書¹⁷⁾を編集するなどの機会があり、窒素分配の問題に改めて向き合い、少なからぬ研究者が未だに「なぜ現実の植物の窒素分配が最適でないのか」という疑問に答えようとしていることに少し驚いた。「窒素分配が最適でないのか」に対する決定的な答えはまだない。メタ解析を行ってみると、多くの植物が共通のルールで窒素分配を決めているように思える。一方、コムギやタカナリのように例外的な種類も存在することが興味深い。これらの例外的な植物を調べることが疑問に答える鍵となるかもしれない。

タカナリは他種・他品種よりも急な窒素勾配をもち、実際に高収量を実現している。このことは、他種・他品種の窒素分配が、(他の制約を考慮しても)最適ではなく、改良の余地があることを示唆している。Hikosaka¹¹⁾ はシミュレーションを行い、窒素分配を急にすることによって、条件によっては葉群光合成速度を24%増加させ得ることを示している。葉間窒素分配はバイオマス増産にあたって改良可能なターゲットであると期待される。

Received May 30, 2017; Accepted June 23, 2017;

Published Aug 30, 2017

参考文献

1. Aerts, R. and Chapin, F.S. III (2000) The mineral nutrition of wild plants revisited: a re-evaluation of processes and patterns. *Adv. Ecol. Res.* 30, 1–67.
2. Hirose T, Werger MJA (1987b) Maximizing daily canopy photosynthesis with respect to the leaf nitrogen allocation pattern in the canopy. *Oecologia* 72, 520–526.

3. Field, C. (1983) Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* 56, 341–347.
4. Hikosaka, K. (2016) Optimality of nitrogen distribution among leaves in plant canopies. *J. Plant Res.* 129, 299–311.
5. Evans, J.R. (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia* 78, 9–19.
6. Hikosaka, K. (2004) Interspecific difference in the photosynthesis-nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *J. Plant Res.* 117, 481–494
7. Hirose, T. and Werger, M.J.A. (1987a) Nitrogen use efficiency in instantaneous and daily photosynthesis of leaves in the canopy of a *Solidago altissima* stand. *Physiol. Plant* 70, 215–222
8. Farquhar, G.D. (1989) Models of integrated photosynthesis of cells and leaves. *Phil. Trans. Roy. Soc. London B.* 323, 357–367
9. Anten, N.P.R., Schieving, F. and Werger, M.J.A. (1995) Patterns of light and nitrogen distribution in relation to whole canopy carbon gain in C₃ and C₄ mono- and dicotyledonous species. *Oecologia* 101, 504–513.
10. Monsi, M. and Saeki, T. (1953) Über den Lichtfaktor in den Pflanzengesellschaften und seine Bedeutung für die Stoffproduktion. *Jpn. J. Bot.* 14, 22–52.
11. Hikosaka, K. (2014) Optimal nitrogen distribution within a leaf canopy under direct and diffuse light. *Plant Cell Environ.* 9, 2077–2085.
12. Hikosaka, K., Anten, N.P.R., Borjigidai, A., Kamiyama, C., Sakai, H., Hasegawa, T., Oikawa, S., Iio, A., Watanabe, M., Koike, T., Nishina, K. and Ito, A. (2016) A meta-analysis of leaf nitrogen distribution within plant canopies. *Ann. Bot.* 118, 239–247.
13. Muryono, M., Chen, C.P., Sakai, H., Tokida, T., Hasegawa, T., Usui, Y., Nakamura, H. and Hikosaka, K. (2017) Nitrogen distribution in leaf canopies of a high-yielding rice (*Oryza sativa* L.) cultivar Takanari. *Crop Sci.*, in press.
14. Taylaran, R.D., Adachi, S., Ookawa, T., Usuda, H. and Hirasawa T. (2011) Hydraulic conductance as well as nitrogen accumulation plays a role in the higher rate of leaf photosynthesis of the most productive variety of rice in Japan. *J. Exp. Bot.* 62, 4067–4077.
15. Hikosaka, K., Terashima, I. and Katoh, S. (1994) Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the distribution of nitrogen among leaves of a vine (*Ipomoea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Oecologia* 97, 451–457.
16. Hikosaka, K. (1996) Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the organization of the photosynthetic apparatus in leaves of a vine (*Ipomoea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Planta* 198, 144–150.
17. Hikosaka, K., Niinemets, Ü. and Anten, N.P.R. (eds) (2016) Canopy Photosynthesis: From Basics to Applications. Springer, Berlin.

Optimality of leaf nitrogen distribution in plant canopies

Kouki Hikosaka

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

特別企画：若手研究者の海外留学レポート！

南仏ポスドク滞在記

CEA Cadarache

溝上 祐介

私は2015年7月よりポスドクとして Commissariat à l'énergie atomique (CEA) Cadarache というマルセイユから北に70キロほど離れた、南仏の研究所にてポスドクとして働いています。名前にあるように、原子力や代替エネルギーの研究を目的としたフランス政府の研究機関です。所属しているのは Institut de biosciences et biotechnologies (BIAM) というデパートメントで、細菌、微細藻類、植物を研究対象としており、特に光合成によるエネルギー変換、バイオフィューエル生産などの代替エネルギーとしての研究に力をいれています。このような応用的な研究以外にも、CEAにはフランス国立科学研究センター(CNRS)の研究員も多く所属しており、より基礎的な研究も行われています。BIAMには7つの研究室があり、100名ほどのパーマナント研究員と私を含む60名ほどの短期契約研究員や学生が働いています。私は Biologie Végétale et Microbiologie Environnementales (LEMP) という、植物の環境応答を分子生物学的、生理生態学的に研究する研究室に所属しています。LEMPにはパーマナントの研究者が7名、技術職員が4名、ポスドクが私を含め2名、学生が2名所属しています。CEAは積極的に学生の受け入れを行っているようですが、それでも大学機関と比べると学生の人数が少ないようです。

■現在のポジションを手にするまで

博士課程では東京大学 寺島一郎教授の元で、光合成の基質である CO_2 が葉内へどのように拡散し、その拡散抵抗がどのように環境応答するかということについて研究をしていました。現在は Bernard Genty 博士の元で働いています。主な研究テーマは葉の水ポテンシャルと気孔制御の関係を探ることです。他にも、非破壊的な葉の水分特性測定装置のセットアップや、大気中に微量に含まれ、光合成にも利用されている carbonyl sulfide (COS) の測定装置のセットアップと様々なプロジェクトに携わっています。

Genty 博士とは似たような分野に興味を持っていたため、国際学会で何回かお会いしていました。その際に、博士課程を終えて、ポスドクをするなら連絡をしてとの話があったため、コンタクトを取り、ポスドクポジションがあるということで、スカイプでの数回の面接を経て採用してもらいました。こちらの研究所では直接コンタクトをとってくる人を待っている研究者が多いようなので、積極的にメールなどでポジションの有無などを問い合わせると良さそうです。ポスドク仲間の状況を聞いていると、おおよそ3割くらいのポスドクが自分のフェローシップで働いており、私を含め、残りの7割はフランスやヨーロッパのプロジェクトで雇われています。

■研究所での1日

研究所は、まわりの街から少し離れたところにあるため、毎朝7時過ぎに1本しかない研究所行きのバスに乗り、研究所に8時過ぎに到着して1日が始まります。多くの人は朝、研究室でコーヒーを飲みながら研究のディスカッションをしたり、政治の話をしたりしてから仕事を始めているようです。昼食は研究所のレストランを利用している人が多く、研究員の立場により価格が異なるため、ポスドクや学生は値引きされ、かなり良心的な価格で昼食をとれます。料理もさまざまな種類があり、フランスらしいエスカルゴやカエルの料理などもたまに見かけます。原子力施設ということもあり、セキュリティ上の理由で19時半以降は特別な許可なくして研究所に滞在できないため、16時半または18時半のバスで帰宅します。私はこの時間的拘束を極力避けるために車で通勤していますが、数年後には時間的拘束をなくすため、原子力施設の敷地内から外に建物を移ることになっているようです。

■日本との違い

研究を進めているなかでとても印象深いのは、研究者同士の交流がかなり活発で、ディスカッションはコーヒータイム、廊下で立ち話といったところで行われていることです。これは国民性もあるかもしれませんが、意見のぶつかり合いが激しく、最初は何か喧嘩をしているのではないかと思うほどでした。もちろん喧嘩をしている時もありますが、みなさん平然としておられます。それほど自己主張をしないと意見を認めてもらえない雰囲気があります。意見交換に大切な言語ですが、フランス人同士以外の場合、多くの場合は英語が用いられるため、仕事上では言語に苦勞することはあまりありません。外部から研究者を招いてセミナーも開かれますが、多くの場合は英語です。

研究施設でとても印象深いのは植物の栽培管理、装置の開発等に特化した研究室があることです。例えば多くの研究者が用いるシロイヌナズナの栽培室の管理、栽培条件の設定などはこの研究室が請け負っています。また、この研究室はワークショップも含んでおり、新しい栽培装置や測定機器などの開発を研究者とともに進めています。物理分野出身のとても優秀なエンジニアの方々が所属しており、ユニークな研究をするために多くの研究者が利用しています。フランスの研究者たちと話をしていて少し問題に感じたのは、多くの研究者は大学機関でのパーマネントポジションがあっても、講義などを行いたくないので避けがちであるということです。話をよく聞くと、研究者としては教育に携わっていることをほとんど評価されないため、教育に時間をかけているなら評価される研究に時間をかけたいという人が多いからです。この点、学生の指導にとっても消極的、放任主義的な方もいるので博士課程をフランスで考えている方は注意した方が良いでしょう。

■その他

最後に、私は研究所から 30 キロほど離れた Aix-en-provence という街に住んでいます。画家ポール・セザンヌが生まれ育った街として知られ、学生も多く治安の良い街です。朝には市場が立ち並び、新鮮な野菜、チーズなどが並びます。ワインやオリーブオイルの農家も多く、企業とともにワインに用いるブドウなどの共同研究をしている研究者もいます。こちらでは研究者として働いていることを話すと、市場の農家の方やカフェの店員さんなどからとても色々な質問されます。研究所もアウトリーチ活動を積極的に行っており、一般の方々との接点も多くあるようですが、科学をとっても身近に感じている方が多いと思います。何よりも本当におしゃべり好きで、色々なことに関心を持つ国民性が大きいかもしれません。

以上、取り留めのない海外留学レポートでしたが、これから海外で研究生生活を送ることを考えている方のお役に少しでも立てればと思います。何かご質問などあればどうぞお気軽にご連絡ください。

(連絡先)

溝上祐介

CEA/CNRS/Université Aix Marseille, UMR 7265 Biologie Végétale et Microbiologie
Environnementales, 13108 Saint-Paul- lez-Durance, France
Yusuke.Mizokami@gmail.com



Aix en provence の街並み

報告記事

第8回 日本光合成学会（年会・公開シンポジウム）開催報告

大会企画委員長：杉浦 美羽

大会準備委員長：古本 強

第8回日本光合成学会（年会・公開シンポジウム）が、2017年5月27～28日に龍谷大学瀬田キャンパス（8号館および青志館）で行われました。瀬田キャンパスは平成元年に開設され、近年では2014年にこのキャンパス内に農学部が35年ぶりに開設されました。年会参加者は173名、ポスター発表82題、企業展示6件でした。参加者、ポスター発表ともに昨年度年会の東京理科大学（193名）より20名減少しましたが、会員が少ない関西での開催ということに鑑みれば順当な参加者数かと思えます。全国レベルの学会開催を宣伝の機会ととらえているのでしょうか、龍谷大学で開催される学会については各学部あたり年1件程度の学会開催では、会場費を無料ですだけでなく16万円の開催補助が付きまます。開催場所となった8号館は比較的新しい建物で、なかでも一番大きな会場（600名を収容可能）をシンポジウム会場としました。シンポジウム会場のまわりの回廊部分にポスターボードをたて、ポスター発表会場とシンポジウム会場が隣り合うようにしました。自然光の中でのポスター発表は、日中はよかったです。夕刻になると見にくくなりました。反省点です。

一日目には、杉浦さん（愛媛大学）がオーガナイザーとなり、近年原子レベルで明らかになってきた光化学系の構造解析結果をふまえ、「光合成の水の酸化機構と電子伝達」と題してシンポジウムが行われました。X線照射によるダメージを最小限におさえるために開発したX線自由レーザーを用いた構造解析の手法（秋田さん、岡山大学）や赤外分光法と理論研究を組み合わせで解析した水の酸化反応機構（中村さん、名古屋大学）、進化の観点からタンパク質構造を眺める研究（伊福さん、京都大学）など、新進気鋭の若手研究者による講演が行われました。それぞれ最新の結果をベースにした研究成果であり、未解明な部分に触れるスタイルであったために、聴衆の関心を大いに引き出す興味深い内容でした。

二日目のシンポジウムは古本（龍谷大学）がオーガナイザーとなり「変動する光量への光合成機能の調節」と題して行われました。教科書には一定の光量での生理解析結果が示されることが多いのですが、自然界では「一定の光量」はあり得ない条件です。変動する光量に植物の光合成機能がどう応答するのかについて、矢守さん（東大）、吉田さん（東工大）、谷口さん（関西学院大）らにより講演が行われました。生理・生態学、生化学、分子進化と異なる観点からの光量変動へのアプローチは環境応答への生物の幅広さと奥深さを感じさせる内容でした。

懇親会では滋賀の地酒・農学部学生の育てたお米でつくった赤飯とお寿司が振る舞われました。贅沢さを廃し食べ残しがないようにしたつもりです。宴もたけなわな頃、村田先生からお言葉をいただき、光合成分野からノーベル賞受賞者を出そうという熱いメッセージを頂きました。

企画委員長の杉浦さんの発案によりポスター発表を二日間に分け、奇数と偶数とで議論する日時を分けました。二日目にはサンドイッチを提供し、食べながらも熱心に議論する姿が見られました。ポスター会場内に休憩コーナーを設け、また企業展示とも隣接させ、互いに行き来することにより各所で熱い議論が行われました。両日とも参加者は熱心に議論していました。ポスター投票の結果、大平彩花氏、横野牧生氏、藤本恵氏、大井崇生氏、伊藤綾花氏がポスター賞を受賞しました。

来年の年会は東北大学の牧野先生と宮尾先生を世話人として、来年の5月26日（土）～27日（日）の日程で東北大学青葉山新キャンパスにて開催の予定です。従来は金～土で開催されていたことが多かった本年会ですが、大学での講義室を利用した開催については授業期間を外す必要があります。来年も土日の開催になるのでご注意ください。



写真1 シンポジウム講演の様子

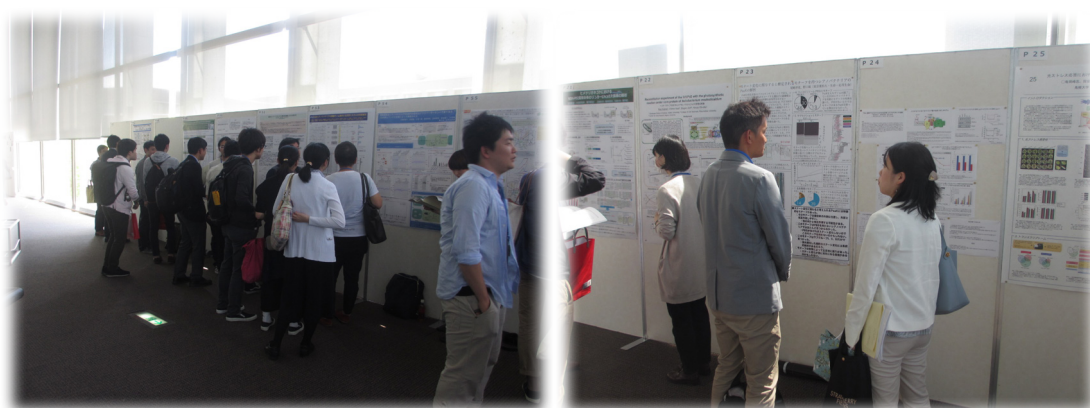


写真2 ポスター発表会場の様子



写真3 ポスター賞受賞者

(古本 強 記)

報告記事

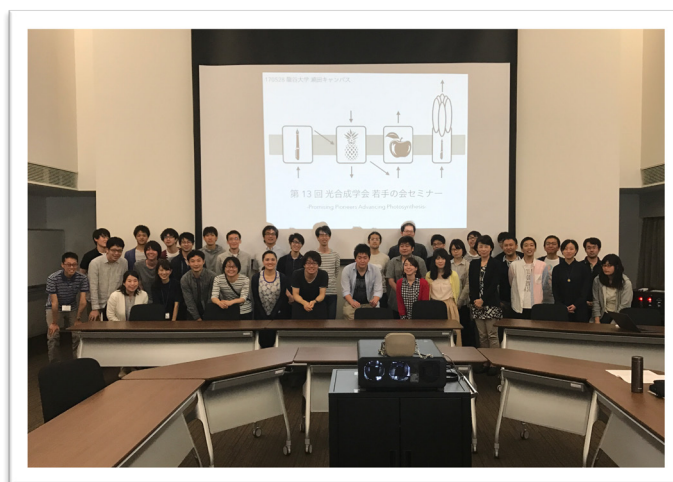
第 13 回若手の会セミナー開催報告

岡山大学・ウィスコンシン大学マディソン校
横山 諒

龍谷大学にて行われた光合成学会年会終了後より、若手の会による第 13 回セミナー -Promising Pioneers Advancing Photosynthesis- を開催しました。本セミナーから幹事を一新した新体制として臨み、様々な不安等ありましたが、年会準備をしてくださった龍谷大学の古本強先生のご協力もあり、無事にセミナーを開催することができました。

今回のセミナーでは 2 名の演者の方に講演をお願いしました。1 人目は京都大学生態学研究センターの才木真太郎さんで、「野外樹木の土壌乾燥に対する水分生理応答 ～水利用戦略から考える最適な光合成の仕方とは?～」と題した講演をしていただきました。本学会は光合成生物のミクロな側面を研究している方が多いですが、才木さんは小笠原諸島での野外フィールド調査を主体としたマクロな研究をされています。乾燥は、光合成を始めとした植物の生理現象を律速する要因であり、植物は乾燥に対して強くなるか（乾燥耐性型）、乾燥の影響を柔軟に回避するか（乾燥回避型）の戦略を取り得ます。才木さんは小笠原諸島の乾燥林で調査を行い、耐性型と回避型の種が存在し、葉や枝に投資する炭素コストが種によって異なっていることを発見しました。質疑応答では、葉の光合成活性も種によって異なるのか議論が行われました。2 人目は、「特別企画 PI に聞いてみよう!」と題して、立命館大学の寺内一姫先生に研究のお話だけではなく、PI になる際の苦労話やアドバイス、日々の研究室運営で大切にされていることを率直にお話してくださいました。特に、「人との繋がり」や「同業者からの評判」が、教員を採用する側になった時に改めて重要であると認識されたお話は、今後若手が就職活動をする際に心得ておくべきものでした。また質疑応答でも、夫婦が共に研究者の場合にどのようにすべきかアドバイスを頂き、普段なかなか聞くことのできない話題に参加者は耳を傾けていました。

今回のセミナーで演者の方や企画を決める際に重視したのは「若手の会だからこそ、今回のセミナーだからこそ、できる企画を」という方針です。才木さんには普段触れる機会の少ないマクロな研究のお話、寺内先生には今後 PI を目指す上でとても参考になるお話をしていただきました。なお特別企画「PI に聞いてみよう!」は今後も年一回のペースで継続していきたいと考えています。今後も、単なる光合成学会本会の延長線上ではなく、若手の会だからこそできる企画を発信していきます。



報告記事

第1回光合成蛋白質の構造情報利用講習会開催報告

大阪大学蛋白質研究所
栗栖 源嗣

光化学系をはじめとする光合成タンパク質の多くは、X線結晶解析により詳細な構造情報が提供されています。構造解析の結果得られた原子座標は、全て Protein Data Bank (PDB, <https://pdb.org>) と呼ばれるデータベースに登録されていますが、結晶学的な取り扱いや分子構造を表示するソフトに慣れていないため、論文にあるような綺麗な図を描画したり、詳細な情報を抽出したりするのは専門家以外には依然として敷居が高いという声もよく聞きます。

例えば、好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* が持つ光化学系 I の結晶構造 (PDB ID:1JB0) は、本来であれば三量体を形成していますが、PDB にはモノマーの構造が登録されています。機能的に二量体で機能するシトクロム *b_f* 複合体も、*Nostoc* sp. PCC7120 (PDB ID:4OGQ) や *Chlamydomonas reinhardtii* の構造 (PDB ID:1Q90) はモノマーが PDB に登録されています。これらは結晶の対称操作の関係で、モノマー単位で構造計算をする必要があるからそうなっているのです。分子構造表示ソフトを用いて生理的に意味のある構造を表示するには、PDB の検索をする際に少し留意する必要があるため、専門的知識がなければその意味を理解しにくいと思われまます。

こうした会員の声に応えるため、光合成学会主催で構造情報利用講習会を企画しました。新学術領域「新光合成」と、大阪大学蛋白質研究所さらに Protein Data Bank Japan との共催で、2017年7月8日(土)に蛋白質研究所の講堂において以下のプログラムで講習を行いました。講師には、専門家が参照することも多い BioKids Wiki (<http://biokids.org>) という構造生物学 web サイトを運営しておられる岡崎伸生博士 (CROSS 東海) にお越し頂き、構造表示ソフト PyMol のインストールと利用について初心者向けに講習して頂きました。

プログラム :

13:00-13:10 趣旨説明 (高橋裕一郎)

13:10-14:00 PDB の特徴と X線構造について簡単な説明 (栗栖源嗣)

14:00-15:15 PyMol インストール, 検索 (岡崎伸生)

休憩

15:45-17:00 表示, 動画, ppt 作成などなど (岡崎伸生)

17:00-17:30 質問コーナー

ラップトップ PC を各自に持参して頂き、OS を Windows10 と MacOS10.12 に限定させて頂いたにも関わらず、講習会には 13 名の参加申し込みがありました (写真参照)。オープンソースのフリー版 PyMol をインストールするため、インターネット環境の点からも適切な参加者数であったと思います。

講習会の冒頭に高橋会長から趣旨説明が行われた後に、筆者が PDB データの特徴を簡単に解説しました。引き続き、Protein Data Bank Japan の検索ページ (<https://pdbj.org>) を用いた検索の実例を示すと共に、生物学的ユニット (上述の PSI 三量体や *b_f* 複合体のダイマー構造) のデータをどのようにして入手するかについて、デモンストレーションを行いました。講師

の岡崎先生には、フリー版 PyMol のインストールから PyMol を使った動画の作成方法や特定の残基のラベル法などを丁寧にご指導頂きました。最終的に全ての参加者がフリー版 PyMol を各自の PC にインストールして帰って頂くことができました。

今回は第一回の講習会でしたが、PyMol をインストールする際に必要な Xcode や Java などのツール類の導入に時間が掛かってしまいました。「PyMol のインストール」と「3D 構造表示, 動画, ppt 作成」は別の講習として企画するべきであったと思っています。次回以降は、受講生に事前準備して頂ける部分は事前に連絡し、より効率的な講習会が企画できればと思います。関東を始め、その他地区でも講習会を開催可能ですので、ご希望がありましたら栗栖までご連絡下さい。



講習に参加された皆さん

報告記事

第 73 回 藤原セミナー “International Conference “Molecular Life of Diatoms” を開催して

松田 祐介（関西学院大学）

去る 7 月 9～13 日、神戸市中央区の生田神社会館にて、国際コンファレンス“Molecular Life of Diatoms”が開催された。本会議は、珪藻類の分子レベルの研究を手がける世界の研究者が一堂に集う、数少ない国際会議の場となった。珪藻は 1997 年に人工衛星によるリモートセンシングをベースとした海洋生産力の再評価がなされて以降、地球上の最も重要な一次生産者としての地位を確立した。その後数種の珪藻ゲノム情報も共有され、その分子研究は現在、海洋学、生態学、および植物細胞生物・生理学にまたがる境界領域を形成しつつある。また、珪藻はその精緻な被殻構造からケイ酸材料源として、或いは油脂化合物源としても注目を浴びている極めてユニークな工学研究対象でもある。研究人口は欧米を中心として、過去 10 年ほどの間に急速に増加している。本分野の研究が活発化する中で、世界の分子珪藻研究者が集う会議としては、本会議は欧米以外で初めて開催されるものである。



本会議の準備は 2 年前の秋あたりから着手した。招待講演者の選定、会議の構成、旅費補助の設定、宿泊施設の確保などなど、国際準備委員を選任して上記の骨格を合議した。国際準備委員の面々は様々な意見を忌憚なくぶつけ合うため、調整に難航する事もしばしばあった。お互いの出張の機にイタリア、ドイツ、京都、および東京などに私も足を伸ばし、直接の話し合いを重ねながら、1 年前には会議の骨格と参加申し込みのスケジュールを概ね作り上げた。その頃大きな転機となる出来事があった。応募していた第 73 回藤原セミナーに本会議が採択されたのである。ちょうどドイツに滞在して経費をどう捻出しようかと頭を悩ませていた矢先の朗報だった。早朝メールを確認し、時差ぼけの頭が一気に覚醒したのを思い出す。

開催日までにはちょうど梅雨も明け、心配していた台風も一週間前に小さいのが一つ通り過ぎてくれた。夏の初めの絶好のコンディションで会議を迎えることとなった。参加者は約 170 名、その内訳は日本を含め 18 カ国（日本 39%、その他アジア 19%、欧州 29%、北米 13%）、女性参加者約 40%、若手研究者約 60%という内容で、国際色が豊かでバランスの良く取れた参加者構成となっている。また、会議の特集号が *Perspectives in Phycology (PiP)* というオンライン英文総説誌で組まれることとなった。9 日初日はレセプションのみで会議本体は 10 日からの 4 日間行われた。内容構成は、招待講演 15 演題、口頭発表 45 演題、ポスター発表 67 件である。

初日にまず、本会議の母体である藤原科学財団の沿革をビデオ上映し、岩瀬広徳専務理事から冒頭の挨拶を頂いた。藤原セミナーの採択は年間わずか 2 テーマの狭き門であり、長い歴史を持つ本邦財団からの大変な名誉を、参加者全員があらためて万雷の拍手で受け止めた次第である。続いて 2 題の基調講演として、現在新学術領域「新光合成」の代表である基礎生物学研究所の皆川先生および UC サンタクルーズの Jonathan Zehr 氏からそれぞれ “Dissipation of excess light energy for photosynthesis in microalgae” および “Single-celled symbiosis in diatoms and haptophytes: implications for biology, evolution and ecology” という演題で頂いた。葉緑体内の光エネルギー最適化分子機構から海洋環境で窒素同化作



用をハブとして成立する微生物共生の分子機構まで、本会議を展望するに相応しい素晴らしい講演だった。その他の講演のそれぞれについてつまびらかにする紙面の余裕はないが、大きな分野の流れとして、CRISPR/CAS や TALEN 等、ゲノム編集の成功実施例がどんどん増えていることが印象的であった。また、11 日のなか締めには藤原科学財団の選考理事である関谷剛男博士から本会議に対する暖かいリマークを頂いた。最終日は我々国際準備委員が腐心して構成した最終セッション”Genomics and Molecular tools for future MLD”を行った。このセッ

ションではもう一つのキーワードである海洋メタオミックスの講演が幾つかなされた。欧州で主に進められている TARA プロジェクトの表層海洋メタゲノムデータから目に見えない海洋微生物の相互関係の一端が示された。また最終講演では珪藻分子研究のまとめ役とも言えるワシントン大 Virginia Armbrust 氏から “Uncovering the hidden worlds of marine diatoms” という演題でこの分野の研究のこれまでと今後の語られ、その意義そして何よりも若手研究者への激励がメッセージとして伝わったと思う。

さて、初日のレセプション、毎晩のポスターセッションでは、兵庫県以外では手に入りにくい日本酒や甲州産の日本ワインを買い集めて振る舞い、少なくとも一部から大変好評を頂いた。特に白ワインはあっという間になくなってしまい、黄色香という酸化に弱い仄かな柑橘系の香りを醸す甲州種ワインのレベルの高さをあらためて証明したようである。筆者を含め、ここで気分の良くなった参加者達は、連れ立って三宮の夜に消えていった。また、12 日の夜はバンケットを開催した。生田神社会館は結婚式場であるため、料理も得意である。バンケットでは国際準備委員による、まるでコントのようにタイミングを外した鏡割りで杯を傾け、実演料理を含めた 28 品目の豪華な食事で盛り上がった。多くの方々からこんな豪華なバンケットはなかなかお目にかかれぬとお言葉を頂き、主催者として大変うれしく思った。バンケットの後には神社の隣にあるクラブ月世界という、NHK の朝ドラ「べっぴんさん」のロケ地にもなった旧大型キャバレー現イベントホールを借り切り、ポスター賞とトラベル賞の発表セレモニーを行った。トラベル賞は全ての応募者（演題発表者のみ）41 名に与えられた。ベストポスター賞は、内容＋発表態度に対する厳正な審査の結果、Robert Lampe (ノースカロライナ大); Liangliang Kong (マギル大); Valeria Sabatino (アントンドーン海洋生物研究所); 大久保亮介 (関西学院大); Damian Pawolski (ドレスデン工科大) の 5 名の若手に与えられた。この“月世界セレモニー”には生バンドお呼びして、深夜まで熱く盛り上げて頂いた。本会議のもう一つの白眉として参加者の思い出に刻まれることを願っている。

最後になるが、本会議を支えて頂いた藤原科学財団、寄付や協賛を頂いた企業、生田神社会館、クラブ月世界、そして松田研究室のメンバーに紙面を借りてお心よりお礼を申し上げたい。



関西学院大学 松田祐介 (<http://sci-tech.ksc.kwansei.ac.jp/~matsuda/MLD4/>)

報告記事

13th International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors of Photosynthetic Organisms 参加報告

立命館大学大学院 生命科学研究所
寺村 美里

2017年7月9日から13日にかけてアメリカのシカゴで13th International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors of Photosynthetic Organisms (ICTPPO) が開催されました。日本人の参加者は私を含めて7名でした。全体の参加者も80人程の規模でしたが、著名な先生方も多く来られ、終始とても良い雰囲気の学会でした。

会議は朝から夕食後まで口頭発表のセッションがあり、その後も夜遅くまでポスターセッションと、なかなか充実したプログラムでした。セッションは Diversity of photoreceptors in photosynthetic organisms、Structures and functions of light-harvesting and photosynthetic complexes、New methods, systems and concepts、Applications of tetrapyrrole-based systems、Structures and functions of signaling photoreceptors、Biosynthesis, metabolism and catabolism of tetrapyrrole pigments、Ultrafast dynamics and molecular mechanisms に加えて若手研究者による Rising stars in young investigators に分かれていましたが、全体的に開環テトラピロールに関するものが多かった印象を受けました。特に Biosynthesis, metabolism and catabolism of tetrapyrrole pigments のセッションでは、研究分野が自分と非常に近い発表が多くあり、今後の研究を進めていくヒントや、良い刺激を得ることができました。また、学会直前にプログラムの変更があり、当初ポスター発表のみの予定だったところ、急遽（出国4日前）口頭発表の機会を頂きました。発表前は準備に大慌てでしたが、国際学会での初めての口頭発表は貴重な経験となりました。とても緊張していた私に、暖かいお心遣いをいただきました参加者のみなさまにはこの場を借りてお礼申し上げます。発表内容の一部は光合成研究第26巻第3号（2016年12月）の研究紹介として掲載していただいていますので、ご一読いただければ幸いです。

3日目のエクスカージョンでは、リバークルーズでシカゴ市内の建築物を見て回りました。その後、約5時間の自由行動の時間があつたので、他の参加者の方々とシカゴ市内を一望できる展望台にご一緒させていただきました。夕食はシカゴ大学の学生お勧めのレストランで大迫力のシカゴピザを囲みながら、シカゴの地ビールをいただきました。振り返ってみると5時間はあつという間で、学術的なこと、その他のことをたくさんお話し、楽しく過ごすことができました。

最終日のパーティーでは、世界の地域対抗けん玉大会も行われ、とても盛り上がりました。2007年に京都で開催されたICTPPOから始まったものが恒例化されていると聞きました。その後も夜遅くまでお酒を飲みながらお話ししたり、踊ったり、みなさん学会の閉会を惜しまれていました。

個人としましては、学会期中は様々な面で勉強させていただき、有意義な時間を過ごすことができとても満足しています。次回のICTPPOは2年後の2019年にシドニーで開催されるとのことですので、興味のある方は是非参加を検討されてみてはいかがでしょうか。



パーティーでのけん玉大会の様子

最後になりましたが、本稿を執筆する機会を与えて頂きました成川礼先生を初め、お世話になりました参加者のみなさまにこの場をお借りして感謝申し上げます。



学会参加者の集合写真

集会案内

第33回(2017)京都賞記念ワークショップ基礎科学部門シンポジウム

「植物の生き方を知り地球環境の変化を予測する」

日時：2017年11月12日(日) 13:00~16:50

場所：国立京都国際会館

企画・司会 巖佐 庸 [九州大学 大学院理学研究院 教授]

- 13:00 開会挨拶 巖佐 庸
- 13:05 受賞者紹介 北島 薫 [京都大学 大学院農学研究科 教授]
- 13:20 受賞者講演 Graham Farquhar [基礎科学部門 受賞者]
"Using simple mathematics to explore the plant-atmosphere exchange of carbon dioxide, oxygen and water vapour". (仮)
- 14:25 講演 寺島 一郎 [東京大学 大学院理学系研究科 教授]
「光合成メカニズムの研究展開」(仮)
- 14:55 休憩
- 15:15 講演 半場 祐子 [京都工芸繊維大学 応用生物学系 教授]
「植物生理生態学における炭素安定同位体の利用」
- 15:45 講演 伊勢 武史 [京都大学 フィールド科学教育研究センター 准教授]
「生態系の変化をシミュレータで予測する」
- 16:15 講演 佐竹 暁子 [九州大学 大学院理学研究院 准教授]
「植物の開花結実の季節変化を遺伝子から予測する」(仮)
- 16:50 閉会

主催：公益財団法人 稲盛財団

後援：京都府、京都市、NHK

協賛(予定)：日本光合成学会、個体群生態学会、種生物学会、日本作物学会、日本植物学会、日本植物生理学会、日本数理生物学会、日本生態学会、日本地球惑星科学連合

問い合わせ先：稲盛財団事務局 TEL 075-353-7272

URL：www.inamori-f.or.jp

注) 参加には申込が必要です。詳細は上記 URL にてお知らせいたします。

事務局からのお知らせ

★入会案内

本会へ入会を希望される方は、会費（個人会員年会費：¥1,500、賛助法人会員年会費：¥50,000）を郵便振替（加入者名：日本光合成学会、口座番号：00140-3-730290）あるいは銀行振込（ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290 名前：ニホンコウゴウセイガクカイ）にて送金の上、次ページの申し込み用紙、または電子メールにて、氏名、所属、住所、電話番号、ファックス番号、電子メールアドレス、入会希望年を事務局までお知らせください。

★会費納入のお願い

学会の運営は、皆様に納めていただいております年会費によりまかなわれております。当該年度の会費が未納の場合、光合成研究が送られてくる封筒に、会費未納が印字されています。ご都合のつくときに、会費を納入ください。1年間会費を滞納された場合、次年度よりお名前が会員名簿から削除され、光合成研究は届かなくなります。再入会される場合は、未納の分もあわせてお支払いいただきます。会費納入状況などにつきましては、ご遠慮なく事務局（sonoike@waseda.jp）までお問い合わせください。会員の皆様のご理解とご協力をお願い申し上げます。

日本光合成学会会員入会申込書

平成 年 月 日

日本光合成学会御中

私は日本光合成学会の趣旨に賛同し、平成 年より会員として入会を申し込みます。

内に会員名簿上での公開承諾項目に○印をつけてください

氏名（漢字）（必須）

氏名（ひらがな）

氏名（ローマ字）

所属

住所 1

〒

住所 2（自宅の方または会誌送付先が所属と異なる場合にのみ記入）

〒

TEL1

TEL2（必要な方のみ記入）

FAX

E-mail

個人会員年会費 1,500 円（会誌、研究会、ワークショップなどの案内を含む）

賛助法人会員年会費 50,000 円（上記と会誌への広告料を含む）

（振込予定日：平成 年 月 日）（会員資格は1月1日～12月31日を単位とします）

* 複数年分の会費を先払いで振り込むことも可能です。その場合、通信欄に（何年度～何年度分）とお書き下さい。

連絡先

〒700-8530 岡山県岡山市北区津島中 3-1-1

岡山大学 異分野基礎科学研究所

高橋裕一郎 研究室内

日本光合成学会

TEL : 086-251-7861

FAX : 086-251-7876

ホームページ: <http://photosyn.jp>

郵便振替口座 加入者名：日本光合成学会 口座番号：00140-3-730290

銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキョウと入力)、当座、0730290

名前：ニホンコウゴウセイガッカイ

日本光合成学会会則

第1条 名称

本会は日本光合成学会（The Japanese Society of Photosynthesis Research）と称する。

第2条 目的

本会は光合成の基礎および応用分野の研究発展を促進し、研究者相互の交流を深めることを目的とする。

第3条 事業

本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催などの事業を行う。

第4条 会員

1. 定義

本会の目的に賛同する個人は、登録手続を経て会員になることができる。また、団体、機関は、賛助会員になることができる。

2. 権利

会員および賛助会員は、本会の通信および刊行物の配布を受けること、本会の主催する行事に参加することができる。会員は、会長を選挙すること、役員に選出されることことができる。

3. 会費

会員および賛助会員は本会の定めた年会費を納めなければならない。

第5条 組織および運営

1. 役員

本会の運営のため、役員として会長1名、事務局長1名、会計監査1名、常任幹事若干名をおく。役員の任期は2年とする。会長、常任幹事は連続して二期を越えて再任されない。事務局長は五期を越えて再任されない。会計監査は再任されない。

2. 幹事

幹事数名をおく。幹事の任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

3. 常任幹事会

常任幹事会は会長と常任幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。常任幹事会は本会の運営に係わる事項を審議し、これを幹事会に提案する。事務局長と会計監査は、オブザーバーとして常任幹事会に出席することができる。

4. 幹事会

幹事会は役員と幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。幹事会は、常任幹事会が提案した本会の運営に係わる事項等を審議し、これを決定する。

5. 事務局

事務局をおき、事務局長がこれを運営する。事務局は、本会の会計事務および名簿管理を行う。

6. 役員および幹事の選出

会長は会員の直接選挙により会員から選出される。事務局長、会計監査、常任幹事は会長が幹事の中から指名し、委嘱する。幹事は常任幹事会によって推薦され、幹事会で決定される。会員は幹事を常任幹事会に推薦することができる。

第6条 総会

1. 総会は会長が招集し、出席会員をもって構成する。議長は出席会員から選出される。

2. 幹事会は総会において次の事項を報告する。

1) 前回の総会以後に幹事会で議決した事項

2) 前年度の事業経過

3) 当年度および来年度の事業計画

3. 幹事会は総会において次の事項を報告あるいは提案し、承認を受ける。

- 1) 会計に係わる事項
- 2) 会則の変更
- 3) その他の重要事項

第7条 会計

本会の会計年度は1月1日から12月31日までとする。当該年度の経理状況は、総会に報告され、その承認を受ける。経理は、会計監査によって監査される。本会の経費は、会費および寄付金による。

付則

第1 年会費は個人会員1,500円、賛助会員一口50,000円とする。

第2 本会則は、平成14年6月1日から施行する。

第3 本会則施行後第一期の会長、事務局長、常任幹事にはそれぞれ、第5条に定める規定にかかわらず、平成14年5月31日現在の会長、事務局担当幹事、幹事が再任する。本会則施行後第一期の役員および幹事の任期は、平成14年12月31日までとする。

第4 本会則の改正を平成21年6月1日から施行する。

日本光合成学会の役員選出に関する申し合わせ

平成27年5月27日 幹事会

1. 選挙管理委員会

本会の選挙を公正に実施するため、選挙管理委員会を置く。選挙管理委員2名は常任幹事会が幹事会に推薦し、決定する。選挙管理委員の互選により委員長を選出する。

2. 会長〔会則第5条第6項〕

1) 幹事および常任幹事による若干名の候補者の推薦方法

幹事は、会長選挙に推薦する候補者としてふさわしい会員を3名連記で投票する。投票結果が上位の会員について、常任幹事会は、本人の意向を確認した上で、若干名を推薦候補者として決定する。選挙事務は事務局長が執り行う。

2) 会長選挙

会長選挙の実施に当たっては、会員に推薦候補者を提示し、全会員による単記無記名投票を実施する。最高得票者を、次期会長とする。得票数が同数の場合は、抽選により決定する。選挙事務は選挙管理委員会が執り行う。

日本光合成学会の運営に関する申し合わせ

1. 幹事会

幹事は光合成及びその関連分野の研究を行うグループの主催者である等、日本の光合成研究の発展に顕著な貢献をしている研究者とする。任期は4年とするが、原則として再任されるものとする。

2. 事務局

事務局長の任期は2年とするが、本会の運営を円滑に行うため、約5期(10年)を目途に再任されることが望ましい。

3. 次期会長

会長の引き継ぎを円滑に行うため、次期会長の選挙は任期の1年前に行う。

4. 常任幹事会

常任幹事会の運営を円滑におこなうため、次期会長は常任幹事となる。

幹事会名簿

秋本誠志	神戸大学大学院理学研究科	高橋裕一郎	岡山大学異分野基礎科学研究所
栗井光一郎	静岡大学大学院理学領域	田中 歩	北海道大学低温科学研究所
池内昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	田中 寛	東京工業大学資源化学研究所
石北 央	東京大学大学院工学研究科	田中亮一	北海道大学低温科学研究所
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	民秋 均	立命館大学総合理工学院
伊藤 繁	名古屋大学	都筑幹夫	東京薬科大学生命科学部
井上和仁	神奈川大学理学部	出羽毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
伊福健太郎	京都大学大学院生命科学研究科	寺島一郎	東京大学大学院理学系研究科
榎並 勲	東京理科大学	輅 達也	東京理科大学理学部
得平茂樹	首都大学東京大学院理工学研究科	仲本 準	埼玉大学大学院理工学研究科
遠藤 剛	京都大学大学院生命科学研究科	永島賢治	神奈川大学
大岡宏造	大阪大学大学院理学研究科	成川 礼	静岡大学大学院理学研究科
太田啓之	東京工業大学	南後 守	大阪市立大学大学院理学研究科
	バイオ研究基盤支援総合センター	西田生郎	埼玉大学大学院理工学研究科
大友征宇	茨城大学理学部	西山佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
大政謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科	野口 航	東京薬科大学生命科学部
小川健一	岡山県農林水産総合センター	野口 巧	名古屋大学理学研究科
	生物科学研究所	長谷俊治	大阪大学蛋白質研究所
小俣達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	林 秀則	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
垣谷俊昭	名古屋大学	原登志彦	北海道大学低温科学研究所
菓子野康浩	兵庫県立大学理工学部	彦坂幸毅	東北大学大学院生命科学研究科
柏山祐一郎	福井工業大学環境情報学部	久堀 徹	東京工業大学研究院化学生命科学研究科
金井龍二	埼玉大学	日原由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
神谷信夫	大阪市立大学複合先端研究機構	福澤秀哉	京都大学大学院生命科学研究科
熊崎茂一	京都大学大学院理学研究科	藤田祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
栗栖源嗣	大阪大学蛋白質研究所	古本 強	龍谷大学農学部
小池裕幸	中央大学理工学部	前 忠彦	東北大学
小林正美	筑波大学大学院数理物質科学研究科	牧野 周	東北大学大学院農学研究科
坂本 亘	岡山大学資源生物科学研究科	増田真二	東京工業大学
佐賀佳央	近畿大学理工学理学部		バイオ研究基盤支援総合センター
櫻井英博	早稲田大学	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
佐藤公行	岡山大学	松浦克美	首都大学東京都市教養学部
佐藤直樹	東京大学大学院総合文化研究科	松田祐介	関西学院大学理工学部
佐藤文彦	京都大学大学院生命科学研究科	真野純一	山口大学農学部
鹿内利治	京都大学大学院理学研究科	皆川 純	基礎生物学研究所
重岡 成	近畿大学農学部	宮尾光恵	東北大学大学院農学研究科
篠崎一雄	理化学研究所植物科学研究センター	宮下英明	京都大学大学院地球環境学堂
嶋田敬三	首都大学東京	宗景(中島)ゆり	関西学院大学理工学部
白岩義博	筑波大学生物科学系	村田紀夫	基礎生物学研究所
沈 建仁	岡山大学異分野基礎科学研究所	本橋 健	京都産業大学総合生命科学部
杉浦昌弘	名古屋市立大学	矢守 航*	東京大学大学院理学系研究科
	大学院システム自然科学研究科	横田明穂	奈良先端科学技術大学院大学
杉浦美羽	愛媛大学プロテオサイエンスセンター		バイオサイエンス研究科
杉田 護	名古屋大学遺伝子実験施設	和田 元	東京大学大学院総合文化研究科
杉山達夫	名古屋大学		
鈴木祥弘	神奈川大学理学部		
園池公毅	早稲田大学教育学部		
高市真一	東京農業大学生命科学部		

*2017年度より新任

編集後記

今年の夏は、空梅雨から一転して豪雨、そして猛暑と異常な天候が続きますが、皆様いかがお過ごしでしょうか。真夏の炎天下の中で育つ作物を見るにつけ、光合成装置が軋む音が聞こえてきそうに思いつつ、分子レベルの知見を様々な現場にどう生かすか、日々考えさせられます。今号では、東京大の矢守さんに「植物のバイオマス生産能力の強化に向けた取り組み」という特集記事を組んで頂きました。応用志向の大型プロジェクトに関わられた皆様のご苦勞が伝わってきます。また、今号から新しく、若手の会からの特別企画として、フランスに留学されている溝上さんから現地の研究環境に関するレポートを頂きました。これからも海外でご活躍される若手からのお便りを紹介していきたいと思います。

今号に関するご意見や本誌に対するご要望がございましたら、私までご連絡ください。また、研究紹介や解説などの記事を随時受け付けておりますので、ぜひご投稿ください。

(お詫びと訂正)

4月号の二井さん、菅さんの記事につきまして、編集過程で参考文献リストの番号がずれておりました。それぞれ、リストの最初の文献を1番目として読み替えをお願いいたします。著者ならびに読者の皆様に謹んでお詫びいたしますとともに、ここに訂正いたします。

編集長・伊福 健太郎 (京都大学)

記事募集

日本光合成学会では、会誌に掲載する記事を会員の皆様より募集しています。募集する記事の項目は以下の通りです。

- トピックス：光合成及び関連分野での纏まりのよいトピックス的な記事。
- 解説：光合成に関連するテーマでの解説記事。
- 研究紹介：最近の研究結果の紹介。特に、若手、博士研究員の方からの投稿を期待しています。
- 集会案内：研究会、セミナー等の案内。
- 求人：博士研究員、専門技術員等の募集記事。
- 新刊図書：光合成関係、または会員が執筆・編集した新刊図書の紹介。書評も歓迎します。

記事の掲載を希望される方は、編集長の伊福 (ifuku@kais.kyoto-u.ac.jp) までご連絡ください。

「光合成研究」編集委員会

編集長 伊福 健太郎 (京都大学)
編集委員 粟井 光一郎 (静岡大学)
編集委員 成川 礼 (静岡大学)
編集委員 矢守 航 (東京大学)

日本光合成学会 2017年度役員

会長 高橋 裕一郎 (岡山大学)
事務局長 園池 公毅 (早稲田大学)

常任幹事 田中 歩 (北海道大学) 前会長
常任幹事 鹿内 利治 (京都大学) 前事務局長
常任幹事 松田 祐介 (関西学院大学) 年会 2015年
常任幹事 柏山 祐一郎 (福井工業大学) 年会 2016年
常任幹事 杉浦 美羽 (愛媛大学) 年会 2017年
常任幹事 古本 強 (龍谷大学) 年会 2017年
常任幹事 牧野 周 (東北大学) 年会 2018年
常任幹事 宮尾 光恵 (東北大学) 年会 2018年
常任幹事 榎 達也 (東京理科大学) 光生物学協会
常任幹事 石北 央 (東京大学)
常任幹事 伊福 健太郎 (京都大学) 編集長

会計監査 藤田 祐一 (名古屋大学)
ホームページ 加藤 裕介 (岡山大学)

光合成研究 第27巻 第2号 (通巻79号) 2017年8月30日発行

日本光合成学会

〒700-8530 岡山県岡山市北区津島中 3-1-1

岡山大学 異分野基礎科学研究所

高橋 裕一郎 研究室内

TEL : 086-251-7861

FAX : 086-251-7876

e-mail : jspr@photosyn.jp

ホームページ : <http://photosyn.jp/>

郵便振替口座 加入者名 : 日本光合成学会 口座番号 : 00140-3-730290

銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店 (ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290

名前 : ニホンコウゴウセイガッカイ
