

光合成研究

第28巻 第1号 (通巻81号) 2018年4月
NEWS LETTER Vol. 28 NO. 1 April 2018

THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

集会案内	第9回日本光合成学会年会・公開シンポジウム開催のお知らせ	3
トピックス	光化学系I三量体-フェレドキシン複合体のX線結晶構造 河合 (久保田) 寿子, 栗栖 源嗣 (大阪大 他)	5
解説	微細藻類における脂質顆粒葉緑体局在説をめぐって 佐藤 直樹 (東京大)	6
研究紹介	緑色植物のPSI-PSII超複合体 横野 牧生 他 ((株)日本製粉 他)	15
研究紹介	葉緑体の <i>ndhA</i> pre-mRNAのスプライシングに關与する ペンタトリコペプチドリピート (PPR) タンパク質 伊藤 綾花, 杉田 護 (名古屋大)	20
解説特集	「変動する光量への光合成機能の調節」	26
序文	古本 強 (龍谷大)	27
解説	環境変動に対する気孔と光合成の応答 木村 遼希 他 (東京大)	29
解説	レドックスを基盤とした葉緑体の機能統御ネットワーク 吉田 啓亮 (東京工業大)	39
解説	<i>Flaveria</i> 属におけるC ₄ 型光合成の進化過程 谷口 幸美 (関西学院大)	51
特別企画	第三回「スイス滞在記」 森田 隆太郎 (ETH Zurich・東京大)	60
報告記事	第14回若手の会セミナー開催報告 清水 隆之 (東京大)	62
集会案内	第26回「光合成セミナー2018: 反応中心と色素系の多様性」 秋本 誠志 (神戸大)	64
集会案内	「International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Biogenesis」	65
事務局からのお知らせ		66
日本光合成学会会員入会申込書		67
日本光合成学会会則		68
幹事会名簿		70
編集後記・記事募集		71
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会2018年度役員		72
賛助法人会員広告		

集会案内

第9回日本光合成学会年会および公開シンポジウム

日時： 2018年5月26日（土）13:00～27日（日）12:15
 会場： 東北大学青葉山新キャンパス 青葉山コモンズ
<http://www.tohoku.ac.jp/japanese/profile/campus/01/aobayama/areaaj.html>
 参加費： 一般（会員）2,000円、一般（非会員）3,000円、学生1,000円
 ＊参加費、懇親会費は当日現金支払いです。
 懇親会費：一般3,000円、学生2,000円
 参加申込：HPより参加申込の予定 4月10日～5月8日
 発表形式：ポスターおよび口頭（シンポジウムのみ）

5月26日(土)

13:00-15:00

シンポジウム1 @大講義室

緑の革命と呼ばれたイネとコムギの短稈育種は、飛躍的な増収をもたらした。短稈育種の成功は、多肥に依存したソース能強化とシンク拡大によって実現された。窒素施肥は、葉の窒素含量の増加によって光合成を増大させ、同時に穂数や粒数を増加させた。この窒素の多量施肥に依存した増収が今日の人口増を支えてきた。しかし、この戦略の延長上での穀類増産では、今後爆発的に増加する人類の食糧を確保することはできない。本シンポジウムでは生物生産の窒素利用の最適化とさらなる作物増産の方向性について考えてみたい。

「はじめに」 牧野 周（東北大・院農）

「自然変異を利用した光合成速度・窒素利用効率向上の展望と課題」

安達 俊輔（東京農工大・GIR）

「体内窒素利用と光合成活性のバランスは改変し得るか？」

泉 正範（東北大・学際フロンティア）

「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・院生命）

「おわりに」

宮尾 光恵（東北大・院農）

オーガナイザー 牧野 周・宮尾 光恵（東北大・院農）

15:15-17:00

ポスター紹介@大講義室

17:00-18:00

奇数番号ポスターセッション@ラーニングコモンズ

18:00-19:00

偶数番号ポスターセッション@ラーニングコモンズ

19:10-

懇親会@みどり食堂

5月27日(日)

9:00-11:00

シンポジウム2 @大講義室

チラコイド膜上で起こる光合成電子伝達は、二つの光化学系を含む巨大なタンパク質複合体により触媒される。最近の研究で、これらの複合体は単独で電子伝達やプロトン輸送を触媒するのではなく、ダイナミックに構造を変えたり、他の複合体と超複合体を形成したりすることで、光合成活性を柔軟に調節することが分かってきた。本シンポジウムでは、当該分野で活発に研究する若手研究者に話題提供をお願いした。またクライオ電顕は、超複合体の構造解析を飛躍的に進展させる可能性を秘めた手法であり、その概要を学ぶ機会を提供する。

「はじめに」 高橋 裕一郎 (岡山大・異分野基礎研)

「チラコイド膜のダイナミクスの違いはPSI-PSII超複合体の構造に影響を与えうる」

横野 牧生 (日本製粉・イノベーションセンター)

「NDH-PSI超複合体の構造とアセンブリ」 加藤 義宣 (京大・院理)

「PSI assembly apparatus in green alga *Chlamydomonas reinhardtii*」

Sreedhar Nellaepalli (岡山大・異分野基礎研)

「超分子複合体の構造のクライオ電顕による解析について」 宮崎 直幸 (阪大・蛋白研)

「おわりに」 鹿内 利治 (京大・院理)

オーガナイザー 高橋 裕一郎・鹿内 利治

11:15-12:15

総会・授賞式@大講義室

12:15

閉会

13:00-

若手の会セミナー

世話人

牧野 周 (東北大学) : 年会準備委員長

宮尾 光恵 (東北大学) : 年会企画委員長

トピックス

光化学系 I 三量体-フェレドキシン複合体の X 線結晶構造

¹大阪大学蛋白質研究所²基礎生物学研究所 環境光生物学研究部門 (現所属)河合 (久保田) 寿子^{1,2}、栗栖 源嗣¹

生物を構成する元素の多くは地球上に無機酸化物として存在しており、植物や緑藻、シアノバクテリア等がこれらを還元同化することではじめて生物が利用可能な有機物となる。この還元同化に必要な強い還元力を生み出しているのは光化学系 I (PSI) 複合体であり、PSI から電子を受け取り多種多様な還元同化酵素に分配する役目を担うのはフェレドキシン(Fd)である。本研究では、この PSI から Fd へ電子が効率よく伝達される仕組みを理解するため、好熱性ラン藻 *Thermosynechococcus elongatus* を用いて PSI-Fd 複合体の X 線結晶構造解析を行った。結晶を作製するにあたり、PSI により還元されないガリウム置換 Fd (Fd[Ga]) を用いることで、安定な PSI-Fd 複合体結晶を得ることに成功した (裏表紙)。 *T. elongatus* の PSI 構造 (PDB ID: 1JB0) をモデルとした分子置換法で初期位相を決定し、4.2 Å 分解能で構造を決定した (表紙)。その構造によると、PSI 三量体には三分子の Fd が不等価に結合していた。三分子の Fd の配向に大きな違いは無かったが、相互作用アミノ酸の数や反応中心金属間の距離は異なっており、一分子の Fd は他の二分子よりも強く PSI に結合していると考えられた。これまで Fd は PSI の表在性蛋白質、PsaC、D、E が作るストロマ側のポケットに結合するとされてきたが、実際には PsaD とは相互作用せず、PsaC、PsaE および PsaA サブユニットと相互作用している様子が捉えられた。また、PSI と Fd の反応中心金属周辺環境は PSI と Fd の双方のアミノ酸により電子伝達に適した疎水的環境が整えられ、さらにその外側はイオン結合及び水素結合によって複合体が形成されていた。これにより、効率のよい電子伝達反応を達成していると考えられる。溶液中での Fd 側の相互作用部位が結晶構造と概ね一致することは、Fd[Ga]を用いた NMR による転移交差飽和法で確認した。さらに、Fd 結合前後の PSI 構造を比較することで、Fd 結合に由来する PSI の構造変化を考察した。Fd が結合することで表在性蛋白質 PsaC と E が三量体の外側に向かって移動し、その動きは PsaC と E に隣接する膜貫通ヘリックスの PsaF にも伝搬され、三量体の外側に沿ってチラコイド膜を横切り、最終的にルーメン側にまで到達していた。ルーメン側にある PsaF の N 末端近傍は、PSI を還元する蛋白質が結合する部位であることから、PSI は PsaF を介して膜内外の酸化還元(電子伝達)蛋白質の結合情報を共有するメカニズムが存在する可能性を提唱した。

これらについて、2018 年 8 月号の解説記事にて詳細を報告する予定である。

(gkurisu@protein.osaka-u.ac.jp)

解説

微細藻類における脂質顆粒葉緑体局在説をめぐって

東京大学 大学院総合文化研究科

佐藤 直樹*

近年の微細藻類を用いたバイオ燃料研究ブームのなかで、クラミドモナスでは脂質顆粒が細胞質だけでなく葉緑体にも存在するという説が生まれた。しかし、他の生物で細胞質に存在する脂質顆粒がクラミドモナスでだけ葉緑体にも存在するのは奇妙であった。筆者らはこの謎を解明する努力を続けてきたが、ようやく一定の結論に達した。無いものを無いと証明することの難しさを含めて、簡単に解説する。

1. はじめに

真核生物の多くは過剰な栄養をトリアシルグリセロール (TAG) の形で保存する能力をもち、その際、TAG は脂質顆粒 (LD) の形で細胞質に存在する (図 1)。ここで脂質顆粒と訳している学術用語は英語で *lipid droplet* と呼ばれるものに対応している。そのまま直訳すると油滴となり、一般には脂肪滴と呼ばれているが、それでは単なる油の滴が細胞質に浮かんでいるだけのように誤解されてしまうと考え、あえて脂質顆粒と呼ぶことにする。以前は *oil body*、*lipid body* などとも呼ばれたが、最近では、全生物で上記の名称に統一されている¹⁻³⁾。LD は、TAG を主成分とする中心部のまわりをタンパク質やリン脂質でできた薄い膜が囲んでいる。通常の生体膜は脂質二重層からなるが、LD 膜は一重の脂質層からなり、いわば半分の膜ということになる。LD は、直径 $0.1 \mu\text{m}$ 程度の小型のものから $100 \mu\text{m}$ に至る巨大なものまであり、細胞内でも比較的に目立つオルガネラである。動物の場合、脂肪組織などの細胞に蓄積されるのはもちろんのこと、さまざまな細胞に含まれる LD が免疫などを含む多様な生理機能に関わることが知られている^{2,3)}。文献 1 にはわかりやすい図解が示されている。さらに、

一部の LD は細胞核にも存在してその機能を調節する可能性が指摘される他、ミトコンドリアとの脂質トラフィック、感染したクラミジアの増殖を助ける機能なども知られている。植物の LD については文献 4 などを参照のこと。

植物や藻類の細胞では、貯蔵物質として、TAG のほかにデンプンがある⁵⁾。植物や緑藻では、デンプン粒は葉緑体に含まれるが、紅藻の場合、細胞質に存在する⁶⁾。さらに糖鎖の構造にも違いがあり、植物のデンプンは、非常に高度に組織化さ

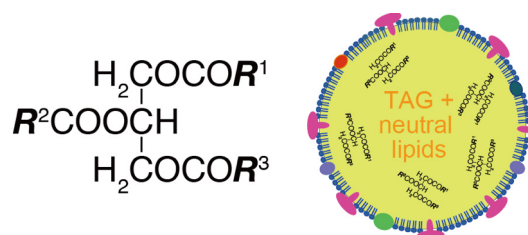


図 1. トリアシルグリセロール (TAG) の構造式 (左) と脂質顆粒 (LD) の模式図 (右)

構造式で、右肩に番号のついた R はアルキル基を表し、それぞれ異なることを示している。模式図では、中央に TAG などの中性脂質が集まり、外側をリン脂質単分子層が取り巻いている。またその中に構造タンパク質や脂質代謝酵素が埋め込まれている。異なる色の図形は異なるタンパク質を模式的に示している。

*連絡先 E-mail: naokisat@bio.c.u-tokyo.ac.jp

れた結晶状になっていることが特徴である。このほかに植物の葉緑体には、約 $0.1 \sim 0.2 \mu\text{m}$ の直径をもつプラストグロビュール (PG) があり、主にプラストキノン、トコフェロールなどのイソプレノイドを含んでいるが、TAG も含まれることが知られている^{7,8)}。PGにはフィブリリン (FBN) と呼ばれる特徴的なタンパク質群が含まれ、FBNはシアノバクテリアにも存在する⁹⁾。シアノバクテリアでも小さな脂質含有顆粒が存在し¹⁰⁾、アルカンなどを含むことが知られており、PGに対応する可能性があるが、まだ詳細はわからない。いまのところ、シアノバクテリアにTAGが存在するという確実な証拠はない。

2000年代から始まった藻類を用いるバイオ燃料生産の研究¹¹⁻¹³⁾の中で、クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) と呼ばれる緑藻がモデル生物として脚光を浴びた^{14,15)}。このほかに、*Nannochloropsis* 類 (真眼点藻) や *Botryococcus braunii* (緑藻)、*Dunaliella* 類 (緑藻)、*Chlorella* 類 (緑藻) など重要な研究材料となっている¹²⁾。クラミドモナスは窒素源欠乏 (窒素飢餓) 条件でTAGやデンプンを蓄積することが知られ^{15,16)}、デンプン合成に欠損のある変異体ではTAG蓄積が増加した^{17,18)}。その際、LDの多くは細胞質に存在するが、一部のLDが葉緑体内部に存在することが二つのグループから報告された^{19,20)}。これ

に関してはさまざまな議論があったが、その後さらに野生株でも強光条件で葉緑体にLDが蓄積するとの報告が発表された²¹⁾。LDの葉緑体局在に関して筆者は強い疑念を抱き、共同研究者とともに約2年間にわたり詳しい検証実験を重ねた。その結果、何らかの条件下でLDが葉緑体に存在する可能性を完全に排除することは論理的に無理だが、そのように信ずるべき根拠は今のところ全くないという結論を得るに至った²²⁾。本稿では、LDの葉緑体局在問題に関して、その経緯を解説し、現在の状況を説明したい。

2. 電子顕微鏡による脂質顆粒 (LD) の観察

野生株のクラミドモナス細胞を窒素飢餓条件にすると、デンプン粒とLDが多量に蓄積し、通常の光学顕微鏡観察や透過型電子顕微鏡 (TEM) による超薄切片の観察でも、それぞれが細胞内のどのコンパートメントに局在するのかを判断するのはきわめて難しい。それでも葉緑体包膜に注目すれば、葉緑体の内部と細胞質とを見分けることが可能である。包膜は葉緑体を囲む二重の膜である。筆者は長年、葉緑体包膜のDNA結合タンパク質を研究してきた²³⁾関係もあり、包膜の電子顕微鏡観察には特段の注意を払ってきた。最近では、コケの包膜の膜間領域にペプチドグリカンが存在する証拠を、TEM像から得ることに成功し

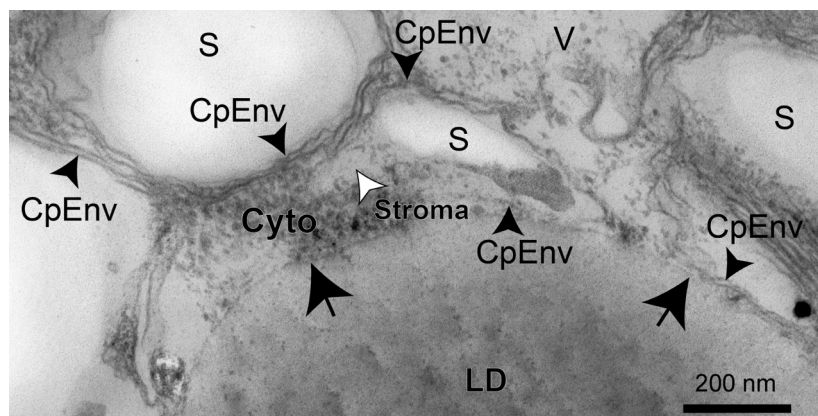


図2. 野生株クラミドモナスにおける脂質顆粒(LD)とデンプン粒の関係

窒素源を含まない無機培地中、1%の CO_2 を通気し4日間培養したCC-1010細胞の超薄切片の透過型電子顕微鏡(TEM)像。CpEnv (黒い矢尻)、葉緑体包膜; Cyto, 細胞質; LD, 脂質顆粒; S, デンプン粒; Stroma (白い矢尻)、葉緑体ストロマ; V, 液胞。大きな矢印はLD膜を示す。この固定・脱水条件では、TAGはエタノールに溶解しないため、試料中に残り、樹脂の中で半ば溶けた状態になっている。そのため、LDの切断面がでこぼこしている。

た²⁴⁾。このように述べるのは、包膜はそのつもりで見ないとなかなか見えないからである。おそらくペプチドグリカンが裏打ちしているため、コケの包膜はきわめて直線的であるが、被子植物や緑藻の包膜は「ふにゃふにゃ」で、「ひらひら」した感じに見える(図2)。その理由は、超薄切片は実際にはかなり分厚く、約70-100 nmの厚さがある一方、生体膜の厚さは約6-10 nmに過ぎないからである。あまり知られていないことだが、TEM像で膜がくっきり見えているのは奇跡に近い。たまたま生体膜が切片面に垂直になっている部分を見ていることになる。

さて図2は、窒素飢餓にした野生型クラミドモナス細胞の一部を示す超薄切片のTEM像である。そこでは、LDとデンプン粒が近接して存在している。切片に厚みがあるため、いずれもやや立体的に見える。包膜(矢尻)をたどっていくと、LDとデンプン粒との間に存在し、それぞれのデンプン粒が包膜に囲まれていることがわかる。中央の小型のデンプン粒は、それだけで包膜で囲まれている。一方で、LDの表面には薄い膜があることもわかる(矢印)。これが先に説明した通常の半分の膜である。こうして、LDが葉緑体の外に存在することがはっきりとわかる。この状況から判断すると、葉緑体の内部にデンプン粒が蓄積したとき、葉緑体包膜はそれにあわせて「でこぼこ」になっていることになる。クラミドモナスの細胞の模式図に見られるカップ状のなめらかな葉緑体とは全く異なるイメージである。

3. デンプン合成欠損株におけるLDの葉緑体局在説

多くの研究者はデンプンがあるとLDが観察しにくいと、デンプン合成欠損株 *sta6* や *sta7* を利用してLDの観察を行った^{17,18)}。クラミドモナスにはデンプンを合成するADPグルコースピロホスホラーゼの遺伝子が6個存在するが²⁵⁾、*STA6* や *STA7* など、一つの遺伝子を欠損しただけでも、デンプンの蓄積はほとんどなくなる。こうした細胞において、LDの一部が葉緑体に存在するという報告がなされた^{19,20)}。二つの報告に書かれていることは若干異なるが、論文19では、TAP

(Tris-acetate-phosphate) 培地で培養した *sta6* 変異体細胞を、アンモニアを含まないTAP培地に移して、2日ほど明条件で培養を続けることがポイントとされた。このとき、脂肪酸合成を阻害してもTAGの蓄積が起きることと、TAGの脂肪酸に葉緑体脂質に特有の脂肪酸分子種が見られることなどから、既存の葉緑体脂質をTAGに作り替えていると考えられた。TEM観察の結果、葉緑体の内部に大きなLDが存在する像が観察されたとされた。

一方、論文20では、さまざまなLDの局在を分類しているが、lipid bodyの意味でLBと書いているので注意が必要である。窒素源存在下でできる小さな細胞質局在型 α -cyto-LB、窒素飢餓条件下で細胞核と葉緑体の中間の細胞質に存在する大きな β -cyto-LB、さらに葉緑体内部に存在するcpst-LBである。このほかに、葉緑体と細胞膜との間の細胞質に存在するものもある。この論文では、光学顕微鏡観察の他、deep-etchと呼ばれる電子顕微鏡の手法を用いて観察している。これは、凍結試料を切断したのち、表面の水分を昇華させ、膜部分を露出させた上で、金属を蒸着して観察するもので、切断面近くの膜の状態も詳しく観察できる。論文によると、*sta6*株を窒素飢餓にしてから12時間後以降にcpst-LBが観察され、thylakoid wrapと呼ばれる1枚か2枚のチラコイド膜に囲まれているとされた。この膜には膜内粒子が少なく、LDを包む際にチラコイド膜が部分的に壊れるのかもしれないと述べられている。このほか、窒素飢餓条件にしてから2日後に20 mMの酢酸塩を追加することにより、さらにLDを大きく成長させることができると記載されている。紛らわしいのだが、おそらく酢酸塩の添加はcpst-LBの形成とは直接関係ないようである。

4. 野生株における脂質顆粒の葉緑体局在説

上に述べた二つの論文では共通して、葉緑体内部にLDが観察されるのは、*sta6*変異体を窒素飢餓にした場合に限定されることが明記されていた。ところが野生株でも強光条件にすると、葉緑体にLDが出現することが報告された²¹⁾。この論文では、連続培養系を使って、細胞密度を一定に

保ちながら光条件を変える実験について述べられ、2% CO₂を与えながら独立栄養条件で培養したとき、200 μmol m⁻² s⁻¹という飽和光で培養を続けるとLDが蓄積し、葉緑体内部にもLDが含まれていることが、共焦点蛍光顕微鏡観察でわかったとされた。さらに単離したLDに葉緑体脂質成分や葉緑体タンパク質が含まれていたことも、LDの一部が葉緑体内部に存在する証拠と考えられた。

5. 葉緑体局在LDに関する問題点

このような論文を読むと、筆者は直ちに次のような問題点に気づいた。野生型では見られない葉緑体局在LDが特定の変異体だけで、しかも特定の条件だけで観察されるなどということがあろうか。4項で使われたのは野生型だが、このことは、他の二編の論文の結論と矛盾しないだろうか。

そこでさらに詳しく検討すると、次のような問題点が浮かび上がった。論文19のTEM像をよく見ると、LDは完全に葉緑体内部に存在するのではなく、深く食い込んでいるだけであることがわかる。論文20で観察されたcpst-LBのまわりにある膜(thylakoid wrap)は、包膜ではないだろうか。一般に包膜は、チラコイド膜に比べて内部のタンパク質粒子が少ないことが知られている。電子顕微鏡で観察されるのは一つの断面だけなので、包膜の外側から内部に陥入した領域があり、そこにLDが存在していたのではないだろうか。論文21で示されている蛍光顕微鏡像は、よく見ると、脂質を検出するナイルレッドの蛍光が、クロロフィル蛍光を検出するチャンネルに混ざり込んでいて、そのため、葉緑体と思っている領域が実はLDなのではないだろうか。論文19、21で使われている細胞分画手法では、どの程度の純度の葉緑体やLDが得られているのだろうか。

他人の論文の批判をするだけでは説得力のある議論ができないので、研究室でも再現実験にとり組むことにした。詳しい結果はオープンアクセスの論文22として発表したのもので、それを参照して頂くこととして、ここでは要点をまとめる。検証ではまず、報告されている実験を再現し、葉緑

体に局在するように見えるLDを検出することから始めた。そのLDをさまざまに検討し、たしかに葉緑体内部に存在するのか確認した。そうした実験をそれぞれについて行い、葉緑体局在LDといえるものがあるのか判断することとした。

5.1 TEM 観察

まず強光で生成するLDをTEMにより観察した。この条件でつくられるLDは小さく、数も限られているため、葉緑体に含まれるように見えるものを発見するのは難しかったが、それでもいくつかについて観察することができた。先にも述べたように、切片内で包膜が斜めになっていると明確に認識することができない。しかし、筆者らが用いている古い電子顕微鏡にも試料を傾斜する装置がついているので、20度くらいまでなら傾けることができる。そうすれば、包膜を明瞭に検出することができる場合がある。論文22の図4では、葉緑体内部に存在すると見えたLDが、葉緑体に陥入した細胞質内に存在することを示した。その他にも、包膜で取り囲まれた多数のLDのTEM像を論文のサプリメントに示した。

ここでは窒素飢餓1日後のsta7細胞の例を図3Bに示す。LDがチラコイド膜や眼点と隣接していて、あたかも葉緑体内部にあるように見えるが、画像を詳しく調べると、LDとミトコンドリアを含む細胞質がまとめて包膜に囲まれていることがわかる(図3A, C, D)。Bの図ではLDの下側の包膜が明瞭でないが、画像のようすから、斜めになった包膜があると考えておかしくない。つまりこの図は、紙面に垂直な方向から葉緑体に陥入した細胞質の部分の断面図を見ていることになる。さらに図3Eには別のsta7細胞の全体像を示す。一番上に見えるLDの輪郭に沿って葉緑体が薄く伸びていて、LDをほとんど包み込んでいるように見える。包膜とLDとの接触はきわめて密接で、動物で知られるLDとミトコンドリアの接触などとも似た状況に見える。

こうして、強光条件、窒素飢餓条件のsta6とsta7のいずれの場合にも、確実に葉緑体内部に存在するLDを見いだすことはできなかった。

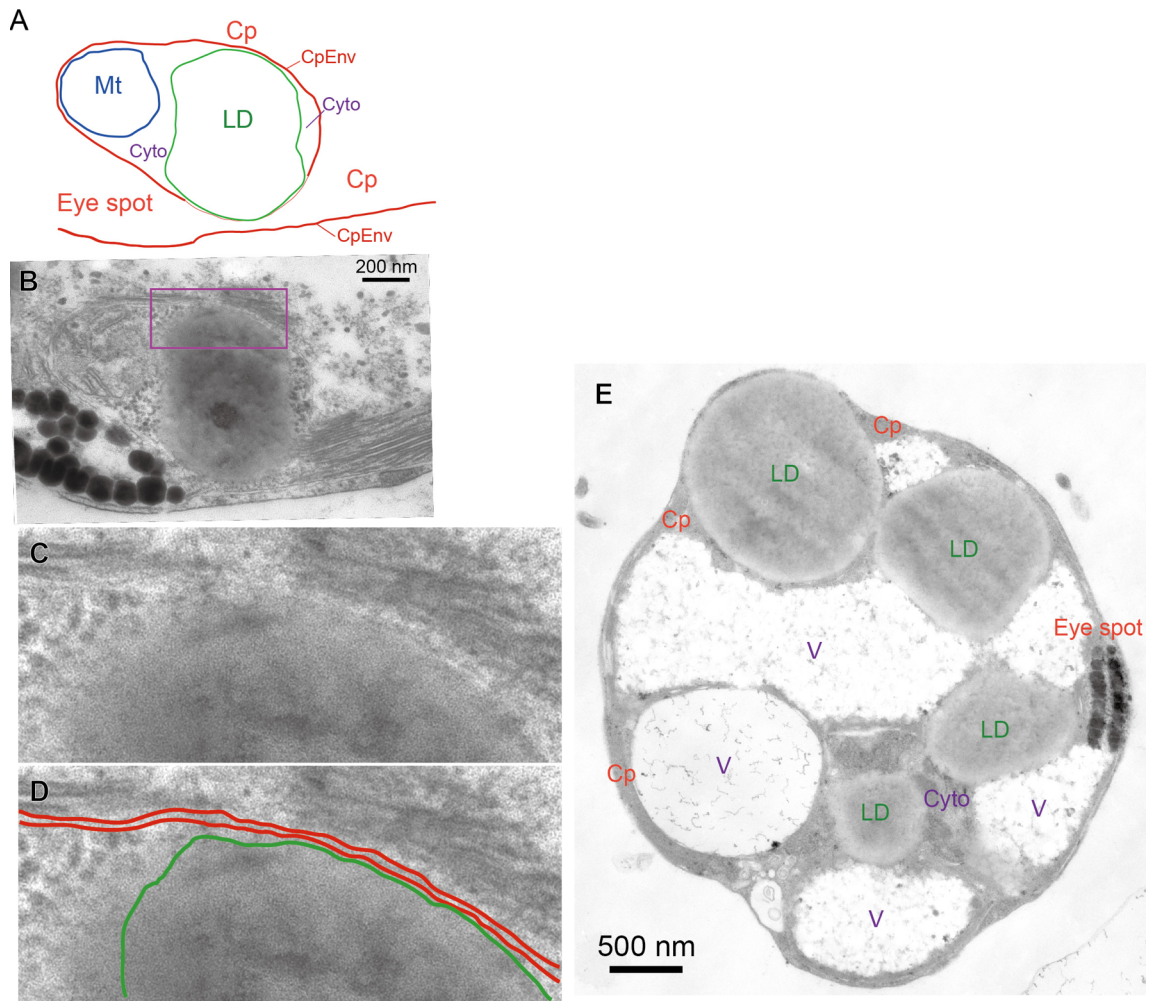


図3. デンプン欠損変異株 *sta7* における脂質顆粒(LD)と葉緑体との関係

窒素源を含まない TAP 培地で 1 日間培養した *sta7 cw15* 細胞の透過型電子顕微鏡像。 *cw15* は細胞壁欠損変異を表す。 B は葉緑体内部に見られるように見える脂質顆粒。 A は B の模式図。 C は B の一部の枠内の拡大像。 D は C に包膜 (赤色) と LD 膜 (緑色) のトレースを加えた説明図。 E は別の細胞の横断面像。 Cp, 葉緑体; CpEnv, 葉緑体包膜; Cyto, 細胞質; Eye spot, 眼点; LD, 脂質顆粒; Mt, ミトコンドリア; V, 液胞。 E の細胞は、細胞壁がないため、LD の肥大化に伴い、変形している。 E の上部に見える LD の上辺に沿って、左右から葉緑体包膜が薄く伸びている。

5.2 共焦点蛍光顕微鏡による三次元構築

LD と葉緑体との関係を立体的に観察するため、共焦点蛍光顕微鏡を用いて、Z スタックを取得し、立体的な画像を再構築することにした。その場合、葉緑体の自家蛍光を取得する波長が問題となる。純粋な TAG に溶かした蛍光色素の蛍光スペクトルを測定すると、ナイルレッドや LipidTOX の蛍光は、640 nm 以上の長波長領域にまで伸びていることがわかった (論文 22 サプリメント図 6)。BODIPY ではそれほど顕著ではなかった。そのため、クロロフィル蛍光を利用する場合には、脂質

を染色する色素の種類にも注意が必要である。しかし別の解決策もあることがわかった。今のところまだ完全な説明はできていないが、青色光領域に葉緑体の自家蛍光が見られる。励起波長 408 nm、検出波長 417-477 nm の設定で、クロロフィル自家蛍光とほぼ変わらない像が得られる。これを青色自家蛍光と呼ぶことにする。この蛍光の正体はまだわからないが、実用的には便利である。

このようにして、葉緑体の蛍光像と LD の像を取得し、三次元画像構築を行った。図 4 には強光条件の結果の一例を示す (論文 22 サプリメント

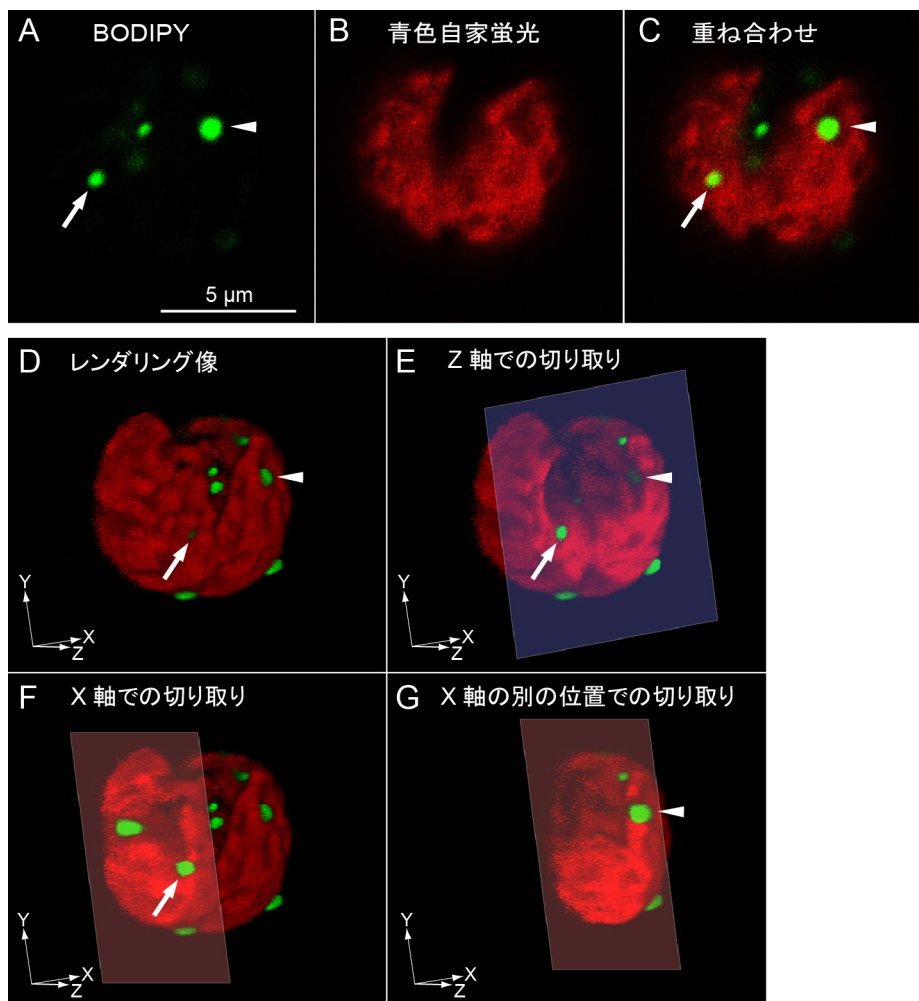


図4. 共焦点蛍光顕微鏡によるクラミドモナス細胞の三次元構築像

野生株 CC-1010 を無機培地中、強光下で 11 時間培養した。LD は BODIPY で染色して撮影した。葉緑体の像は青色自家蛍光 (本文参照) により撮影した。三次元構築は Fluorender というソフトウェアを用いて行った。A-C, あるスライスの二次元像。LD が葉緑体内部に存在するように見える。D-G, レンダリング像。D は細胞の外側から見た図に相当する。E-G は薄く示した面で切り取った像。矢印と矢尻はそれぞれ同一の LD を示す。

論文 22 サプリメント図 3 より著者の権利として転載(Copyright American Society of Plant Biologists).

図 3)。C の蛍光重ね合わせ像では、矢印と矢尻で示す 2 個の LD が葉緑体内部に存在するように見える。これはあくまでも一つのスライスの像である。ところが、別の切り方をすると、E や F で示すように矢印の LD は細胞質に接していることがわかる。また、G に示すように、矢尻の LD は葉緑体を貫通していることがわかる。このようなことは実は珍しいことではなく、ただ単に葉緑体を観察した場合でも、三次元構築してみると、包膜の陥入によって、いくつも穴があいていることがわかった (論文 22 サプリメント図 7)。これ

は、TEM 画像 (同サプリメント図 9) でもよく見られることであるが、これまではあまり明確に認識されてこなかったように思う。同様にして、窒素飢餓条件の *sta6* 細胞と *sta7* 細胞についても観察を行い、全体を通して、葉緑体内部に存在するように見える LD でも、詳しく調べると陥入した細胞質に存在すると判断すべきことがわかった。

私たち自身は、細胞分画の実験は行っていない。クラミドモナスでは、植物 (シロイヌナズナではなく、ハウレンソウやエンドウの葉など) のよう

に、典型的なきれいな葉緑体を精製する方法が確立されていないからである。純度に信頼をおけない画分を分析しても、TAG の局在を議論することはできない。ただし、今後はそうした技術を開発することが必要になると思われる。

6. まとめ

本稿では、クラミドモナスにおける LD の葉緑体局在説について、さまざまな検討の結果を説明した。現状では、葉緑体内部に LD が存在することを示す明確な証拠は存在しないと思う。だからといって、絶対にそういうことがないと言い切ることはできない。これは 150 年前にパスツールが自然発生説を否定したときの事情とよく似ている。無いものを否定することはできないからである。もしも葉緑体内部に LD があるのならば、それはそれとして面白い話である。誰もが納得する明確な証拠をもって、そういう論文を書く人が現れるかもしれないが、これはあまり簡単なことではない。少なくとも、他の植物や藻類で知られていないことなので、仮にそういうことを主張するならば新奇性は高いが、それだけに証明する責任も重い。

他方、これまでのデータのもっとも考えやすい解釈としては、もともとクラミドモナスの葉緑体には包膜が陥入したところがあり、それは貫通している場合も、へこんでいるだけの場合もあると思われる。LD が大きくなるにつれて、そのくぼみの中に自然ともぐり込んでしまうのではないだろうか。デンプン合成欠損株の場合には特に葉緑体内部にスペースがあるため、大きな LD がもぐり込んだ状態になりやすいのであろう。デンプン粒がある場合にも、図 2 に示したように、デンプン粒と LD が交互に食い込みあう状況が生じているが、多量のデンプンが邪魔することで、LD が葉緑体内部に深くもぐり込むことは難しいと思われる。

私が疑問に思うことの一つは、LD の葉緑体局在に関する論文がいくつも発表され、多くの研究者がそれを疑問に思いつつも、明確な反論をしてこなかったことである。植物脂質研究の世界は、応用志向が強く、比較的和やかでありあまり厳しい理

論的な論戦が行われてこなかったことも一つの要因であろう。しかしまた、微細藻類のバイオテクノロジーがにわかには脚光を浴びて、クラミドモナスという生物をよく知らない研究者、あるいは植物脂質に詳しくない研究者が参入したことが別の要因かもしれない。何よりも、植物に比べると未だに圧倒的に研究人口が少なく、しかも研究対象がさまざまな微細藻類に分散しているため、細かい点にまでクロスチェックが行き届かないのかもしれない。

最後にごく個人的な感想だが、日本人の研究者には、外国で言われていることを鵜呑みにしないで、違っていると思うことには毅然と反論していくことが大切だと思う。それには英語力や表現力、それに真実を知りたいという気持ちが必要である。

謝辞

ここで紹介した論文 22 の研究は文部科学省 CREST 研究（代表：太田啓之教授）の一環として行われたものです。同僚であり原稿の段階で査読もしてくださった和田元教授をはじめとする研究グループのメンバー、また、齊藤勝和博士、森山崇博士、豊島正和博士など、両研究室のメンバーの協力に感謝いたします。

補足

ここで解説した論文 22 の研究は、Plantae でも紹介された²⁶。

Received Feb 23, 2018; Accepted Mar 15, 2018; Published April 30, 2018

参考文献

1. Walther, T. C. and Farese, R. V. Jr. (2012) Lipid droplets and cellular lipid metabolism. *Annu. Rev. Biochem.* 81, 687–714.
2. Guo, Y., Cordes, K. R., Farese, R. V. Jr. and Walther, T. C. (2009) Lipid droplets at a glance. *J. Cell Sci.* 122, 749–752.
3. Welte, M. A. (2015) Expanding roles for lipid droplets. *Curr. Biol.* 25, R470–R481.
4. Chapman, K. D., Dyer, J. M. and Mullen, R. T.

- (2012) Biogenesis and functions of lipid droplets in plants: thematic review series: lipid droplet synthesis and metabolism: from yeast to man. *J. Lipid Res.* 53, 215–226.
5. Zeeman, S. C., Kossmann, J. and Smith, A. M. (2010) Starch: Its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 209–234.
 6. Toyoshima, M., Mori, N., Moriyama, T., Misumi, O. and Sato, N. (2016) Analysis of triacylglycerol accumulation under nitrogen deprivation in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Microbiology* 162, 803–812.
 7. Tevini, M. and Steinmüller, D. (1985) Composition and function of plastoglobuli. II. Lipid composition of leaves and plastoglobuli during beech leaf senescence. *Planta* 163, 91–96.
 8. Bréhélin, C., Kessler, F. and van Wijk, K. J. (2007) Plastoglobules: versatile lipoprotein particles in plastids. *Trends Plant Sci.* 12, 260–266.
 9. Lohscheider, J. N. and Bártulos, C. R. (2016) Plastoglobules in algae: A comprehensive comparative study of the presence of major structural and functional components in complex plastids. *Marine Genomics* 28, 127–136.
 10. van de Meene, A. M. L., Hohmann-Marriott, M. F., Vermaas, W. F. J. and Roberson, R. W. (2006) The three-dimensional structure of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Arch. Microbiol.* 184: 259–270
 11. Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., Darzins, A. (2008) Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J.* 54, 621–639.
 12. Menetrez, M. Y. (2012) An overview of algae biofuel production and potential environmental impact. *Environ. Sci. Technol.* 46, 7073–7085.
 13. Bhowmick, G. D., Koduru, L. and Sen, R. (2016) Metabolic pathway engineering towards enhancing microalgal lipid biosynthesis for biofuel application—A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 50, 1239–1253.
 14. Siaut, M., Cuiné, S., Cagnon, C., Fessler, B., Nguyen, M., Carrier, P., Beyly, A., Beisson, F., Triantaphylidès, C., Li-Beisson, Y. and Peltier, G. (2011) Oil accumulation in the model green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: characterization, variability between common laboratory strains and relationship with starch reserves. *BMC Biotechnol.* 11, 7.
 15. Merchant, S. A., Kropat, J., Liu, B., Shaw, J. and Warakanont, J. (2012) TAG, You're it! *Chlamydomonas* as a reference organism for understanding algal triacylglycerol accumulation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23, 352–363.
 16. Zienkiewicz, K., Du, Z. Y., Ma, W., Vollheyde, K. and Benning, C. (2016) Stress-induced neutral lipid biosynthesis in microalgae — Molecular, cellular and physiological insights. *Biochim. Biophys. Acta* 1861, 1269–1281.
 17. Li, Y., Han, D., Hu, G., Dauvillee, D., Sommerfeld, M., Ball, S. and Hu, Q. (2010) *Chlamydomonas* starchless mutant defective in ADP-glucose pyrophosphorylase hyper-accumulates triacylglycerol. *Metab. Eng.* 12, 387–391.
 18. Work, V. H., Radakovits, R., Jinkerson, R. E., Meuser, J. E., Elliott, L. G., Vinyard, D. J., Laurens, L. M. I., Dismukes, G. C. and Posewitz, M. C. (2010) Increased lipid accumulation in the *Chlamydomonas reinhardtii* *sta7-10* starchless isoamylase mutant and increased carbohydrate synthesis in complemented strains. *Eukaryot. Cell* 9, 1251–1261.
 19. Fan, J., Andre, C. and Xu, C. (2011) A chloroplast pathway for the de novo biosynthesis of triacylglycerol in *Chlamydomonas reinhardtii*. *FEBS Lett.* 595, 1985–1991.
 20. Goodson, C., Roth, R., Wang, Z. T. and Goodenough, U. (2011) Structural correlates of cytoplasmic and chloroplast lipid body synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* and stimulation of lipid body production with acetate boost. *Eukaryot. Cell* 10, 1592–1606.
 21. Goold, H. D., Cuiné, S., Légeret, B., Liang, Y., Brugière, S., Auroy, P., Javot, H., Tardif, M., Jones, B., Beisson, F., Peltier, G. and Li-Beisson, Y. (2016) Saturating light induces sustained accumulation of oil in plastidal lipid droplets in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 171, 2406–2417.
 22. Moriyama, T., Toyoshima, M., Saito, M., Wada, H. and Sato, N. (2018) Revisiting the algal “chloroplast lipid droplet”: the absence of an entity that is unlikely to exist. *Plant Physiol.* 176, 1519–1530.
 23. Sato, N., Albrieux, C., Joyard, J., Douce, R. and Kuroiwa, T. (1993) Detection and characterization of a plastid envelope DNA-binding protein which may anchor plastid nucleoids. *EMBO J.* 12, 555–561.
 24. Sato, N., Toyoshima, M., Tajima, N., Takechi, K. and Takano, H. (2017) Single-pixel densitometry

- revealed the presence of peptidoglycan in the intermembrane space of moss chloroplast envelope in conventional electron micrographs. *Plant Cell Physiol.* 58, 1743–1751.
25. Ball, S. G and Deschamps, P. (2009) Chapter 1 Starch Metabolism. *In: Stern, D. B. and Harris, E. Editors. The Chlamydomonas Sourcebook. Second Edition. Volume 2: Organellar and Metabolic Processes.* pp. 1–40. Elsevier, Amsterdam.
26. Williams, M. (2017) Plantae ブログ . https://plantae.org/do-lipid-droplets-exist-in-the-chloroplast-stroma/?utm_source=TrendMD&utm_medium=cpc&utm_campaign=Plantae_TrendMD_0

Questioning the theories on the chloroplast localization of lipid droplets in microalgae

Naoki Sato

Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo

研究紹介

緑色植物の PSI-PSII 超複合体[§]¹ 日本製粉株式会社 イノベーションセンター² 北海道大学 低温科学研究所³ 北海道大学 大学院理学研究院⁴ カリフォルニア大学 パークレー校⁵ 神戸大学 内海域環境教育研究センター⁶ 神戸大学 大学院理学研究科

横野 牧生^{1,2,*}、高林 厚史²、岸本 純子²、藤田 知道³、
岩井 優和⁴、村上 明男⁵、秋本 誠志⁶、田中 歩²

全ての酸素発生型光合成生物は、2種類の異なる光合成反応中心 (PSI と PSII) を連動させて光合成を行う。従来、PSI と PSII は別々の場所に存在すると考えられてきた。これは弱く安定した光の下で光合成を行う、先祖型の酸素発生型光合成生物においては正しいものと思われる。しかし陸上植物においては、約半数の PSII は PSI に緊密に結合し、PSI-PSII 超複合体を形成している。超複合体内部では、PSII から PSI へ励起エネルギーが 20ps で伝達される。

本稿では、シロイヌナズナの PSI-PSII 超複合体において、PSI がエネルギーを熱に変換して捨てる反応を促進していることを報告する。この反応は、突然の強光などで PSII から PSI への電子伝達反応が追いつかないときに自然と効率が高まる。この PSI-PSII 超複合体によるエネルギー調節機構は、植物が変動する光環境に適応するために獲得した重要な環境応答機構であろう。

1. はじめに

光合成反応中心は、光のエネルギーをクロロフィル分子内の電子の激しい運動 (励起エネルギー) に置き換え、十分な勢い (電圧) を与えられた電子の流れを生み出すことで、強力な還元剤を合成する。還元剤は、安定な二酸化炭素に新たな共有結合を作らせて、糖を作り出すのに不可欠である。植物を含む酸素発生型の光合成生物では、PSII が励起エネルギーを用いて水分子から電子を引き抜き、PSI がその電子にさらに励起エネルギーを与えることで、約 1V の電圧を生み出し NADPH を合成している。もし一連の反応を担う PSII と PSI が独立して存在しているなら、ちよっ

とした環境の変化で両者の励起エネルギーのバランスが崩れ、片方の反応中心に過剰な励起エネルギーが溜まり、タンパク質や膜脂質が破壊されてしまうだろう。

現存する最も始原的な酸素発生型光合成生物とされるシアノバクテリア *Gloeobacter violaceus* は、スイスの岩影で発見され、培養環境でも微弱光でしか増殖しない。一方、多くのシアノバクテリアは、変動の激しい光条件に順応するため、様々な環境応答機構を獲得してきた。そのうちのひとつが、2013年に発見された Phycobilisome-PSII-PSI megacomplex である¹⁾。PSII と PSI が、一つの巨大なアンテナ (phycobilisome) に同時に結合することで、励起エネルギーは PSII と PSI に適切な割合で分配される。この仕組みは phycobilisome の存在に依存し

[§]第8回日本光合成学会年会 ポスター発表受賞論文

*連絡先 E-mail: filia@mac.com

ており、紅藻はこの仕組みを受け継いだ^{2,3)}。しかし *phycobilisome* を失った緑藻類の系統では、別の形で PSII と PSI の励起エネルギーのバランスをとる必要があった。

2. 緑藻系統の PSI-PSII 超複合体

緑藻類において海の深いところに生息する種では、多くの PSII は PSI とは独立して存在している (図 1a)。こうした種では、それぞれの反応中心に多数の光捕集アンテナが結合することで、効率良く光合成を行っているのであろう^{4,5)}。さらにこれらの種の PSI は、P700 と競合して励起エネルギーをトラップする *low-energy chlorophyll* (*red chlorophyll*) を持たないことから⁶⁾、高等植物の PSI よりも光捕集能力には優れていると考えられる。

緑藻の中で陸上植物に最も近縁なグループである車軸藻では、全 PSII の 3 割程度が PSI と直接結合して励起エネルギーを共有しているようである (図 1b)。共有された励起エネルギーは、PSII の *open/close* に依存して適切に分配されると考えられる⁷⁾。*low-energy chlorophyll* のトラップの深さは、遅延蛍光スペクトルのピーク位置から判断される (図 1)。高等植物 (~740 nm) ほどの深さではないものの、車軸藻 (~725 nm) は *low-energy chlorophyll* を P700 に競合するトラップとして持っており、限定的な PSI-NPQ の能力を保持していると考えられる。*low-energy chlorophyll* のトラップの深さは、トラップとして

の能力だけでなく、エネルギーを消去する効率の観点からも重要である。PSI は少なくとも 2 種類の光防御機構を備えている。一つは *zeaxanthin* と *low-energy chlorophyll* の間で形成される *charge-transfer state* を介したクエンチングであり⁸⁾、もう一つは *low-energy chlorophyll* から P700⁺ へのエネルギー移動を介したクエンチングである⁹⁻¹²⁾。*low-energy chlorophyll* が深くなると、P700 へエネルギーを伝達する効率は低下するが、*zeaxanthin* との間で *charge-transfer state* を形成する効率や P700⁺ へエネルギーを伝達する効率は高くなる。したがって、深い *low-energy chlorophyll* の存在はエネルギーを消去する効率を高める点で重要である。

コケ植物は陸上の厳しい光環境に適応した種であり、全 PSII の約 50% が PSI と直接結合して励起エネルギーを共有している (図 1c)。これはシロイヌナズナと同程度の割合である⁷⁾。しかし *low-energy chlorophyll* のトラップの深さは車軸藻と同程度である。このことは、コケが PSII と PSI の励起エネルギーのバランスをとる上では PSI-PSII 超複合体に依存しているものの、光防御の観点からは PSI-PSII 超複合体における PSI-NPQ 以外の機構にも依存していることを示唆している^{13,14)}。コケが持つ複数の光防御機構の切り替えに関しては今後の課題である。

高等植物では全 PSII の約 50% が PSI と直接結合して励起エネルギーを共有している (図 1d)⁷⁾。*low-energy chlorophyll* のトラップも緑色植物の中

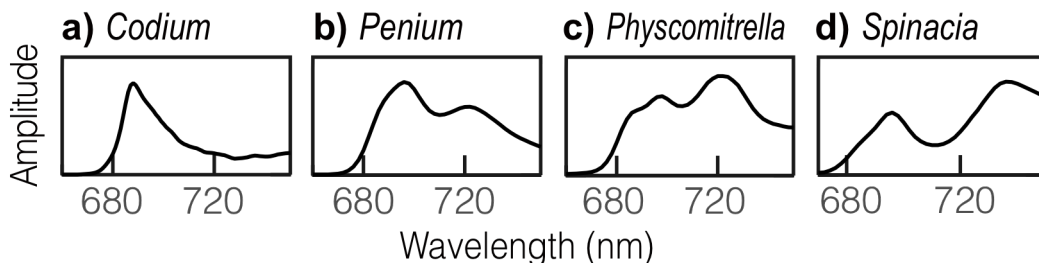


図 1. 緑色植物の遅延蛍光スペクトル (~20ns)

PSII 反応中心が液体窒素温度で励起エネルギーを受け取ると、一定の確率で電荷再結合が起こり、PSII 反応中心に励起エネルギーが遅れて発生する。この遅れて発生した励起エネルギー由来のクロロフィル蛍光の波長分布を解析したものが遅延蛍光スペクトルで、PSII 反応中心を直接励起したあとの励起エネルギーの分布を知ることが出来る。PSII が PSI と結合して励起エネルギーを伝達しているときだけ、PSII 由来の遅延蛍光が PSI の波長領域 (>720nm) から観測される。

では最も深く、740nm 付近に蛍光極大を示す。また強光下では、全 PSII の約 70% が PSI-PSII 超複合体を形成する⁷⁾。このことは高等植物が、PSII と PSI の励起エネルギーのバランスをとる上でも、光防御の観点からも、PSI-PSII 超複合体に大きく依存していることを示唆している¹⁵⁾。

3. 高等植物の PSI-PSII 超複合体の構造

高等植物において PSII と PSI がどのように結合しているかについては、様々なモデルが提唱されてきた。そのうちの 하나가、複数の LHCII trimer で構成される島に PSII と PSI が結合するというモデル (bridged-type) である^{16,17)}。LHCII trimer は PSII と PSI の両方に結合する性質を持つため、これは受け入れられやすいモデルであった。

しかしその後、シロイヌナズナから 2 種類の PSI-PSII 超複合体が精製された。1 種類目は 690kDa 程度のサイズで、PSI core と PSII monomer で構成され、20 ピコ秒で PSII と PSI の間での励起エネルギー移動が起きていた (smaller PSI-PSII complex)⁷⁾。このことは、PSI と PSII のコア同士が直接結合するタイプの PSI-PSII 超複合体の存在を示唆している。2 種類目は 2400kDa 以上の大きさで、PSI と PSII が 1:1 の比率で結合し、LHCII M-trimer と LHCII L-trimer が結合していた (larger PSI-PSII megacomplex)⁷⁾。そして、この larger PSI-PSII megacomplex においても、PSII と PSI の間でのエネルギー移動は 20 ピコ秒で起きていた。

LHCII trimer 同士の間でのエネルギー移動は 150 ピコ秒程度かかると見積もられているため¹⁸⁾、もし larger PSI-PSII megacomplex において PSII と PSI の間に LHCII trimer の島が挟まれていると、観測された 20 ピコ秒のエネルギー移動を説明できない⁷⁾。これらの結果から筆者らは、PSI core と PSII core が直接結合し、その周りに LHCII trimer が結合する、direct-type の PSI-PSII 超複合体の存在を提案した^{7,15)}。これらの結果は、bridged-type の存在を否定するものではないが、シロイヌナズナの葉において PSII と PSI の間のエネルギー移動が 50 ピコ秒程度で観測されていることからすると⁷⁾、少なくともシロイヌナズナにおいてはエネルギー移動に数百ピコ秒かかると予想される bridged-type が多く存在する可能性は低い。

Direct-type の PSI-PSII 超複合体の存在は、精製した PSI-PSII 超複合体の電子顕微鏡解析の結果とも矛盾しない。図 2 上はアガロースを担体にした native page によって精製されたシロイヌナズナの larger PSI-PSII megacomplex の電子顕微鏡写真の例である。形状には多数のバリエーションがあるが、その 7 割以上は、PSII dimer を 2 つの PSI-LHCI が 2 回転対称で挟み込み、そのまわりを LHCII trimer が取り囲むモデルで説明がつく (図 2 下)¹⁵⁾。このモデルは、PSII と PSI の間の高速な励起エネルギー移動や⁷⁾、複数の LHCII から PSI への高速なエネルギー移動^{19,21)}を説明できる。

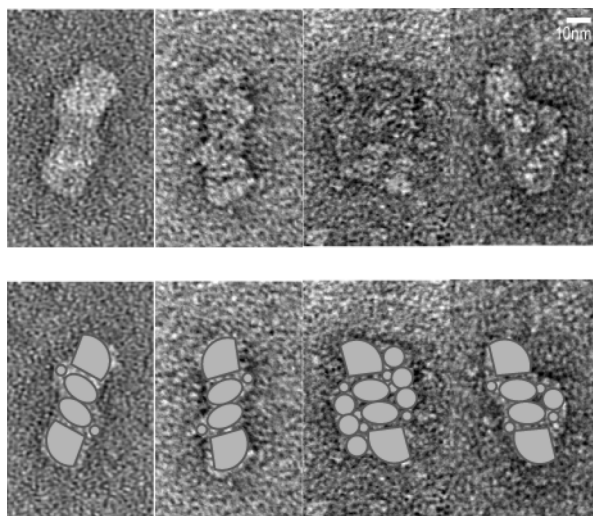


図 2. シロイヌナズナの larger PSI-PSII megacomplex の電子顕微鏡写真の例

個々の粒子の外形はバリエーションに富んでおり、数百個とって初めて同じ外形のものが見つかる程度だが、長辺と短辺の角度などに一定の規則が見いだされた。この特徴は、基本となる構造 (PSII dimer を 2 つの PSI-LHCI が対称に挟み込む) のまわりに LHCII trimer が付いたり付かなかったりすることで説明がつく。上は個々の粒子の写真、下はそこにモデルを重ね合わせたもの。楕円が PSII monomer、扇型が PSI-LHCI、小円が minor LHCII、大円は LHCII trimer。

4. 高等植物の PSI-PSII 超複合体の機能

高等植物の PSI-PSII 超複合体では、LHCII が受け取ったエネルギーはすべて PSI または PSII に伝達され、PSI と PSII の間で励起エネルギーが 6:4 の割合で共有される⁷⁾。強光などにより PSII が closed になると、全エネルギーは PSI にトラップされる。PSI は少なくとも 2 種類の光防御機構を備えており、そのうちの一つは low-energy chlorophyll から P700⁺へのエネルギー移動を介したクエンチングである⁹⁻¹²⁾。シロイヌナズナから精製した PSI-PSII 超複合体のクロロフィル蛍光の平均寿命は、P700⁺が蓄積する条件では 20%以上早くなる (表 1)。このことは、高等植物の PSI-PSII 超複合体が、P700⁺を介して励起エネルギーを熱に変換できることを示している。PsbS などによる PSII の励起エネルギーの消去機構は、PSI への電子伝達を抑制し P700⁺の蓄積を助けるから、間接的に PSI-PSII 超複合体におけるクエンチングを促進することになる。筆者らの見積もりでは、強光下のシロイヌナズナでは、最大 7 割のクロロフィルが PSI-PSII 超複合体に結合して PSI による光防御を受けることができる¹⁵⁾。チラコイド膜全体で見たときの PSII と PSI の励起エネルギーのバランスは、PSII が open の時は 1.4:1、PSII が closed の時は 1:2.3 になる¹⁵⁾。この 3 倍を超えるバランスの変化は、一度 PSI-PSII 超複合体が形成されれば PSII の open/closed に依存して瞬時に切り替わるから、陸上の変動の大きい光環境にはうってつけであろう。

5. おわりに

本稿では direct-type の PSI-PSII 超複合体について主に紹介した。PSII と PSI の間でのスムーズなエネルギーの共有は、PSI による光防御機構の効率を高める上では不可欠である。しかし、PSII と PSI に励起エネルギーを分配する目的なら bridged-type も有用であろう。緑色植物は強光環境だけでなく弱光環境にも適応して多様な種に進化してきた。モデル生物にとどまらず多様な種を研究対象にすることで、未知の環境適応機構が明らかにされていくことを願っている。

表 1. シロイヌナズナの larger PSI-PSII megacomplex の蛍光減衰の時定数 (77K)

	平均寿命 (ns)	減衰の第一成分 (ns)	減衰の第二成分 (ns)
P700	2.29	0.23	2.42
P700 ⁺	1.76	0.19	1.95

謝辞

先祖型緑藻のサンプルを提供して下さった功刀基博士に御礼申し上げます。本研究は、JST CREST の支援を受けたものです。

Received Mar 8, 2018; Accepted Mar 22, 2018; Published April 30, 2018.

参考文献

- Liu, H., Zhang, H., Niedzwiedzki, D.M., Prado, M., He, G., Gross, M.L. and Blankenship, R.E. (2013) Phycobilisomes Supply Excitations to Both Photosystems in a Megacomplex in Cyanobacteria. *Science* 342, 1104–1107.
- Yokono, M., Murakami, A., and Akimoto, S. (2011) Excitation energy transfer between Photosystem II and Photosystem I in red algae: Larger amounts of phycobilisome enhance spillover. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1807, 847–853.
- Kowalczyk, N., Rappaport, F., Boyen, C., Wollman, F.-A., Collén, J. and Joliot, P. (2013) Photosynthesis in *Chondrus crispus*: The contribution of energy spill-over in the regulation of excitonic flux. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1827, 834–842.
- Iwai, M., Yokono, M., Inada, N. and Minagawa, J. (2010) Live-cell imaging of photosystem II antenna dissociation during state transitions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 2337–2342.
- Tokutsu, R., Kato, N., Bui, K.H., Ishikawa, T. and Minagawa, J. (2012) Revisiting the supramolecular organization of photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Biol. Chem.* 287, 31574–31581.
- Kunugi, M. et al. (2016) Evolution of Green Plants Accompanied Changes in Light-Harvesting Systems. *Plant Cell Physiol.* 57, 1231–1243.
- Yokono, M., Takabayashi, A., Akimoto, S. and Tanaka, A. (2015) A megacomplex composed of both photosystem reaction centres in higher plants. *Nat.*

- Commun.* 6, 6675.
8. Ballottari, M. et al. (2014) Regulation of photosystem I light harvesting by zeaxanthin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, E2431–E2438.
 9. Joly, D. and Carpentier, R. (2007) Regulation of energy dissipation in photosystem I by the redox state of the plastoquinone pool. *Biochemistry* 46, 5534–5541.
 10. Tiwari, A. et al. (2016) Photodamage of iron–sulphur clusters in photosystem I induces non-photochemical energy dissipation. *Nat. Plants* 2, 16035.
 11. Schlodder, E., Hussels, M., Çetin, M., Karapetyan, N.V. and Brecht, M. (2011) Fluorescence of the various red antenna states in photosystem I complexes from cyanobacteria is affected differently by the redox state of P700. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1807, 1423–1431.
 12. Shubin, V.V., Bezsmertnaya, I.N., Karapetyan, N.V. (1995) Efficient energy transfer from the long-wavelength antenna chlorophylls to P700 in photosystem I complexes from *Spirulina platensis*. *J. Photochem. Photobiol., B* 30, 153–160.
 13. Gerotto, C., Alboresi, A., Giacometti, G.M., Bassi, R. and Morosinotto, T. (2011) Role of PSBS and LHCSR in *Physcomitrella patens* acclimation to high light and low temperature. *Plant Cell Environ.* 34, 922–932.
 14. Iwai, M. and Yokono, M. (2017) Light-harvesting antenna complexes in the moss *Physcomitrella patens*: implications for the evolutionary transition from green algae to land plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 37, 94–101.
 15. Yokono, M. and Akimoto, S. (2018) Energy transfer and distribution in photosystem super/megacomplexes of plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 54, 50–56.
 16. 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.
 17. Tikkanen, M. and Aro, E.-M. (2012) Thylakoid protein phosphorylation in dynamic regulation of photosystem II in higher plants. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1817, 232–238.
 18. Caffarri, S., Broess, K., Croce, R. and van Amerongen, H. (2011) Excitation Energy Transfer and Trapping in Higher Plant Photosystem II Complexes with Different Antenna Sizes. *Biophys. J.* 100, 2094–2103.
 19. Bell, A.J., Frankel, L.K., Bricker, T.M. (2015) High Yield Non-detergent Isolation of Photosystem I-Light-harvesting Chlorophyll II Membranes from Spinach Thylakoids IMPLICATIONS FOR THE ORGANIZATION OF THE PS I ANTENNAE IN HIGHER PLANTS. *J. Biol. Chem.* 290, 18429–18437.
 20. Benson, S.L. et al. (2015) An intact light harvesting complex I antenna system is required for complete state transitions in *Arabidopsis*. *Nat. Plants* 1, 15176.
 21. Bos, I. et al. (2017) Multiple LHCI antennae can transfer energy efficiently to a single Photosystem I. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1858, 371–378.

PSI-PSII megacomplex in green lineage

Makio Yokono^{1,2,*}, Atsushi Takabayashi², Junko Kishimoto², Tomomichi Fujita³, Masakazu Iwai⁴, Akio Murakami⁵, Seiji Akimoto⁶, Ayumi Tanaka²

¹Nippon Flour Mills Co., Ltd., Innovation Center, ²Inst. Low Temp. Sci., Hokkaido Univ., ³Dept. Biol. Sci., Fac. Sci., Hokkaido Univ., ⁴Dept. Plant Microb. Biol., Univ. California, ⁵Kobe Univ. Res. Ctr. Inland Seas, ⁶Grad. Sch. Sci., Kobe Univ.

研究紹介

葉緑体の *ndhA* pre-mRNA のスプライシングに関与する
ペンタトリコペプチドリピート (PPR) タンパク質[§]

名古屋大学遺伝子実験施設

伊藤 綾花*, 杉田 護*

葉緑体 RNA が成熟する過程で、核コードの PPR タンパク質が重要な役割をはたしていることがわかってきた。しかし、植物種によっては数百個もある PPR タンパク質のうち、作用する標的 RNA 分子やその相互作用部位が解明されたものはわずかにすぎない。ここでは、葉緑体 NDH 複合体を構成する NdhA サブユニットの発現に関与する新規の PPR タンパク質を明らかにしたので、その研究成果を紹介する。

1. はじめに

シアノバクテリアを起源とする葉緑体は、核・細胞質とは異なる独自のゲノムと遺伝子発現システムを持っている。葉緑体遺伝子の発現は転写段階のみならず、転写後の RNA レベルで多様な制御を受ける¹⁾。葉緑体の場合、転写後の制御がとりわけ重要であるが、これを担う役者の大半は核ゲノムにコードされている。その中の主要な転写後制御因子として、ペンタトリコペプチドリピート (PPR) モチーフをもつタンパク質が注目されている。PPR モチーフは 2000 年に発見されたタンパク質モチーフで、35 アミノ酸からなり、真核生物に普遍的に存在する²⁾。PPR タンパク質は PPR モチーフを数個~30 個繰り返し持ち、陸上植物では大きなタンパク質ファミリーを構成している³⁾。シロイヌナズナとイネに 450 種以上、ヒメツリガネゴケに 100 種ほど、緑色藻類に 10~20 数種の PPR タンパク質が存在する⁴⁾。これまでの研究により、PPR タンパク質が RNA の C-to-U 編集、切断、安定化、スプライシング、翻訳などの葉緑体 mRNA の転写後制御に関与していることが報告されている (図 1)^{5,6)}。PPR タンパク質の N 末にオルガネラ移行配列があり、

ほぼすべての PPR タンパク質はミトコンドリアか葉緑体にインポートされる。シロイヌナズナの 450 種の PPR タンパク質のうち、葉緑体で働くと推定されるのは全体の 3 分の 1 (154 種)⁷⁾で、このうち機能が明らかにされたのは 40 種ほどである。ヒメツリガネゴケの全 PPR タンパク質のおよそ半分は葉緑体で働くものと推定されているが⁸⁾、これまでに機能が解明されたのはわずか 4 種にすぎない。*clpP-rps12* pre-mRNA の成熟とスプライシングにはたらく PpPPR_38⁹⁾、pre-tRNA の 5'末端形成にはたらく PpPPR_67 と 104¹⁰⁾、および pre-tRNA^{16c} (GAU) のスプライシングに関与する PpPPR_4¹¹⁾で、それ以外の葉緑体 PPR タンパク質の機能は不明である。当研究室では逆遺伝学的手法を用いてヒメツリガネゴケの PPR タンパク質の網羅的な機能解析を行っているが、筆者 (伊藤) は卒業研究として、5 種の PPR タンパク質の機能解析に取り組んだ。このうち、本稿では解析が最も進んだ PpPPR_66 の結果について簡単に紹介したい。なお詳細については近日出版予定の論文をご参照ください¹²⁾。

2. ヒメツリガネゴケの PPR タンパク質の機能解析

PpPPR_66 は 578 アミノ酸からなり、11 個の PPR モチーフを持つ葉緑体局在タンパク質で、

[§]第 8 回日本光合成学会年会 ポスター発表賞受賞論文

*連絡先 E-mail: ito@gene.nagoya-u.ac.jp

sugita@gene.nagoya-u.ac.jp

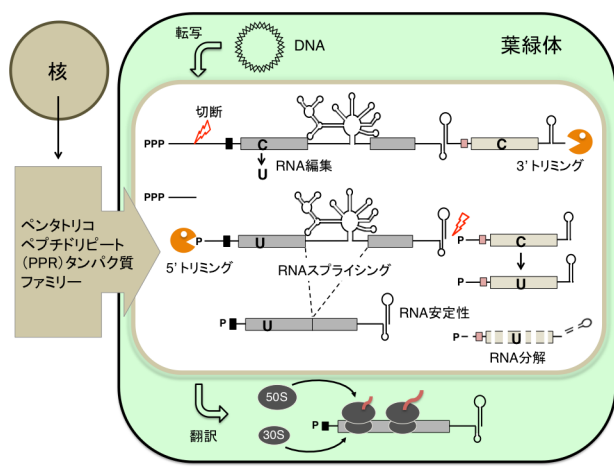


図 1. 葉緑体の転写後プロセスをまとめた概念図

葉緑体 DNA から転写された RNA 分子は様々なプロセッシングを受けて成熟 RNA になる。この転写後の RNA 制御に核コードのペンタトリコペプチドリピート (PPR) タンパク質ファミリーが関わっている。Sugita et al. (2016)⁶⁾ を改変。

PpPPR_66 ホモログがシロイヌナズナ、イネ、トウモロコシなどにも存在するがその機能は不明であった⁸⁾。そこで PpPPR_66 の機能解析を行なうため、遺伝子コード領域をそっくりハイグロマイシン耐性遺伝子カセットと置換した遺伝子破壊株 (KO 株) を作出した。しかし期待に反して、得られた KO 株の原糸体の生育および光合成能は野生株のものと同レベルであった (図 2 と表 1)。このような表現型をもつ KO 株については解析対象から外すのが一般であるが、とりあえず葉緑体遺伝子の RNA スプライシングに限定して解析することにした。

葉緑体にはイントロンをもつ 12 種のタンパク質遺伝子と 6 種の tRNA 遺伝子が存在する。スプライシング異常の有無を簡便に調べるため、イントロンを挟む前後のエキソンに位置するプライマーを用いて RT-PCR 解析を行なった。その結果、KO 株では *ndhA* のスプライシングが全くおこっていないことが判明した (図 3)。このことはノーザン解析の結果とも一致した (図 4)。葉緑体ゲノムには *ndhA*~*ndhK* まで 11 種の *ndh* 遺伝子が存在するが、*ndhA* を除く 10 種の *ndh* 遺伝子の発現レベルには全く影響が見られなかった。PpPPR_66 の全長 cDNA を KO 株に導入して得られた相補株では *ndhA* のスプライシングが野生型レベルまで回復したことから、*ndhA* のスプライ

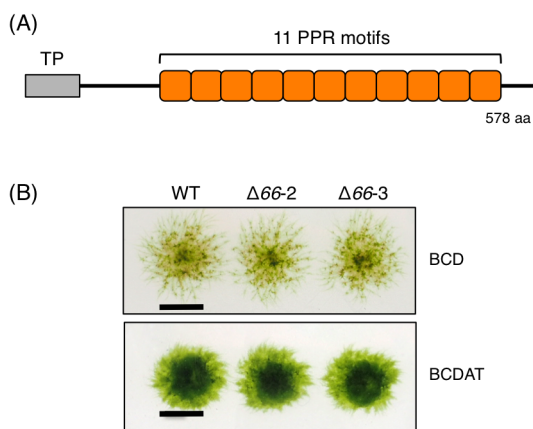


図 2. (A) PpPPR_66 タンパク質のモチーフ構成。葉緑体移行にはたらくトランジット配列 (TP) と 11 個の PPR モチーフからなる。(B) 野生株 (WT) と PpPPR_66 KO 株 ($\Delta 66-2$ と $\Delta 66-3$) を BCD 培地 (最小培地) と BCDAT 培地 (酒石酸ジアンモニウムを添加した BCD 培地) で 3 週間生育させた原糸体コロニー。スケールバーは 1 cm を表す。Ito et al. (2018)¹²⁾ を改変。

表 1. ヒメツリガネゴケ原糸体コロニーのクロロフィル蛍光パラメーター

パラメーター	野生株	KO 株 $\Delta 66-2$	KO 株 $\Delta 66-3$
ϕ PSII	0.448 ± 0.019	0.413 ± 0.013	0.428 ± 0.022
qP	0.675 ± 0.057	0.628 ± 0.033	0.630 ± 0.025
F_v/F_m	0.825 ± 0.050	0.828 ± 0.004	0.828 ± 0.008
NPQ	1.453 ± 0.294	1.488 ± 0.340	1.278 ± 0.386

ϕ PSII : 光化学系 II (PS II) 電子伝達量子収率、qP : 光化学消光、 F_v/F_m : PS II の最大クロロフィル蛍光量子収率、NPQ : 非光化学消光。

測定装置 : FluorCam 800MF (Photon System Instruments 社製)

測定条件 : 植え継ぎ後 3 週目のヒメツリガネゴケ原糸体コロニーを 10 分間暗所で順応させた後で測定した。 F_v は弱い赤色測定光を、 F_m は飽和パルス光 (1400 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for 0.8 s) をそれぞれ照射して測定した。飽和パルス光照射後に赤色励起光 (96 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を 1 分間照射した。

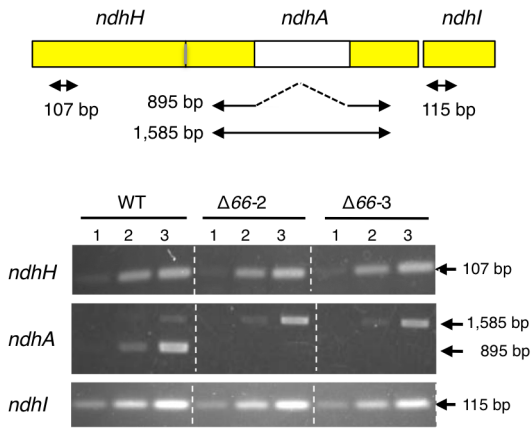


図 3. *ndhA* の RT-PCR 解析

895 bp 断片はイントロンがスプライシングで除かれた長さに相当し、1585 bp 断片はイントロンを含む長さに相当する。*PpPPR_66* KO 株 ($\Delta 66-2$ と $\Delta 66-3$) では 1585 bp 断片が検出されたが、895bp 断片は検出されなかった。レーン番号 1, 2, 3 は PCR 反応のサイクル数 26, 30, 34 をそれぞれ示す。Ito et al. (2018)¹²⁾ を改変。

シング欠損が *PpPPR_66* 遺伝子の欠失によるものであることが確認された¹²⁾。

3. *PpPPR_66* KO 株では NDH 複合体が形成されない

KO 株で *ndhA* pre-mRNA がスプライシングし

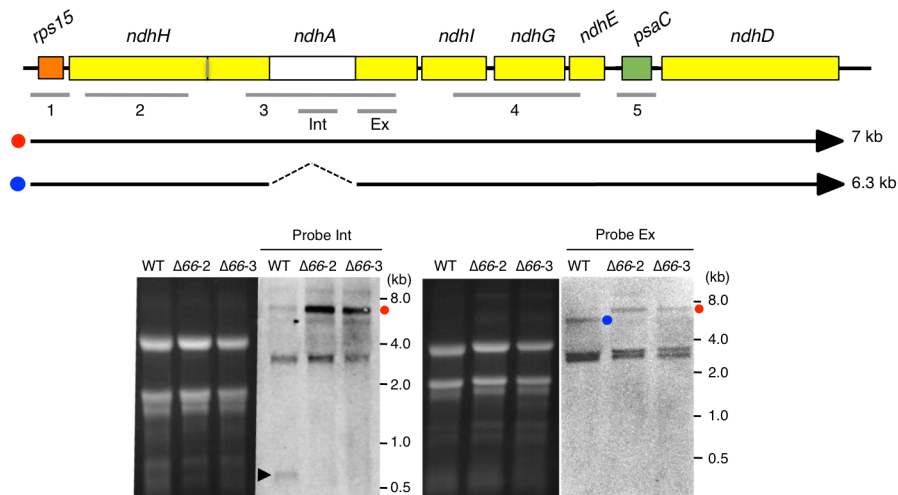


図 4. *ndhA* のノーザン解析

ノーザン解析に用いた 7 種類の DNA プロブのうち、プロブ Int とプロブ Ex の結果のみ示した。赤丸で示した 7 kb の RNA バンドは *PpPPR_66* KO 株 ($\Delta 66-2$ と $\Delta 66-3$) で強く、野生株で弱く検出された。青丸で示した 6.3 kb の RNA バンドは野生株で検出されたが、KO 株では検出されなかった。切り出されたイントロン (矢じり) も野生株で検出された。Ito et al. (2018)¹²⁾ を改変。

ないにもかかわらず、その表現型が一見野生株の表現型と似ていたことから、葉緑体の NDH 活性に影響が出ている可能性が考えられた。そこで、*PpPPR_66* KO 株における葉緑体 NDH 活性を調べることにし、京都大学の鹿内利治教授に測定を依頼した。Mini-PAM (WALZ)装置を使ったクロロフィル蛍光強度の測定を大学院生の加藤義宣氏に行っていただいたところ、予想通り葉緑体 NDH 活性を表す励起光オフ (AL off) 直後に現れるクロロフィル蛍光の一過的上昇が KO 株では観察されなかった (図 5 A)。葉緑体 NDH 活性が検出されなかったということは、葉緑体 NDH 複合体そのものが作られていない可能性を示している¹³⁾。この可能性を検討するため、当研究室の杉田千恵子によってイムノブロット解析が行われた。図 5 B に示したように、シトクロム *b₆f* 複合体のシトクロム *f* タンパク質 (Cyt*f*)、 H^+ -ATPase の β サブユニット (AtpB)、PSII の反応中心 D1 タンパク質 (PsbA) は野生株と KO 株ではほぼ同レベル蓄積していたのに対して、葉緑体 NDH 複合体の構成サブユニットである PnsB1 と NdhM がほとんど蓄積していなかった。このことは、*PpPPR_66* KO 株では葉緑体 NDH 複合体が形成されていないことを示している。

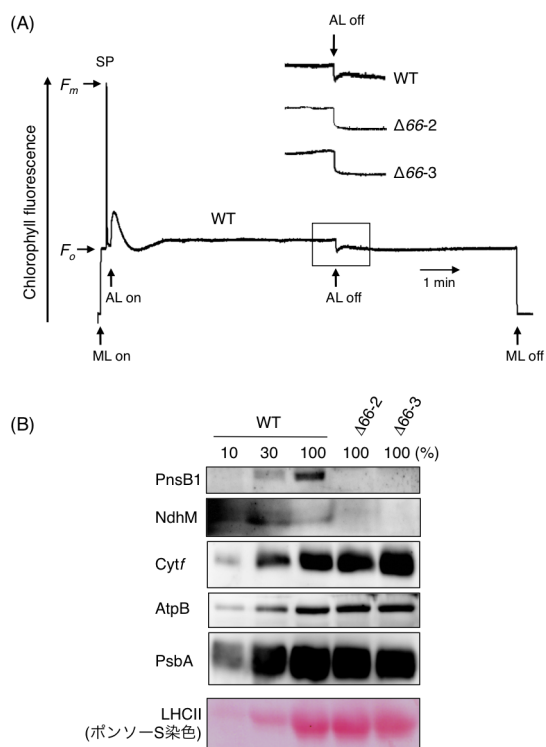


図 5. 葉緑体 NDH 活性の解析と葉緑体タンパク質のイムノプロット解析

(A) 野生株 (WT) と *PpPPR_66* KO 株 ($\Delta 66-2$ と $\Delta 66-3$) を 5 分間測定光 (AL, $50 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を照射し、測定光オフ直後のクロロフィル蛍光の一過的上昇を観察した。PAM クロロフィルフルオロメトリーを用いてモニターした。(B) KO 株では、NDH 複合体の構成サブユニットである PnsB1 と NdhM が検出されなかった。Ito et al. (2018)¹²⁾ を改変。

4. シロイヌナズナの *AtPPR66L* も葉緑体 *ndhA* のスプライシングに関与している

PpPPR_66 のオルソログは陸上植物に広く存在している。シロイヌナズナの *At2g35130* は *PpPPR_66* と同じ 11 個の PPR モチーフからなり、*PpPPR_66* のアミノ酸配列とは 44% の identity (81% の similarity) をもつ。本稿では *At2g35130* を便宜的に *AtPPR66L* と呼ぶが、*AtPPR66L* も *ndhA* のスプライシングに関わっている可能性が考えられた。スプライシングの解析に先立ち、*At2g35130* の T-DNA 挿入変異株 (SALK_043507 と SALK_065137) のクロロフィル蛍光量子収率と葉緑体 NDH 活性を京都大学の山本宏博士に調べていただいた。その結果、光合成電子伝達速度

(ETR)、クロロフィル蛍光の非光化学的消光 (NPQ)、光化学的消光 (qP) のいずれもが野生株とほぼ同じレベルであった¹²⁾。これに対して、葉緑体 NDH 活性の指標である、励起光オフ直後に生じるクロロフィル蛍光の一過的上昇は変異株では観察されなかった¹²⁾。そこでシロイヌナズナの T-DNA 挿入変異株について、*ndhA* のスプライシングを調べたところ、予想通り *ndhA* のスプライシングがまったく起っていないことが RT-PCR 解析とノーザン解析で観察された¹²⁾。以上の結果は、*PpPPR_66* と *AtPPR66L* が機能的に相同な PPR タンパク質であることを示している。

葉緑体 *ndhA* 遺伝子のイントロンは、緑色藻類の *ndhA* 遺伝子には存在しないが、車軸藻類と陸上植物の *ndhA* 遺伝子に存在することから、*PPR66L* もこれらの植物に普遍的に存在することが予想される。*ndhA* イントロンと *PPR66L* が共進化してきたことが示唆される。*PPR66L* とは別に、*ndhA* イントロンのスプライシングに関与または影響するタンパク質として、CHLOROPLAST RNA SPLICING 2 (CRS2)、CRS2-ASSOCIATED FACTOR 1 and 2 (CAF1 と CAF2)、CHLOROPLAST RNA SPLICING AND RIBOSOME MATURATION (CRM) FAMILY MEMBER 2 (CFM2) がトウモロコシやシロイヌナズナで知られている¹⁴⁾。これらのタンパク質は、*ndhA* イントロンだけでなく複数種の葉緑体 RNA イントロンのスプライシングにも関与している。これに対して、*PpPPR_66* は *ndhA* スプライシングに特異的に働く因子と言えるだろう。

5. *PpPPR_66* は *ndhA* イントロンに結合する

PPR タンパク質は標的となる特定の RNA に配列特異的に結合することが知られている⁵⁾。*PpPPR_66* が *ndhA* イントロンのスプライシングに関与していることから、*ndhA* イントロンに結合する可能性が考えられた。*ndhA* イントロンはグループ II イントロンに分類され、ドメイン I ~ VI からなる複雑な高次構造をとりうる (図 6)。*PpPPR_66* が *ndhA* イントロンに結合するかどうかを検証するため、組換え *PpPPR_66* タンパク質 (*rPPR66*) を用いた、*in vitro* の RNA 結合実験を

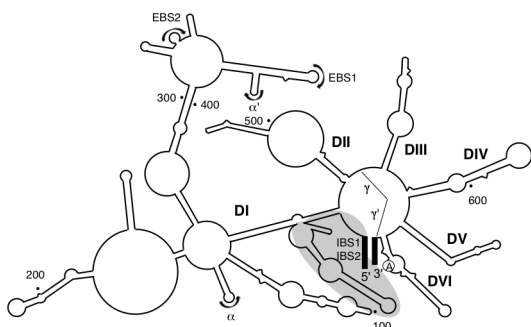


図 6. ヒメツリガネゴケの葉緑体 *ndhA* イントロン の推定二次構造と PpPPR_66 の結合領域 (灰色の部分)

イントロンのドメイン I (DI) ~VI (DVI) と、イントロン分子内の重要な相互作用部位 (IBS1, IBS2, EBS1, EBS2, α , α' , γ , γ') を図に示す。Ito et al. (2018)¹²⁾ を改変。

当研究室の一瀬瑞穂が行った。その結果、rPPR66 は *ndhA* イントロンの 5'末端領域に結合することが判明した¹²⁾。PPR モチーフの 5 番目と 35 番目のアミノ酸の組み合わせ (RNA 認識コード) で結合する RNA 塩基をある程度予測することができる^{15,16)}。この RNA 認識コードを手掛かりにして結合領域を調べたが、そのような配列は見いだされなかった。このことは PpPPR_66 が RNA の一次配列ではなく、グループ II イントロン内の複雑な高次構造を認識している可能性が考えられる。

6. おわりに

葉緑体 *ndhA* のスプライシングに関わる新しい因子としてヒメツリガネゴケの PpPPR_66 とシロイヌナズナの AtPPR66L を見いだした。しかし、シロイヌナズナの AtPPR66L をヒメツリガネゴケの PpPPR_66 KO 株に導入して得られた相補株が、予想に反して *ndhA* スプライシングを回復しないという奇妙な結果を観察した¹²⁾。このことは、AtPPR66L はシロイヌナズナの *ndhA* スプライシングには働くが、ヒメツリガネゴケの *ndhA* スプライシングには働かないことを示唆している。この理由として、種特異的な *ndhA* イントロン構造の違いや、介在する他のスプライシング因子の違

いによることが考えられる。今後明らかにすべき課題である。

本稿では触れなかったが、ヒメツリガネゴケには PpPPR_66 のパラログとして PpPPR_72 が存在する。両者の相同性は高く、アミノ酸配列で 73% identity あり、11 個の PPR モチーフの RNA 認識コードもほぼ同じである。このことから、両者は同じ機能をもつと当初予想された。しかし、本研究の結果から PpPPR_72 は PpPPR_66 とは機能的に異なっている可能性が示唆された。修士修了までには PpPPR_72 の機能を明らかにしたい。本稿を読まれた皆様からのご意見やご教授をいただければ幸いです。

謝辞

PpPPR_66 の機能解析は、京都大学の鹿内利治教授と鹿内研究室の山本宏博士、加藤義宣博士ならびに名古屋大学遺伝子実験施設の杉田千恵子博士、名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (WPI-ITbM) の一瀬瑞穂博士との共同研究として行われたものです。これらの方々には深く感謝申し上げます。また、抗体を提供していただいた久堀徹教授 (東京工業大学)、牧野周教授 (東北大学)、遠藤剛博士 (京都大学) に感謝いたします。本研究は日本学術振興会科学研究費補助金 (15K14917, 17K08195) の支援を受けたものです。

Received February 9, 2018; Accepted February 15, 2018;
Published April 30, 2018

参考文献

1. Sugita, M. and Sugiura, M. (1996) Posttranscriptional regulation of plastid gene expression in higher plants. *Plant Mol. Biol.* 32, 315–326.
2. Small, I.D. and Peeters, N. (2000) The PPR motif – a TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins. *Trends Biochem. Sci.* 25, 46–47.
3. Lurin, C., Andrés, C., Aubourg, S., Bellaoui, M., Bitton, F., Bruyère, C., Caboche, M., Debast, C., Gualberto, J., Hoffmann, B., Lecharny, A., Le Ret, M., Martin-Magniette, M.L., Mireau, H., Peeters, N., Renou, J-P., Szurek, B., Taconnat, L. and Small, I.

- (2004) Genome-wide analysis of Arabidopsis pentatricopeptide repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis. *Plant Cell* 16, 2089–2103.
4. Tourasse, N. J., Choquet, U. and Vallon, O. (2013) PPR protein of green algae. *RNA Biol.* 10, 1526–1542.
 5. Barkan, A. and Small, I. (2014) Pentatricopeptide repeat proteins in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65, 415–442.
 6. Sugita, M., Uchiyama, H., and Ichinose, M. (2016) RRM and PPR proteins network as a global regulator for plastid RNA metabolism. *Endocytobiosis Cell Res.* 27, 41–44.
 7. Colcombet, J., Lopez-Obando, M., Heurtevin, L., Bernard, C., Martin, K., Berthomé, R., Lurin, C. (2013) Systematic study of subcellular localization of Arabidopsis PPR proteins confirms a massive targeting to organelles. *RNA Biol.* 10, 1557–1575.
 8. Sugita, M., Ichinose, M., Ide, M. and Sugita, C. (2013) Architecture of the PPR gene family in the moss *Physcomitrella patens*. *RNA Biol.* 10, 1439–1445.
 9. Hattori, M., Miyake, H. and Sugita, M. (2007) A pentatricopeptide repeat protein is required for RNA processing of *clpP* pre-mRNA in moss chloroplasts. *J. Biol. Chem.* 282, 10773–10782.
 10. Sugita, C., Komura, Y., Tanaka, K., Kometani, K., Satoh, H. and Sugita, M. (2014) Molecular characterization of three PRORP proteins in the moss *Physcomitrella patens*: nuclear PRORP protein is not essential for moss viability. *PLoS ONE* 9, e108962.
 11. Goto, S., Kawaguchi, Y., Sugita, C., Ichinose, M. and Sugita, M. (2016) P-class pentatricopeptide repeat protein PTSF1 is required for splicing of the plastid pre-tRNA^{Leu} in *Physcomitrella patens*. *Plant J.* 86, 493–503.
 12. Ito, A., Sugita, C., Ichinose, M., Kato, Y., Yamamoto, H., Shikanai, T. and Sugita, M. (2018) An evolutionarily conserved P-subfamily pentatricopeptide repeat protein is required to splice the plastid *ndhA* transcript in the moss *Physcomitrella patens* and *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* DOI: 10.1111/tpj.13884.
 13. Shikanai, T. (2016) Chloroplast NDH: A different enzyme with a structure similar to that of respiratory NADH dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta* 1857, 1015–1022.
 14. Schmitz-Linneweber, C., Lampe, M-K., Sultan, L.D. and Ostersetzer-Biran, O. (2015) Organellar maturases: A window into the evolution of the spliceosome. *Biochim. Biophys. Acta* 1847, 798–808.
 15. Barkan, A., Rojas, M., Fujii, S., Yap, A., Chong, Y.S., Bond, C.S. and Small, I. (2012) A combinatorial amino acid code for RNA recognition by pentatricopeptide repeat proteins. *PLoS Genet.* 8, e1002910.
 16. Yagi, Y., Hayashi, S., Kobayashi, K., Hirayama, T. and Nakamura, T. (2013) Elucidation of the RNA recognition code for pentatricopeptide repeat proteins involved in organelle RNA editing in plants. *PLoS ONE* 8, e57286

A pentatricopeptide repeat (PPR) protein is involved in splicing of chloroplast *ndhA* pre-mRNA

Ayaka Ito*, Mamoru Sugita*

Center for Gene Research, Nagoya University

解説特集

変動する光量への光合成機能の調節

Editor: 古本 強 (龍谷大学 農学部)

序文	古本 強 (龍谷大)	27
解説 環境変動に対する気孔と光合成の応答	木村 遼希、寺島 一郎、矢守 航 (東京大)	29
解説 レドックスを基盤とした葉緑体の機能統御ネットワーク	吉田 啓亮 (東京工業大)	39
解説 <i>Flaveria</i> 属における C ₄ 型光合成の進化過程	谷口 幸美 (関西学院大)	51

解説特集

序文[‡]

龍谷大学 農学部 植物生命科学科

古本 強¹

雲などの気象条件や陰となるものの影響で、植物は常に「浮動する光量 (Fluctuating Light)」の中で生きています。光は光合成のエネルギーのもとであり植物にとって必須なものでありながら、一方でそれが過剰な場合には葉緑体内に余分な酸化力を生じかねません。必要でもありまた状況においては不要ともなる両面性を有しています。植物がこの光量変動に対し適切に応答するメカニズムを発達させていたとしても不思議ではありませんが、これまで一般的な研究条件として採用されてきた一定の光量で育てる生育条件では、この応答能力は過小評価されている可能性があります。光合成を行う各ステップにおいて、光量に応じた応答を示してしかるべきですし、また、従来から調べられ、一定の光の条件では表現型を示さなかった変異体なども、変動光条件下で再調査すれば、強い表現型を示すかもしれません。一例を挙げると、循環型電子伝達にかかわる **PGR5** について、そのシロイヌナズナ変異体の *pgr5* は、一定の光強度で育てられた場合には強光下においてのみ生育抑制を示します。一方で、光量変動する環境であれば弱光条件においても生育抑制を示します。この結果は、**PGR5** の関わる循環型電子伝達が、光量変動に重要な機能を果たしていることを示しています。この例に顕れるように、十分に調査されていないだけで、植物には光量に応じて適応する能力が備わっていると考えて矛盾はありません。その能力については、光合成生理、組織学、細胞生理学、生化学、分子生物学、生物物理学などの各学問領域の観点から再評価されるべきでしょうし、また、進化学的な側面からも検討されてしかるべきです。

近年、先に述べた *pgr5* 変異体を筆頭にこの変動する光量への植物の応答性に着目した研究が報告されはじめていますが、この勃興期にあたり、生理的側面、生化学的側面、そして進化学的側面のそれぞれから、どこに着目し、どのように研究を進めるべきか、改めて第一人者の見識を示してもらうことは、光合成を研究するものにとってとても有用なことであると考えました。

こうした背景のなかで、2017年5月27日に龍谷大学の瀬田キャンパスにおいて開催された第8回日本光合成学会のシンポジウム2「変動する光量への光合成機能の調節」において、先の3つの分野を代表し活躍する3名の研究者に登壇いただき、最新の知見について紹介いただく機会を持ちました。光環境変動への生理応答について、東京大学の矢守航先生から「光環境の変動に対する光合成制御メカニズム」、東京工業大学の吉田啓亮先生から「葉緑体を統御するレドックス制御ネットワーク」、そして関西学院大学の谷口幸美先生から「*Flaveria* 属における C4 型光合成の段階的成立」と題して講演をいただきました。それぞれ生理学・生化学・細胞組織の機能分化における進化的側面、の3つの異なる観点からの講演でした。光量変動は分単位で変化します。これに応答するメカニズムも同様に分単位あるいは秒単位で応答すると想定され、この時間範囲での生理応答や生化学適応等について前2者はとりまとめてくださいました。また、こうした応答性は進化的に獲得されるものなので、進化という長い時間スケールで獲得されていく細胞組織の分業について、後者に講演いただきました。

[‡]解説特集「変動する光量への光合成機能の調節」¹連絡先 E-mail: tfurumoto@agr.ryukoku.ac.jp

光エネルギーをいかにうまく獲得するかが植物の命題の一つです。植物の光環境応答戦略の巧みさを、本稿をお読みになる読者の方々に実感いただければ、本稿の目的は達したと思います。それに加えて、これまで十分には評価されてこなかった変動光応答能力について、それぞれの光合成研究にどのように位置づけられるかを考えていただくきっかけになれば、シンポジウムおよび特集記事を組んだものとしての望外の喜びです。

最後に、本特集の編集にあたっては、年度末のお忙しい中、執筆者各位・査読者各位には大変お世話になりました。この場を借りてお礼申し上げます。

解説

環境変動に対する気孔と光合成の応答[†]

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻 植物生態学研究室
木村 遼希^{*}、寺島 一郎、矢守 航

気孔は一对の孔辺細胞からなり、植物体内と外界との間のガス交換バルブの役割を担う。植物はこの気孔から二酸化炭素 (CO₂) を体内に取り込むと同時に、体内の水分を蒸散によって失っている。気孔は様々な環境要因に応答して、その開度を調節している。例えば、乾燥時には気孔は閉じ、水分の損失を防ぐ。一方、光合成を活発に行えるような条件では、気孔は開き、CO₂ を取り込む。気孔は、陸上植物にとって、光合成の基質である CO₂ のほぼ唯一の取り込み口であるため、気孔と光合成との関係は古くから研究されてきた。本稿では、これまでに明らかにされてきた気孔開閉の分子メカニズムに関する知見と、様々な環境条件下の気孔動態と光合成応答との関係性を最新の知見を含め紹介する。

1. はじめに

植物が陸上に進出する際に直面した大きな問題は、いかに水分を保持しつつ、CO₂ を吸収するか、ということである。陸上植物は、このジレンマを根本的に解決することはできなかったが、その妥協点として気孔をもつに至った。気孔は、表皮の一对の孔辺細胞により構成され、葉内と外界とのガス交換バルブの役割を果たす。この気孔が様々な環境条件に応答して適切に開度を調節することで、陸上植物は水分の損失をおさえつつ、光合成に必要な CO₂ を葉内に取り込むことができる。

気孔から葉内へと進入した CO₂ は、ルビスコによってカルビンサイクルに取り込まれた後、チラコイド膜で合成された ATP や還元力によってトリオースリン酸となり、糖やデンプンの合成に用いられる。しかし、ルビスコの CO₂ に対する親和性は極めて低い。加えて、ルビスコは、CO₂/O₂ 濃度比に応じてカルボキシレーション反応と競争的に起こるオキシゲネーション反応も触媒する。その産物の一つが、カルビンサイクル中のトリオースリン酸イソメラーゼを阻害するホスホ

グリコール酸である。このホスホグリコール酸を代謝し、炭素を回収する光呼吸経路の駆動には ATP や還元力が必要である。したがって、ルビスコ周辺の CO₂ 濃度は光合成の効率に非常に大きな影響を与えている。

葉緑体が CO₂ への化学走性を示すことは古くから示唆されている¹⁾。また、葉肉細胞において、葉緑体が細胞膜の細胞間隙に面する部分に集合すること^{2,3)}や、呼吸や光呼吸で放出される CO₂ を再固定できるように、細胞間隙をすき間なく埋めつくす配置をとること⁴⁾も報告されている。これらは葉緑体に CO₂ をより効率的に供給することに役立つと考えられる。気孔から葉内に入った CO₂ は、葉緑体まで拡散する。気孔腔から葉緑体までの拡散のしやすさを葉肉コンダクタンスと呼び、葉肉コンダクタンスは、乾燥、CO₂ 濃度、温度等に応答して変化することが知られている。CO₂ 応答の程度は植物種によって異なる^{5,6)}が、よく応答する種においては、葉内 CO₂ 濃度が低いと葉肉コンダクタンスは上昇し、逆に葉内 CO₂ 濃度が上昇すると葉肉コンダクタンスは低下する傾向がある⁶⁻⁸⁾。このことは、葉内 CO₂ 濃度が低い状況下で、葉緑体への CO₂ 供給効率が高められていることを示している。このように、植物にとって葉緑体、そしてルビスコに CO₂ を効率よく

[†]解説特集「変動する光量への光合成機能の調節」

^{*}連絡先 E-mail: hkimura@bs.s.u-tokyo.ac.jp

供給することは極めて重要な課題であると言える。気孔応答についても、いかに効率よくルビスコへ CO₂ を供給するのか、という側面から解析することができる。このようなアプローチは、光合成、そして植物の在り方を考えるうえで有用である。

光合成と気孔開度の関係については古くから研究されている。特に、一定の強さの定常光のもとで詳細な研究がなされてきた。最近では、より野外の光環境に近い変動光に対する光合成や気孔応答に関する研究報告も増えてきており、実際に野外に生育する植物の実態に近い知見が得られ始めている。本稿では、これまでに明らかになってきた気孔の環境応答の分子メカニズムについて解説するとともに、気孔と光合成との関係について様々な環境条件下で得られた知見を、著者らの最新の研究成果を含め、紹介する。

2. 気孔の環境応答メカニズム

気孔開度は植物内部の生理学的な要因と外界の環境要因の両方によって制御される。気孔が開く際には、活性化された細胞膜型 H⁺-ATPase のはたらきによって細胞膜の過分極が起こり、電位依存的な内向き K⁺チャネルが活性化され、孔辺細胞の水ポテンシャルが低下する。この結果、吸水が起こり、膨圧が上昇して孔辺細胞が膨張することで気孔が開く。一方、気孔が閉じる際には、陰イオンチャネルが活性化し、リンゴ酸イオンや Cl⁻などの陰イオンが流出して細胞膜の脱分極が起こる。脱分極によって外向きの K⁺チャネルが活性化され、K⁺も流出し、孔辺細胞の水ポテンシャルは上昇する。結果として、水が外に出ていき、膨圧が低下して気孔は閉じる。どのような環境シグナルに対しても、基本的な気孔開閉のしくみは同じであり、植物は H⁺-ATPase の上流に異なるシグナル伝達経路を持つことで多様な環境に応答している。以下に、様々な環境要因に対する気孔開閉の分子メカニズムを紹介する。

1) 青色光応答

光に対する気孔応答において、青色光受容体であるフォトトロピンの関与する青色光経路がよ

く知られている。フォトトロピンが青色光を受容すると、自己リン酸化により活性化し、そのシグナルが BLUS1 (BLUE LIGHT SIGNALING 1) キナーゼ⁹⁾ や PP1 (TYPE 1 PROTEIN PHOSPHATASE)等の因子を経て¹⁰⁾、孔辺細胞の細胞膜型 H⁺-ATPase を活性化する^{11,12)}。シロイヌナズナでは、11種類の細胞膜型 H⁺-ATPaseのうち、AHA1 (*Arabidopsis* H⁺-ATPase 1)が青色光シグナルによる気孔開口に大きな役割を果たす¹³⁾。これらの応答の結果、細胞膜は過分極を起し、内向き K⁺チャネルの活性化を経て、吸水が起こり、膨圧が上昇して気孔が開く。

2) CO₂ 応答

基本的には、CO₂ 濃度が低ければ気孔は開き、CO₂ 濃度が高ければ気孔は閉じる傾向にある。タマネギの葉を用いた実験により、気孔は、葉の外部ではなく、葉の内部の細胞間隙 CO₂ 濃度に応答することが明らかにされた^{14,15)}。低 CO₂ 下では、HT1 (HIGH LEAF TEMPERATURE 1) キナーゼが細胞膜型 H⁺-ATPase の活性化を介して細胞膜の過分極に寄与する¹⁶⁾。この際、シロイヌナズナでは、動物神経細胞における神経伝達因子と同じドメインを保持する PATROL1 (PROTON ATPase TRANSLOCATION CONTROL 1)が、細胞膜型 H⁺-ATPase の孔辺細胞細胞膜への局在を助けることで、H⁺のアポプラストへの汲み出しを促進すると考えられている^{17,18)}。この結果、内向き K⁺チャネルの活性化を経て、吸水が起こり、膨圧が上昇して気孔が開く。

一方、高 CO₂ 下では、SLAC1 (SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1) チャネルが、OST1 (OPEN STOMATA 1) キナーゼによってリン酸化を受けて活性化し、Cl⁻などの陰イオンの汲み出しが促進される¹⁹⁾。結果として、細胞膜の脱分極を引き起こし、外向き K⁺チャネルの活性化を経て、水の排出が起こり、膨圧が低下して気孔が閉じる。

3) 乾燥応答

水分条件も気孔開度を制御する一因となる。空気が乾燥している条件下では気孔は閉鎖

し、水分の損失を抑える。この応答には植物ホルモンの1種であるアブシジン酸 (ABA) が関与している。植物体の根や葉が乾燥を感知すると、それぞれの器官の色素体でゼアキサンチンなどのカロチノイドを經由してキサントキシンが合成され、その後、サイトゾルにおいて、キサントキシンから ABA が合成される^{20,21)}。ABA は孔辺細胞に作用して、SLAC1 などの外向きの陰イオンチャンネルと外向き K⁺チャンネルを活性化し、内向き K⁺チャンネルと細胞膜型 H⁺-ATPase の活性を阻害することで細胞膜の脱分極を引き起こし、気孔閉鎖を促進する²²⁾。トウモロコシやヒマワリでは、土壌の乾燥に応答して根で生成された ABA が、蒸散流によって葉に運ばれ、気孔に作用することが知られている²³⁾。しかし、シロイヌナズナやトマトの変異体の接ぎ木実験では、否定的な結果も得られている²¹⁾。

微小ガラス管を用いて個々の気孔に乾燥空気を吹き付ける実験から、気孔閉鎖応答は気孔そのものが乾燥を感知することによっても引き起こされると報告されている²⁴⁾。その際、気孔は湿度そのものではなく蒸散速度を感知していることが、空気中の N₂ を He に置き換えたヘロックス (ヘロックス中では、水蒸気の拡散速度は空気中の 2.3 倍になる) を用いた実験により示された²⁵⁾。加えて、気孔開度が一定ならば蒸散速度は飽差の大きさに比例して増加することを考慮すると、気孔の乾燥応答においては、相対湿度よりも飽差が重要なシグナルであると言える²⁶⁾。

4) 気孔開度の調節に対する光合成の寄与

光に対する気孔応答には、前述のフォトトロピンが関与する青色光経路の他に、赤色光経路と呼ばれるものがある。この応答には、孔辺細胞や葉肉細胞における光合成が関与すると考えられている。

孔辺細胞は、葉肉細胞と比較してデンプンや PEP カルボキシラーゼの量が多い³⁰⁾。葉に光が当たると、孔辺細胞の葉緑体でも光合成が起こり、トリオースリン酸が作られる。このトリオースリン酸からは、スクロースが合成されるほか、PEP カルボキシラーゼやリンゴ酸デヒドロゲナーゼ

のはたらきによりリンゴ酸が合成される。また、デンプンの分解によって、スクロースやリンゴ酸が合成される。これらの物質は孔辺細胞内に蓄積し、水ポテンシャルの低下に寄与する³⁰⁾。

また、葉肉細胞の光合成の寄与に関しては、表皮の剥離が容易なツクサ科の植物を用いて研究が行われてきた。Lee and Bowling (1992) は、ツクサの生葉と単離表皮では気孔の光に対する応答性が異なることを示した³¹⁾。さらに、剥離表皮を浮かべたバッファー内に単離した葉肉細胞を加えて光を照射すると、表皮の気孔開度が上昇することも明らかにした。これらの結果は、葉肉からの何らかのシグナルが気孔応答に関与していることを示唆する。また、ツクサ科植物の葉の表皮を剥離し、再び葉肉組織上に置いたサンプルは、剥離表皮のみの場合と比較して、光や CO₂ に対する気孔応答が促進した^{32,33)}。さらに Fujita *et al.* (2013) では、表皮と葉肉との間にセロファンをはさむことで、葉肉からの水溶性のシグナルが気孔開閉の両方の応答に重要であることを示した³³⁾。この葉肉細胞からの気孔応答のシグナル因子は、フマル酸やリンゴ酸が候補であると提案されている³⁴⁾。これらの一連の研究結果は、孔辺細胞や葉肉細胞における光合成が気孔開度を制御していることを示す。

以上のように、気孔の開閉は様々な環境シグナルに適切に応答することで調節されている (図 1)。

3. 定常光下の光合成における気孔の寄与

定常状態における光合成速度は、ルビスコ活性、RuBP 再生速度、リン酸再生供給速度のいずれかによって律速される^{35,36)}。どの条件によって律速されるかは光強度や葉緑体内の CO₂ 濃度によって変わり、ルビスコ活性や RuBP 再生速度によって律速されている場合には、CO₂ 濃度に依存して光合成速度が変動することが知られている。CO₂ 濃度が高ければルビスコが CO₂ に結合する可能性が高くなるため、カルボキシレーション反応が促進されるだけでなく、オキシゲネーション反応が起こりにくくなり、エネルギーや還元力の無駄な消費を抑えることができる。また、カルビンサ

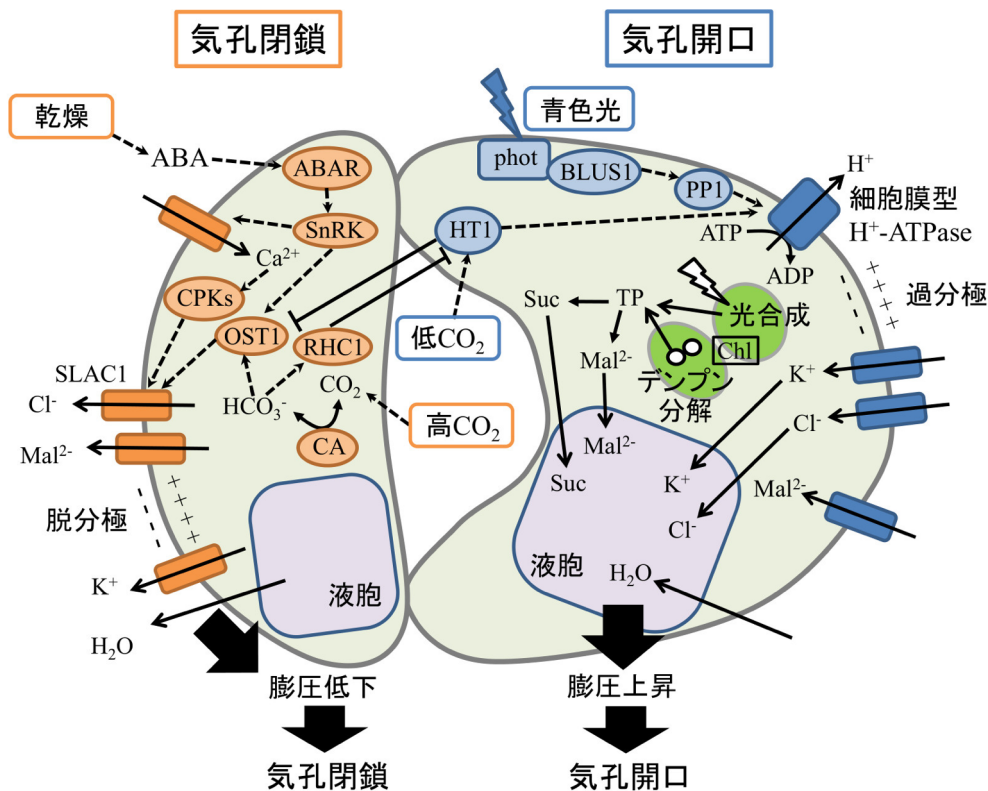


図1. 気孔開閉の分子メカニズム

環境要因に応答して孔辺細胞内で起こる、気孔開閉の分子メカニズムを示す。ABA: アブシジン酸、phot: フォトトロピン、Chl: 葉緑体、Mal²⁻: リンゴ酸イオン、Suc: スクロース、TP: トリオースリン酸、BLUS1: BLUE LIGHT SIGNALING 1、PP1: TYPE 1 PROTEIN PHOSPHATASE、HT1: HIGH TEMPERATURE 1、ABAR: ABA Receptor、SnRK: SNF1-RELATED PROTEIN KINASE、CPK: calcium-dependent protein kinase、OST1: OPEN STOMATA 1、RHC1: RESISTANT TO HIGH CO₂ 1、CA: carbonic anhydrase、SLAC1: SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1 (参考文献 19, 27-30 より改変。)

イクルが回りやすい条件になることで、電子伝達鎖の過還元状態を緩和することにもつながると考えられる。

このような背景から、特に CO₂ の濃縮機構を持たない C₃ 光合成を行う植物種において、CO₂ の取り込み口である気孔の開度と光合成速度との関係は古くから研究対象となってきた。1979 年にワタ (*Gossypium hirsutum*) に ABA を作用させる実験で、気孔開度の指標となる気孔コンダクタンスと光合成速度との間には強い相関があることが示された³⁷⁾。乾燥に伴う気孔の閉鎖が光合成速度を大きく低下させることが明らかになっている³⁸⁾ほか、Gulías らは、73 種の C₃ 植物をメタ解析した結果、強光下における光合成速度と気孔

開度の関係性が 1 つの曲線に近似できることを報告した³⁹⁾ (図 2)。このように、気孔コンダクタンスと定常状態の光合成速度との関係性は一般化され、生化学的なモデルとともに個葉や葉群単位での光合成モデルの基礎となっている⁴⁰⁾。

光合成は植物の成長量や収量を決定する最も重要な代謝である⁴¹⁾。ゆえに、農業などさまざまな分野での応用基盤の構築に貢献するため、光合成能力の強化と植物成長量の向上を見据えた研究がおこなわれてきた。気孔分化の分子メカニズム⁴²⁾の知見をもとに、シロイヌナズナにおいて気孔の分化に関与する stomagen を過剰発現させ、気孔密度を増加させた研究では、光合成速度は上昇した一方で、植物の成長量は増加しなかつ

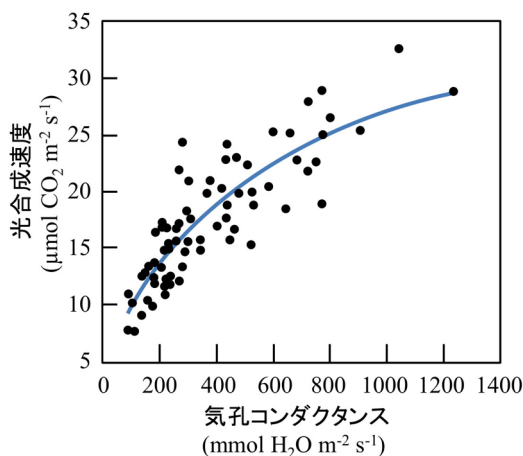


図 2. 光合成速度と気孔コンダクタンスの密接な関係

73種の地中海沿岸のC₃植物を用いて、定常状態における光合成速度と気孔コンダクタンスの関係性を示す。光合成速度と気孔コンダクタンスとの間には強い正の相関があることが分かる。(参考文献39より改変。)

た⁴³⁾。これは、気孔密度の増加に伴う気孔コンダクタンスの過度な上昇により、水分損失が顕著になったことが原因として考えられる。一方で、気孔開閉の分子機構の知見にもとづき、シロイヌナズナにおいてH⁺-ATPaseを孔辺細胞特異的に過剰発現させたり、PATROLIを過剰発現させたりすることによって気孔開口を促進させた研究では、定常光における光合成能力、および人工気象器内での植物成長量の増強に成功した^{44,17)}。このように、定常光環境において、気孔改変による光合成能力の強化、そして植物成長量の増強が試されている。

4. 変動光下における光合成の気孔律速

近年、光合成の変動光応答の研究が盛んになっている。自然環境下では、太陽から葉に届く光強度は、上層の葉や雲、また、葉や雲が風を受けて動くことによって、ダイナミックに変動している⁴⁵⁾。

暗黒下に置かれた葉に光があたった時、あるいは、弱光下に置かれた葉にあたる光が強くなった時、光合成速度は徐々に上昇し、やがて定常状態に達する(図3A)。この現象を光合成誘導反応と呼ぶ⁴⁶⁾。この光合成誘導反応に要する時間は、葉の誘導反応準備状態に依存しており、この誘導

状態は、直前までの光の強さや光の当たっていた時間、光の差し込む頻度によって変化する⁴⁷⁾(図3B)。光合成誘導反応が起こっている間、植物は本来の光合成能力を発揮できていないことになる。ゆえに、変動光のエネルギーを高効率で活用するには、弱光に順応した状態から強光に順応した状態への推移をすばやく起こす⁴⁸⁾、すなわち、光合成誘導反応に要する時間を短縮することが有効である。また、光合成を高効率ですばやく駆動することができれば、余剰なエネルギーに伴う酸化ストレス障害も緩和することができると考えられる。したがって、光合成誘導反応の解析を通して変動光下での光合成を議論することは、あらゆる要因が変動する自然環境での光合成を理解するために重要なステップである⁴⁹⁾。

光合成誘導反応の律速要因は、ルビスコ活性、RuBP再生速度、気孔開度の3つであると提案されている⁵⁰⁾。林床など群落の下部では、葉は基本的には弱い散乱光を受けており、その中に強い直達光が突然差しこんでくるような特に激しい光変動が起こる。この差し込んでくる光はサンフレックと呼ばれる。さまざまな森林の、林床環境における測定により、林床では晴れた日の1日に得られる光の総量の20-80%をサンフレックに依存していることが明らかにされている⁵⁰⁾。また、ダイズを用いた研究では、ダイズの葉群中のほとんどの場所で、1日に受ける光のうち40-90%がサンフレックによる光であった⁴⁵⁾。したがって、野外に生育する植物は、このようにダイナミックに変動する光をうまく利用する必要がある。そのことを裏付けるように、陰生植物や日陰に馴化した植物、また1個体内でも陰葉は、陽生植物、陽葉と比較して、光合成誘導反応に要する時間が短くなること⁵¹⁾が明らかになっている。さらに、変動光条件下では定常光条件下と比較して、ルビスコの活性状態や気孔コンダクタンスが高い値で維持されることや、耐陰性植物ではそうでない植物と比較して、気孔をすばやく開口することが報告されている⁵⁰⁾。また、最近のシロイヌナズナを用いて生育光と気孔応答との関連を解析した研究では、1日あたりの光の総量が同じ栽培条件下でも、定常光であるか変動光であるか、また、変動

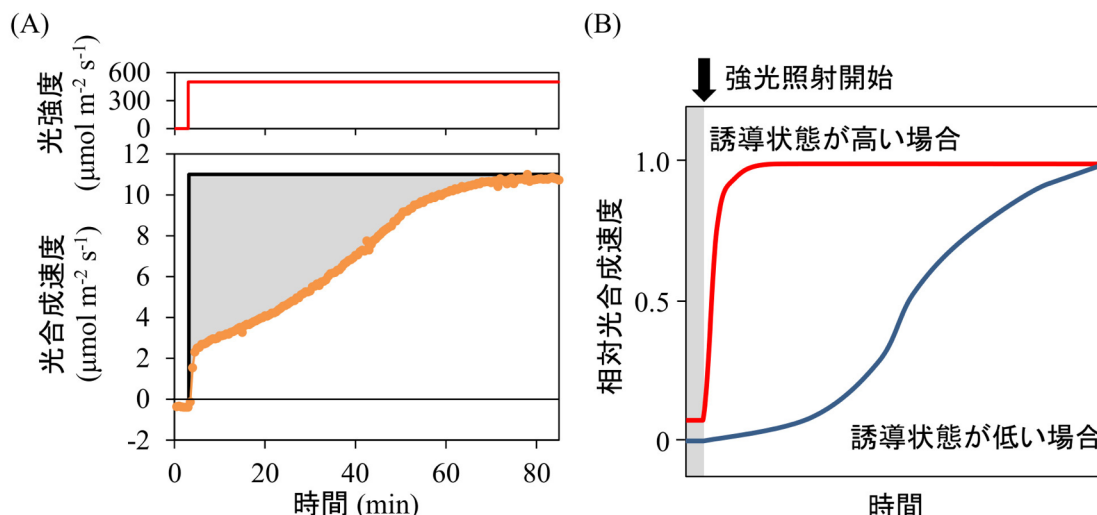


図3. 光合成誘導反応

(A) 野生型のシロイヌナズナを一晩暗黒下に置いた後、光を照射した際の光合成速度の推移を示す（橙）。実測値（橙）は光合成誘導反応に時間を要しないと仮定した場合（黒）と比較して、灰色の領域の分だけ光合成の効率が低下している。（B）光合成の誘導状態の差異による光合成誘導反応の違いを模式的に表したもの。強光が照射される前の誘導状態が異なると、光合成誘導反応の様子は大きく異なる。赤線は事前に弱光が当たっているような状況で、誘導状態は高く、強光照射後にはすばやく定常状態に達する。青線は暗黒下に置かれていた植物の光合成誘導の様子で、誘導状態が低く、定常状態に達するまで長い時間を要する。（参考文献47より改変。）

光の種類によって、気孔の応答性や1日を通しての気孔のふるまいに違いが生じることが示された⁵²⁾。一方、植物種によっては、陰葉、陽葉の違いに基づく明確な相関が得られなかったとする研究もあり⁵³⁾、種や環境によって異なる制御システムが複雑にはたらいっていることが想定される。

近年の研究では、2012年にイネの形質転換体を用いて、光合成誘導反応にはルビスコの活性化に必要なルビスコアクティベースの量が重要であること⁵⁴⁾、2016年にはシロイヌナズナの変異体を用いた実験で、ルビスコアクティベースの量や活性に加えて、気孔開度も光合成誘導反応を律速することが報告された⁵⁵⁾。さらに、光合成電子伝達に関わるサイクリック電子伝達経路が光合成誘導反応に重要な役割を果たすことが示された⁵⁶⁾。こういった研究で取り上げられる光合成誘導反応の律速要因の中で、気孔の開口は応答の時定数が非常に大きく、完全に開ききるまで1時間以上かかることもある。したがって、気孔開度は、光合成誘導反応、さらには連続的な変動光環境における光合成を大きく律速しているのではない

か、と考えられる。しかし、これまでに紹介した研究の多くは光合成誘導反応のみに注目したものであり、実際の野外環境で見られるような複雑な変動光に対する応答や、光合成誘導反応における優位性が植物の成長量にどのような影響を及ぼすのか、といったことは明らかになっていない。また、Hashimoto-Sugimoto *et al.* (2013)は、*PATROL1* 過剰発現体が、素早い気孔開口の応答を示すことを報告した¹⁷⁾。したがって、この過剰発現体は、変動光下の光合成に及ぼす機構の影響を研究するうえで興味深い。このような背景から、著者らは、シロイヌナズナの気孔応答の変異体・形質転換体を用いて、変動光下における光合成応答解析した。その結果、気孔を閉じにくい *ost1* 欠損変異体⁵⁷⁾、さらには気孔開口が野生型に比べて素早い *PATROL1* 過剰発現体¹⁷⁾は、変動光環境下において、野生型よりも高い光合成速度を示した（図4A）。また、自然環境の変動光を実験室内で再現した実験においても、気孔コンダクタンスが大きいことによる優位性は保たれた。さらに、栽培実験を行うと、定常光下では野生型と *ost1*

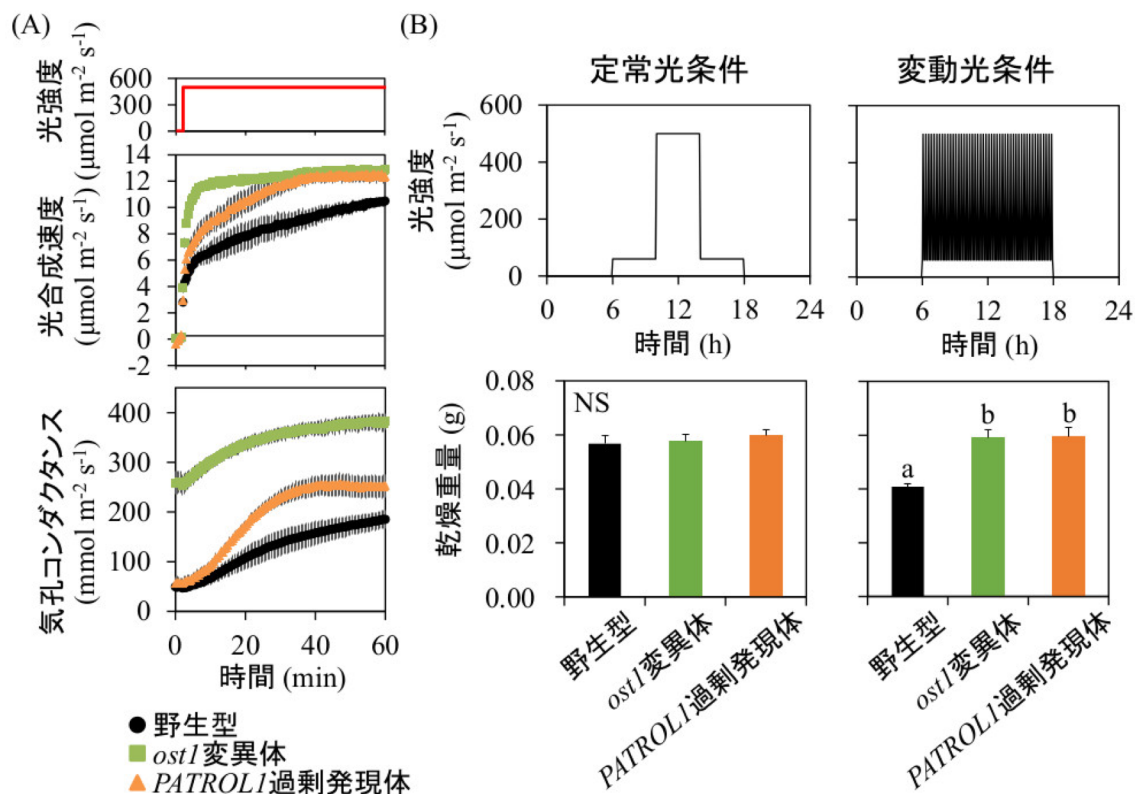


図 4. 気孔開度の上昇は変動光環境における植物の生産性を上昇させる

(A) 一晚暗黒下に置いた各系統のシロイヌナズナに対し、光を照射した際の光合成速度と気孔コンダクタンスの推移を示す。気孔コンダクタンスが光照射前から高い値を示す *ost1* 変異体、あるいは光照射後に気孔コンダクタンスがすばやく上昇する *PATROL1* 過剰発現体において、光合成速度が定常に達するまでに要する時間は短縮された。N ≥ 4, mean ± SE (B) 栽培に用いた定常光条件、変動光条件と、それぞれの条件で栽培したシロイヌナズナの播種後 5 週間の時点での地上部の乾燥重量を示す。定常光条件では各系統の間に差は見られないが、変動光条件では、野生型よりも大きな気孔コンダクタンスを示した *ost1* 変異体と、すばやい気孔の応答性を示した *PATROL1* 過剰発現体のほうが、野生型と比較して大きく成長した。定常光条件と変動光条件で、1 日に照射される光の総量は同じ値にそろえた。グラフ上部のアルファベットの違いは有意差があることを示す。N = 4, mean ± SE, Tukey-Kramer's HSD test

変異体、*PATROL1* 過剰発現体との間に成長量の差はなかった一方で、変動光下では、*ost1* 変異体、*PATROL1* 過剰発現体の植物成長量は、野生型と比較して増加した (図 4B)。このことは、変動光下の光合成応答が気孔開度によって大きく律速されており、その律速を緩和することが植物の成長についても有利に働くことを示している (Kimura *et al.*, in preparation)。

以上のように、変動光、ひいては自然環境における光条件下での光合成応答に対して、気孔開度の影響は大きい。しかし、気孔が開くと、CO₂ を取り込みやすくなると同時に、蒸散による水分

の損失が大きくなる。ゆえに、今後は、CO₂ 取り込みと水分保持のトレードオフの関係を考慮した詳細な解析や、光以外の変動する環境要因との兼ね合いに関する研究が必要であろう。

5. おわりに

光合成は植物の成長や収量を左右する重要な代謝である。気孔動態と光合成速度の関係性を理解することは、植物の環境応答の解明にはもちろんのこと、農業や園芸などの分野への応用にもつながるであろう。また、真の意味で光合成を理解するためには、実際の野外環境で植物がどのよう

に応答しているのかを明らかにすることが必須である。本稿では、野外の変動環境のうち特に光条件に関しての知見を紹介したが、野外では、光だけではなく、温度、湿度、CO₂濃度といった、光合成や気孔開度に関わるあらゆる要素が絶えず変化している⁴⁹⁾。複合的で、非常に難解な光合成や気孔の応答を理解するためにはそれぞれの要因に対する十分な知見を基盤として解析を行う必要がある。

これまでの研究成果や気孔の存在意義を考慮すれば、光合成速度と乾燥ストレス耐性にはトレードオフの関係にあると考えられる。その兼ね合いの中で環境に適応してきたのが現生の種である。しかし、現在、過去に類を見ないスピードで地球環境が変化している。また、世界の人口も増え続けている。将来、光合成や植物成長から得られる恩恵を最大限利用できるようにするためには、数多くの課題が残されており、今後も光合成や気孔の応答はさまざまなアプローチで研究される必要があるだろう。

Received Mar 5, 2018; Accepted April 4, 2018; Published April 30, 2018.

参考文献

- Senn, G. (1908) *Die Gestalts- und Lageveränderung der Pflanzen-Chromatophoren*. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig. (片岡博尚訳 (2015) 葉緑体の変形と定位運動 p. 456 東北大学出版会)
- Haberlandt, G. (1886) Über das Assimilationssystem. *Ber. Deut. Bot. Ges.* 4, S.206.
- Evans, J. R., von Caemmerer, S., Setchell, B. A. and Hudson, G. S. (1994) The relationship between CO₂ transfer conductance and leaf anatomy in transgenic tobacco with a reduced content of Rubisco. *Aust. J. Plant Physiol.* 21, 475–95.
- Busch, F. A., Sage, T. L., Cousins, A. B. and Sage, R. F. (2013) C₃ plants enhance rates of photosynthesis by re-assimilating photorespired and respired CO₂. *Plant Cell Environ.* 36, 200–212.
- Tazoe, Y., von Caemmerer, S., Badger, M. R. and Evans, J. R. (2009) Light and CO₂ do not affect the mesophyll conductance to CO₂ diffusion in wheat leaves. *J. Exp. Bot.* 60, 2291–2301.
- Tazoe, Y., von Caemmerer, S., Estavillo, G. M. and Evans, J. R. (2011) Using tunable diode laser spectroscopy to measure carbon isotope discrimination and mesophyll conductance to CO₂ diffusion dynamically at different CO₂ concentrations. *Plant Cell Environ.* 34, 580–591.
- Mizokami, Y., Noguchi, K., Kojima, M., Sakakibara, H. and Terashima, I. (2015) Mesophyll conductance decreases in the wild type but not in an ABA-deficient mutant (*aba1*) of *Nicotiana glauca* under drought conditions. *Plant Cell Environ.* 38, 388–398.
- 溝上祐介、寺島一郎 (2016) 水と炭素の交差点としての葉 —CO₂ 拡散コンダクタンスについて— *日本生態学会誌* 66, 477–487.
- Takemiya, A., Sugiyama, N., Fujimoto, H., Tsutsumi, T., Yamauchi, S., Hiyama, A., Tada, Y., Christie, J. M. and Shimazaki, K. (2013) Phosphorylation of BLUS1 kinase by phototropins is a primary step in stomatal opening. *Nat. Commun.* 4, 2094.
- Takemiya, A., Kinoshita, T., Asanuma, M. and Shimazaki, K. (2006) Protein phosphatase 1 positively regulates stomatal opening in response to blue light in *Vicia faba*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 13549–13554.
- Shimazaki, K., Doi, M., Assmann, S. M. and Kinoshita, T. (2007) Light regulation of stomatal movement. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 219–247.
- Inoue, S. and Kinoshita, T. (2017) Blue light regulation of stomatal opening and the plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant Physiol.* 174, 531–538.
- Yamauchi, S., Takemiya, A., Sakamoto, T., Kurata, T., Tsutsumi, T., Kinoshita, T. and Shimazaki, K. (2016) The plasma membrane H⁺-ATPase AHA1 plays a major role in stomatal opening in response to blue light. *Plant Physiol.* 171, 2731–2743.
- Heath, O. V. S. and Meidner, H. (1957) Effects of carbon dioxide and temperature on stomata of *Allium cepa* L. *Nature* 180, 181–182.
- Meidner, H. and Heath, O. V. S. (1959) Studies in stomatal behaviour: VIII. Stomatal responses to temperature and carbon dioxide concentration in *Allium Cepa* L., and their relevance to mid-day closure. *J. Exp. Bot.* 10, 206–219.
- 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.
17. 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.
 18. 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.
 19. Negi, J., Hashimoto-Sugimoto, M., Kusumi, K. and Iba, K. (2014) New approaches to the biology of stomatal guard cells. *Plant Cell Physiol.* 55(2), 241–250.
 20. Cutler, A. J. and Krochko, J. E. (1999) Formation and breakdown of ABA. *Trend. Plant Sci.* 4, 472–478.
 21. 川上直人 (2010) アブシシン酸 小柴共一、神谷勇治編 新しい植物ホルモンの科学 第2版 pp. 72–90 講談社
 22. Leung, J. and Giraudat, J. (1998) Abscisic acid signal transduction. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 199–222
 23. Davies, W. J., Kudoyarova, G. and Hartung, W. (2005) Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought. *J Plant Growth Regul.* 24, 285–295.
 24. Lange, O. L., Löscher, R., Schulze, E. -D. and Kappen, L. (1971) Responses of stomata to change in humidity. *Planta* 100, 76–86.
 25. Mott, K. A. and Parkhurst, D. F. (1991) Stomatal responses to humidity in air and helox. *Plant Cell Environ.* 14, 509–515.
 26. Farquhar, G. D. and Sharkey, T. D. (1982) Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33, 317–345.
 27. Xue, S., Hu, H., Ries, A., Merilo, E., Kollist, H. and Schroeder, J. I. (2011) Central functions of bicarbonate in S-type anion channel activation and OST1 protein kinase in CO₂ signal transduction in guard cell. *EMBO J.* 30, 1645–1658.
 28. Cai, S., Chen, G., Wang, Y., Huang, Y., Marchant, D. B., Wang, Y., Yang, Q., Dai, F., Hills, A., Franks, P. J., Nevo, E., Soltis, D. E., Soltis, P. S., Sessa, E., Wolf, P.G., Xue, D., Zhang, G., Pogson, B. J., Blatt, M. R. and Chen, Z-H. (2017) Evolutionary conservation of ABA signaling for stomatal closure. *Plant Physiol.* 174, 732–747.
 29. Tian, W., Hou, C., Ren, Z., Pan, Y., Jia, J., Zhang, H., Bai, F., Zhang, P., Zhu, H., He, Y., Luo, S., Li, L. and Luan, S. (2015) A molecular pathway for CO₂ response in *Arabidopsis* guard cells. *Nat. Commun.* 6, 6057.
 30. Lawson, T. (2009) Guard cell photosynthesis and stomatal function. *New Phytol.* 181, 13–34.
 31. Lee, J., and Bowling, D. J. F. (1992) Effect of the mesophyll on stomatal opening in *Commelina communis*. *J. Exp. Bot.* 43, 951–957.
 32. Mott, K. A., Sibbersen, E. D., Shope, J. C. (2008) The role of the mesophyll in stomatal responses to light and CO₂. *Plant Cell Environ.* 31: 1299–1306.
 33. Fujita, T., Noguchi, K., and Terashima, I. (2013) Apoplastic mesophyll signals induce rapid stomatal responses to CO₂ in *Commelina communis*. *New Phytol.* 199, 395–406.
 34. Araújo, W. L., Nunes-Nesi, A., Osorio, S., Usadel, B., Fuentes, D., Nagy, R., Balbo, I., Lehmann, M., Studart-Witkowski, C., Tohge, T., Martinoia, E., Jordana, X., DaMatta, F. M. and Fernie, A. R. (2011) Antisense inhibition of the iron-sulphur subunit of succinate dehydrogenase enhances photosynthesis and growth in tomato via an organic acid-mediated effect on stomatal aperture. *Plant Cell* 23, 600–627.
 35. 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.
 36. Sharkey, T. D. (1985) O₂-insensitive photosynthesis in C₃ plants. *Plant Physiol.* 78, 71–75.
 37. Wong, S. C., Cowan, I. R. and Farquhar, G. D. (1979) Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* 282, 424–426.
 38. Medrano, H., Escalona, J. M., Bota, J., Gulías, J. and Flexas, J. (2002) Regulation of photosynthesis of C₃ plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Ann. Bot.* 89, 895–905.
 39. Gulías, J., Flexas, J., Mus, M., Cifre, J., Lefi, E. and Medrano, H. (2003) Relationship between maximum leaf photosynthesis, nitrogen content and specific leaf area in Balearic endemic and non-endemic Mediterranean species. *Ann. Bot.* 92, 215–222.
 40. Farquhar, G. D., von Caemmerer, S. and Berry, J. A. (2001) Models of photosynthesis. *Plant Physiol.* 125, 42–45.

41. Yamori, W., Kondo, E., Sugiura, D., Terashima, I., Suzuki, Y. and Makino, A. (2016) Enhanced leaf photosynthesis as a target to increase grain yield: insights from transgenic rice lines with variable Rieske FeS protein content in the cytochrome b_6/f complex. *Plant Cell Environ.* 39, 80–87.
42. Torii, K. U. (2015) Stomatal differentiation: the beginning and the end. *Curr. Opin. Plant Biol.* 28, 16–22.
43. Tanaka, Y., Sugano, S. S., Shimada, T. and Hara-Nishimura, I. (2013) Enhancement of leaf photosynthetic capacity through increased stomatal density in Arabidopsis. *New Phytol.* 198, 757–764.
44. Wang, Y., Noguchi, K., Ono, N., Inoue, S., Terashima, I. and Kinoshita, T. (2014) Overexpression of plasma membrane H^+ -ATPase in guard cells promotes light-induced stomatal opening and enhances plant growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 533–538.
45. Pearcy, R. W., Roden, J. S. and Gamon, J. A. (1990) Sunfleck dynamics in relation to canopy structure in a soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) canopy. *Agric. For. Meteorol.* 52, 359–372.
46. Walker, D. A. (1973) Photosynthetic induction phenomena and the light activation of ribulose diphosphate carboxylase. *New Phytol.* 72, 209–235.
47. 唐艶鴻、富松元、深山浩 (2014) 光合成誘導反応 *化学と生物* 52, 106–112.
48. Chazdon, R. L. and Pearcy, R. W. (1986) Photosynthetic responses to light variation in rainforest species I. Induction under constant and fluctuating light conditions. *Oecologia* 69, 517–523.
49. Yamori, W. (2016) Photosynthetic response to fluctuating environments and photoprotective strategies under abiotic stress. *J Plant Res.* 129, 379–395.
50. Pearcy, R. W. (1990) Sunflecks and photosynthesis in plant canopies. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 41, 421–453.
51. Chen, H. Y. H. and Klinka, K. (1997) Light availability and photosynthesis of *Pseudotsuga menziesii* seedlings grown in the open and in the forest understory. *Tree Physiol.* 17, 23–29.
52. Matthews, J. S. A., Violet-Chabrand, S. and Lawson, T. (2018) Acclimation to fluctuating light impacts the rapidity of response and diurnal rhythm of stomatal conductance. *Plant Physiol.* 176, 1939–1951.
53. Urban, O., Kosvancova, M., Marek, M. V., and Lichtenthaler, H. K. (2007) Induction of photosynthesis and importance of limitations during the induction phase in sun and shade leaves of five ecologically contrasting tree species from the temperate zone. *Tree Physiol.* 27, 1207–1215.
54. Yamori, W., Masumoto, C., Fukayama, H. and Makino, A. (2012) Rubisco activase is a key regulator of non-steady-state photosynthesis at any leaf temperature and, to a lesser extent, of steady-state photosynthesis at high temperature. *Plant J.* 71, 871–880.
55. Kaiser, E., Morales, A., Harbinson, J., Heuvelink, E., Prinzenberg, A. E., and Marcelis, L. F. M. (2016) Metabolic and diffusional limitations of photosynthesis in fluctuating irradiance in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Rep.* 6, 31252.
56. Yamori, W., Makino, A. and Shikanai, T. (2016) A physiological role of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis under fluctuating light in rice. *Sci. Rep.* 6, 20147.
57. Mustilli, A. C., Merlot, S., Vavasseur, A., Fenzi, F. and Giraudat, J. (2002) Arabidopsis OST1 protein kinase mediates the regulation of stomatal aperture by abscisic acid and acts upstream of reactive oxygen species production. *Plant Cell* 14, 3089–3099.

Stomatal and photosynthetic responses to fluctuations of various environmental factors

Haruki Kimura*, Ichiro Terashima, Wataru Yamori

Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo

解説

レドックスを基盤とした葉緑体の機能統御ネットワーク[‡]

東京工業大学 化学生命科学研究所

吉田 啓亮*

レドックス制御は、標的タンパク質のチオール基の酸化還元状態を制御することにより、そのタンパク質の酵素活性を調節する翻訳後修飾の1つである。近年、葉緑体のレドックス制御システムは、チオレドキシファミリーをはじめとする数多くの還元力伝達タンパク質を巧みに使い分け、多岐にわたる葉緑体機能を精密に操っているという驚くべき実態が見えてきた。その制御ネットワークの全貌解明の重要性については国内外を通じて論を俟たず、今もなお活発な研究の対象となっている。本稿では、最近の研究成果を中心にこれまで得られてきた知見をまとめ、そこから明らかになってきたレドックス制御ネットワークの分子基盤や生理意義を概説する。

1. はじめに

移動能力を欠く植物が、絶えず変動する光環境の下で効率よい光合成物質生産を行うためには、光合成の場である葉緑体の生理機能を適切に調節する必要がある。実際に葉緑体は、遺伝子発現から形態変化に至るまでのさまざまなレベルの光応答戦略を発達させており、それぞれの分子機構の解明に向けて世界中で盛んに研究が行われている最中である。著者が注目しているレドックス制御もまた、このような葉緑体の光応答に関わるメカニズムの1つである。

レドックス制御は、文字通り酸化還元 (reduction/oxidation: レドックス) 反応を基盤としたタンパク質の機能制御である。最も代表的な例が、一対のシステインペア間でのジスルフィド結合の形成 (酸化)・開裂 (還元) であり、この還元側の反応はチオレドキシ (thioredoxin; Trx) という分子量約 12,000 の小さな還元力伝達タンパク質により仲介される¹⁾。レドックス制御システムは、すべての生物が普遍的に備えているが、葉緑体のシステムは光合成電子伝達系から還元力を供給されるという点で非常に特徴的である。

その反応経路は、フェレドキシからフェレドキシ-チオレドキシ還元酵素 (ferredoxin-thioredoxin reductase; FTR) を介して Trx が還元力を受け取り、次いで Trx が標的タンパク質を還元するというものである (図 1 A)。標的タンパク質の例として、カルビンベンソン回路を構成する4つの酵素 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), fructose-1,6-bisphosphatase (FBPase), sedoheptulose-1,7-bisphosphatase (SBPase), phosphoribulokinase (PRK)) が知られており、それらは還元によって活性化される。つまり、この一連の還元力伝達反応によって、カルビンベンソン回路による炭素固定を電子伝達系の駆動と連動させることができる。このように、葉緑体レドックス制御システムは、光照射シグナルに応答して標的タンパク質のオン・オフを切り替えることで葉緑体の機能調節を支えている。

上記の還元力カスケード (FTR/Trx 経路) は、1970 年代に Buchanan らによって同定されて以来、長きにわたって葉緑体のレドックス制御システムの基盤として認識されてきた^{2,3)}。ところが現在、レドックス制御研究は新たな局面を迎えている。オミクス解析の目覚ましい進展により、レドックス制御システムの構成因子 (候補) に関する

[‡]解説特集「変動する光量への光合成機能の調節」

*連絡先 E-mail: yoshida.k.ao@m.titech.ac.jp

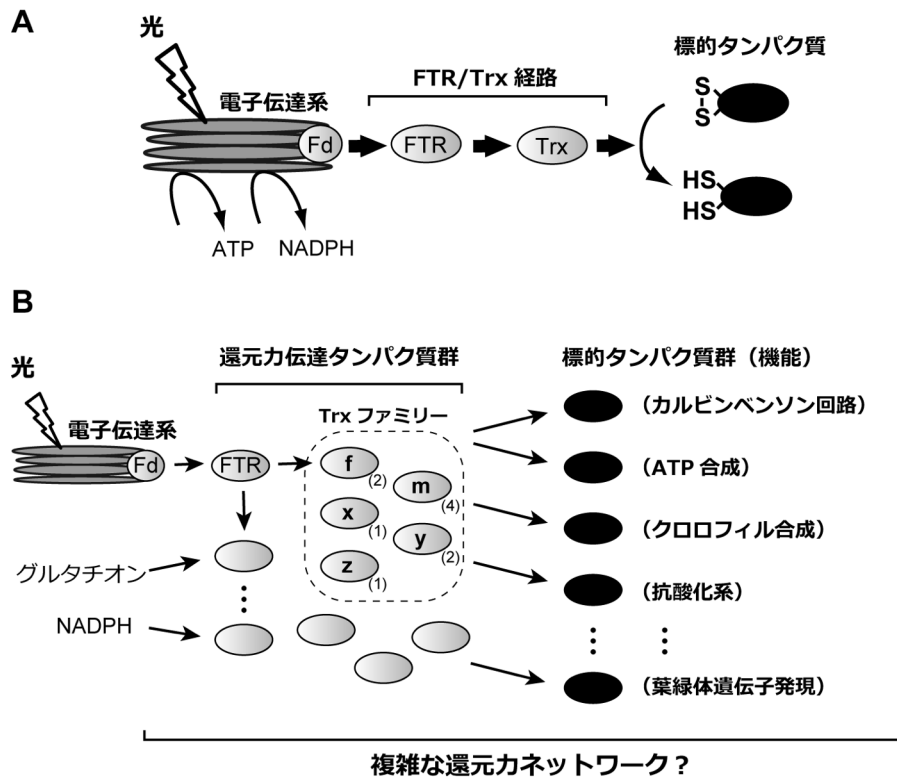


図 1. 葉緑体のレドックス制御システムの概観図

(A) 従来の反応経路 (FTR/Trx 経路)。光化学反応により生じた還元力が、フェレドキシン (Fd) から FTR と Trx を経由して標的タンパク質へと伝達される。標的タンパク質は、還元されると酵素活性が上昇する (一部の例外を除く)。この一連の還元力伝達反応によって、光照射に応答した葉緑体の機能調節が可能になる。(B) オミクス解析によって明らかになった多様なシステム構成因子群。還元力伝達タンパク質群 (Trx ファミリーなど) と標的タンパク質群により構成される。標的タンパク質群は、多岐にわたる葉緑体機能に関わっている。これらの多様な因子がどのように還元力ネットワークを形成して働いているのかの解明は、大きな課題である。シロイヌナズナにおいて、Trx ファミリーの各サブタイプをコードする遺伝子数を括弧内に記した。

る情報が飛躍的に集積されたのである。これらの知見は、レドックス制御システムは、従来の単純な経路ではなく複雑に分岐した還元力ネットワークにより組織され、それによってより柔軟かつ精緻な葉緑体の機能調節を成し遂げているという可能性を想起させる (図 1 B)。では、この制御システムは、葉緑体内で実際にどのように構成され、環境変動に対してどのように応答し、そして植物の生存戦略にどのような意義を果たすのだろうか。本稿では、これまで国内外の多くのグループによって発表されてきた研究成果を整理し、レドックスを基盤とした葉緑体の機能統御ネットワークの理解はどこまで進んだのかを見直してみたい。

2. レドックス制御ネットワークの構成因子群

植物ゲノム研究の発展によって、植物には実に数多くの Trx アイソフォームが存在することが明らかになった。例えばシロイヌナズナの場合、Trx は計 20 もの遺伝子によってコードされ、それらは細胞内局在解析や系統的解析に基づいて 7 つのサブタイプに分類されている。そのうち葉緑体には、*f*, *m*, *x*, *y*, *z* 型の 5 つが局在している^{4,5)}。これらの 5 つの Trx サブタイプは、それぞれ異なる中間酸化還元電位やタンパク質表面電荷を示すことから葉緑体内での役割もまた異なると考えられ、実際にこれまでの研究結果はこの考えをよく支持している (後述)。加えて、Trx 活性部位 (WCGPC) と似て非なるアミノ酸配列を

持つ、いわゆる Trx 様タンパク質も葉緑体に数多く存在する。一部の例外を除いては、Trx 様タンパク質の機能はまだほとんど分かっておらず、今後の解析が待たれている。以上の還元力伝達タンパク質群は、複雑な還元力ネットワークを葉緑体内に張り巡らせていると予想される⁶⁾(図 1 B)。

では、その下流にはどのような葉緑体タンパク質が標的として存在するのだろうか。今世紀のはじめに、タンパク質群から Trx の反応相手のみをスクリーニングする手法が開発され、レドックス制御研究にブレイクスルーをもたらした^{7,8)}。さらにプロテオーム解析の進展も相乗し、現在では膨大な数の葉緑体ストロマタンパク質が Trx の標的としてリストアップされている。また、ストロマ画分だけにとどまらず、チラコイド膜や葉緑体包膜の Trx 標的についても報告がある⁹⁻¹¹⁾。これらの研究により、従来は限定的であった Trx 標的タンパク質に関する情報は大きな広がりを見せ、ありとあらゆる葉緑体機能がレドックス制御下にある可能性が指摘されている(図 1 B)。これまでに同定された Trx 標的タンパク質群は、他の総説で列挙されているので参照されたい^{12,13)}。ただし、その大部分は網羅的な解析手法によって捕捉された標的「候補」であり、本当に Trx 依存的にレドックス状態を変化させ、それによって活性調節が起こるのかについては未確認である点は注意が必要である。

3. Trx ファミリーの機能多様性: 生化学解析からの考察

還元力伝達タンパク質群から標的タンパク質群への還元力の供給は、どのような経路を介して行われているのだろうか。5つのサブタイプで構成される Trx ファミリーに焦点を当て、標的タンパク質に対する特異性と重複性について、主にタンパク質生化学ベースの研究から得られてきた知見を紹介したい。ゲノム解析以前は、*f*型と *m*型の2種類の Trx のみが同定されており、それらはそれぞれ FBPase と NADP-malate dehydrogenase (NADP-MDH)(リンゴ酸バルブによる還元力排出に関与する酵素)の還元・活性化因子としての分子特性に基づいて命名された^{14,15)}。*f*型 Trx が

FBPase に対して特異的に高い還元・活性化能を示すという結果は、その後の研究でもよく再現されている¹⁶⁻¹⁸⁾。しかし、*m*型 Trx が NADP-MDH を効率的に還元するという元々の見解は見直しが必要であり、実際に *f*型の方がむしろ高い活性化能を発揮するという報告が複数ある¹⁶⁻¹⁹⁾。NADP-MDH は、N 末端側と C 末端側のループ領域に1つずつシステインペアを持つ標的タンパク質である²⁰⁾。著者らは、チオール基修飾やペプチドマッピングなどの一連の解析結果から、*f*型 Trx は両方のシステインペアを還元できるが、*m*型 Trx は C 末端側のみしか還元できないことを見出した¹⁸⁾(図 2 A)。2つのシステインペアが、同一ポリペプチド内に収まっているにも関わらず異なる Trx の選り好みを持つことは、レドックス制御の興味深い一面と言えるだろう。この機構は、葉緑体からの還元力排出を状況に応じて微調整するのに役立つのかもしれない。

*f*型 Trx は、上記の2つの標的タンパク質だけでなく、カルビンベンソン回路の酵素(GAPDH, SBPase, PRK)、Rubisco activase (RCA)、ATP synthase CF₁-γ subunit といった直接光合成反応に関わる標的全般に対して高い還元能を示す^{18, 21-23)}。デンプンや脂質の代謝系の酵素に対してもまた同様である²⁴⁻³²⁾。すなわち、光合成やその他の代謝反応の調節においては、(少なくとも試験管内では) *f*型 Trx がレドックス制御因子として最も効率的に機能するようだ(図 2 B)。一方で、*m*型 Trx の特異的な役割はまだ明らかにされていない。1つの可能性として、CcdA と HCF164 によるチラコイド膜を介した還元力輸送システムに対して、*m*型 Trx が還元力ドナーとして働くこと示唆されている^{33,34)}。HCF164 は活性部位がチラコイド膜ルーメン側に配向した Trx 様タンパク質である。つまり *m*型 Trx は、CcdA/HCF164 還元力輸送システムを介して間接的にルーメンタンパク質のレドックス制御を行っているのかもしれない(図 2 B)。では、そこではどのようなタンパク質が標的となっているのだろうか。候補は複数挙げられているものの^{11,33,35,36)}、確定的と言えるものはまだなく、今後の解析が待たれている。

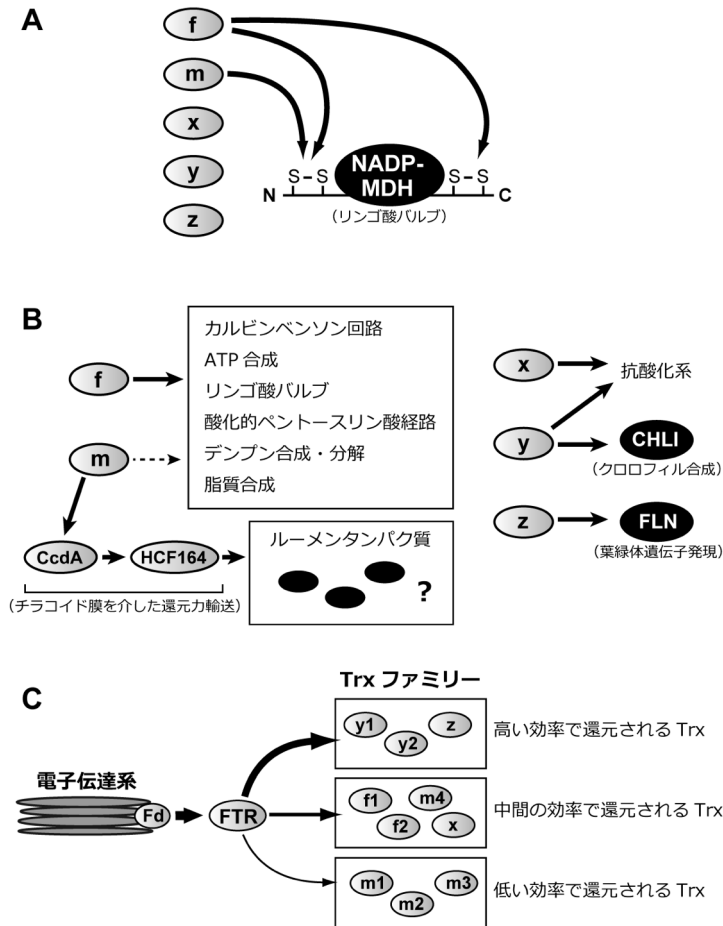


図 2. 葉緑体の Trx ファミリーの機能多様性 (詳細は本文を参照)

(A) Trx ファミリーの使い分けによる NADP-MDH のレドックス制御メカニズムの例。文献 18 より改変。
 (B) 生化学解析に基づいた Trx ファミリーの標的選択性を示す模式図。(C) FTR から Trx ファミリーへの異なる還元力伝達キネティクス。シロイヌナズナの 10 の Trx アイソフォームを、FTR 依存の還元効率によって 3 つのクラスに分類した。文献 41 より改変。

ゲノム解析と分子系統解析により、x 型、y 型、z 型の 3 つのサブタイプが葉緑体 Trx として新たに加わった。x 型と y 型の Trx は、それぞれ 2-Cys peroxiredoxin (Prx) と PrxQ に効率的に還元力を供給する^{17,37)}。2-Cys Prx と PrxQ は、Trx から受け取った還元力を直接触媒反応に用いて活性酸素種を消去する点で、活性調節型の他の標的タンパク質とは異なる。なお y 型 Trx は、クロロフィル合成経路上の標的タンパク質である Mg-chelatase I subunit (CHLI) に対しても高い還元活性を示す^{38,39)}。z 型 Trx も、PrxQ や methionine sulfoxide reductase (MSR) といった抗酸化系酵素への還元力伝達能を持つが^{39,40)}、それよりも特徴的なのは、葉緑体遺伝子発現調節とクロストークを持つ可

能性があるということである (次節参照)。ただし、その制御機構についてはまだはっきりせず、さらなる生化学解析が必要とされる。

以上のように、葉緑体の 5 つの Trx サブタイプは、大きく異なる標的タンパク質の選択性を持つことが分かってきた (図 2 A, B)。このことを考慮すれば、FTR から Trx ファミリーへの還元力分配は、レドックス制御の成り行きを決定する重要なステップと推察される。著者らは、FTR から各 Trx アイソフォームへの還元力伝達効率を詳細に比較し、そのキネティクスが大きく異なることを明らかにした⁴¹⁾ (図 2 C)。標的選択性の違いに加えて、この結果もまた Trx ファミリーの機能多様性を示している。

4. Trx ファミリーの生理的影響：逆遺伝学解析からの考察

これまで行われてきた生化学解析は、レドックス制御の分子機構に関して数多くの価値ある知見を提供してきたが、それだけでは生体内での作用機序を論じるには不十分である。各 Trx サブタイプは、それぞれどのような生理的役割を果たすのか。この問いにアドレスするため、変異株植物を用いた研究が行われている。現在までに報告されているシロイヌナズナの各 Trx の欠損株（一部は発現抑制株）の表現型を表 1 にまとめた。

シロイヌナズナの *f* 型 Trx 欠損変異株 (*trxf1* 変異株および *trxf1/trxf2* 二重変異株) では、FBPase, RCA, ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase) (デンプン合成に関与する酵素) の光照射に依存した還元応答が抑制される^{18,31,42}。これは生化学解析

の結果と一致し、*f* 型 Trx からこれらの標的への還元力伝達が生体内でも起こっていることを示している。同欠損株では、デンプン蓄積量の低下や強光環境下での生育阻害なども起こっていることから、*f* 型 Trx によるレドックス制御が、関連する生理機能の調節に少なからず寄与していると言える。一方で、*x* 型 (*trxx* 変異株) と *y* 型 Trx (*trxy1/trxy2* 二重変異株) の欠損株では顕著な表現型は観測されていない⁴³⁻⁴⁵。生体内では他の還元力伝達経路が相補的に機能していると考えられる。

シロイヌナズナの *m* 型 Trx をコードする 4 つの遺伝子のうち、緑葉に多く発現している 3 つを抑え込んだ変異株 (*trxm1/trxm2/trxm4* 三重変異株) は、通常の条件下においても生育阻害を示す^{46,47}。同様の生育阻害は、イネの *m* 型 Trx 発現抑制株

表 1. シロイヌナズナの Trx 各サブタイプ欠損・発現抑制株の表現型

シロイヌナズナ変異株 ^a	注目すべき表現型	文献
<i>f</i> 型 Trx 欠損株		
<i>trxf1</i>	AGPaseの光照射時の還元応答の抑制	31
<i>trxf1/trxf2</i>	FBPaseの光照射時の還元応答の抑制	18
<i>trxf1/trxf2</i>	強光・短日条件下での生育阻害	42
	FBPaseとRCAの光照射時の還元応答の抑制	
	電子伝達速度の低下	
<i>m</i> 型 Trx 欠損株		
<i>trxm4</i>	NDH依存PSIサイクリック電子伝達の上昇	49
<i>trxm1/trxm2/trxm4</i>	生育阻害・クロロフィル量の低下	46
	PSII複合体の生合成の阻害	
<i>trxm1/trxm2/trxm4</i>	生育阻害・クロロフィル量の低下	47
	FBPase, SBPase, NADP-MDHの光照射時の還元応答の抑制	
<i>trxm1/trxm2</i>	NADP-MDHの光による活性化の阻害	72
<i>trxm1/trxm2/trxm4</i>	クロロフィル代謝の異常	71
<i>trxm1/trxm2/trxm4</i>	キサントフィルサイクルの異常とNPQの上昇	50
<i>x</i> 型 Trx 欠損株		
<i>trxx</i>	顕著な表現型なし	43
<i>trxx</i>	顕著な表現型なし	45
<i>y</i> 型 Trx 欠損株		
<i>trxy1/trxy2</i>	顕著な表現型なし (MSR活性のわずかな低下)	44
<i>z</i> 型 Trx 欠損株		
<i>trxz</i>	アルビノ	52
	PEP制御下にある葉緑体遺伝子の発現レベル低下	

^a 同じ名称でも、変異株ラインが異なるため発現量も異なる場合がある。

でも観測されている⁴⁸⁾。つまり、*m*型 Trx は何らかの重要な機能を持っていると予想されるが、その詳細はまだ明らかになっていない。シロイヌナズナの変異株では、光化学系 II の複合体形成の阻害⁴⁶⁾や、電子伝達特性の変化^{49,50)}が起こっている。また、*m*型 Trx がチラコイド膜に隣接していることを示すプロテオーム解析も報告されている⁵¹⁾。前節で述べたチラコイド膜ルーメン側への還元力供給も考慮に入れば、*m*型 Trx の主要な機能は光合成電子伝達系の構築・維持なのかもしれない。ただし、現状ではあくまで1つの推測にすぎず、機能解明のためにはさらなる研究が必要である。

*z*型 Trx は、その欠損によって植物にアルビノの表現型をもたらす⁵²⁾。欠損変異株(*trxz* 変異株)では、細菌型 RNA ポリメラーゼ (plastid-encoded RNA polymerase; PEP) 制御下にある葉緑体遺伝子の発現が全般的に抑制されている⁵²⁾。別グループのプロテオーム解析の結果では、*z*型 Trx (およびその直接の標的と報告されている fructokinase-like protein (FLN)) が PEP 複合体の構成要素として同定されている^{53,54)}。*z*型 Trx が PEP 複合体の形成や機能維持、そして葉緑体分化に不可欠であることはほぼ間違いなさそうだが、どのように酸化還元反応が関与しているのかは不明である。そもそも、*z*型 Trx は PEP 複合体の単なる構成因子であり、レドックス制御能は重要ではないという可能性も否定できない⁵⁵⁾。

5. NTRC が支えるもう一つの還元力伝達経路

新しく見つかった注目すべき還元力伝達タンパク質として、NADPH-thioredoxin reductase C (NTRC)が挙げられる。NTRC は、細胞質やミトコンドリアに局在するオーソドックスなタイプの NADPH-thioredoxin reductase (NTR)の C 末端側に、Trx 様タンパク質が連結した独特のハイブリッド構造をとっている⁵⁶⁾。光合成電子伝達系と直接リンクする FTR/Trx 経路とは異なり、NTRC は NADPH を還元力源として用いる。NTRC は、葉緑体(およびその祖先であるシアノバクテリア)以外にはこれまで見つかっていない。そして NTRC は、その欠損が葉の退緑を伴う生育障害に

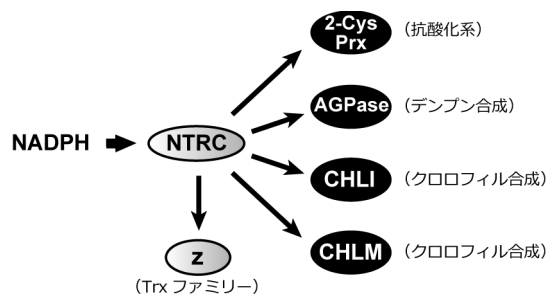


図3. NTRC の標的タンパク質を示す模式図 (詳細は本文を参照)

つながることから^{56,57)}、植物の生育に何か特別かつ重要な役割を持つと予想される。このタンパク質は具体的にどのような機能を持つのだろうか。

生化学解析に基づいた NTRC の標的タンパク質に関する知見を図3に、シロイヌナズナにおける NTRC 欠損変異株 (*ntrc* 変異株) の表現型を表2にそれぞれ要約した。最初に報告され、かつ最もよく知られた NTRC 標的が 2-Cys Prx である^{57,58)} (図3)。2-Cys Prx は Trx から還元力を供給されると先に報告があったが^{17,59)}、その後の比較解析により、NTRC が Trx よりも高い 2-Cys Prx 還元活性を示すことが明らかとなっている^{39,57,60)}。NTRC 欠損株が酸化ストレスに対して高い感受性を示すことも踏まえると(表2)、NTRC/2-Cys Prx の還元力カスケードは、葉緑体が備える数ある抗酸化系の中でもかなり大きな役割を持つのかかもしれない。なお、この経路はシアノバクテリアでも同定されていることから⁶¹⁻⁶⁴⁾、進化的に保存された抗酸化系とみなせる。

NTRC 欠損株は、2-Cys Prx の発現抑制株よりもシビアな生育障害に陥っている⁴³⁾。すなわち、NTRC は 2-Cys Prx だけでなく他のタンパク質にも還元力を供給している可能性が高い。では、NTRC は他にどのようなタンパク質を標的としているのだろうか。これまでに、AGPase, CHLI, Mg protoporphyrin IX methyltransferase (CHLM) (クロロフィル合成に関与する酵素) が NTRC 依存のレドックス制御を受けると生化学的に示されてきた^{39,65-67)} (図3)。NTRC 欠損株ではデンプン含量の低下やクロロフィル代謝の異常が観測されることから(表2)、それが生体内でも働いていることが示唆される。ちなみに、FBPase

などのカルビンベンソン回路の酵素や ATP 合成酵素までもが NTRC によって制御されると主張している研究もある⁶⁸⁾。ただし、BiFC 法や共免疫沈降法によって相互作用の可能性を示しただけで、還元力伝達過程を検出したわけではないため、結論はできない。実際に、NTRC は FBPAse の還元能を持たないことが著者らの生化学解析によって示されている^{39,45)}。

近年、NTRC と Trx ファミリーの間でも還元力の交換が行われていると提案されている^{68,69)}。著者らは、NTRC 標的のスクリーニング、還元力伝達の解析、中間酸化還元電位の滴定などの実験結果を統合し、 ϵ 型 Trx が NTRC から還元力を受け取ることができる唯一の Trx サブタイプであると結論づけた³⁹⁾ (図 3)。前節で述べたように、 ϵ 型 Trx は葉緑体の遺伝子発現に関与している。ということは、NTRC もまたこの葉緑体分化のた

めの一大イベントに間接的に関わっているのかもしれない。今後、より生理学的な観点からこの可能性を探っていく必要がある。

6. 協働するレドックス制御ネットワーク

従来知られている FTR/Trx 経路と新しく見つかった NTRC 経路—なぜ葉緑体は還元力の起点が異なる 2 つの経路を保持しなければならなかったのだろうか。両経路に異常を持つシロイヌナズナ多重変異株の解析から、それらの協働の重要性が明らかになってきた (表 2)。

f 型や x 型 Trx の欠損株は、通常条件下では野生株と変わらない生育を示すが (表 1)、NTRC の欠損が組み合わさることで著しい生育阻害に陥る^{45,70)}。 m 型 Trx と NTRC の多重変異株で起こる生育阻害も、それぞれ単独の変異株のものより顕著である⁷¹⁾。加えて、これらの多重変異株では、

表 2. シロイヌナズナの NTRC 欠損変異株、および NTRC と FTR/Trx 経路の多重変異株の表現型

シロイヌナズナ変異株	注目すべき表現型	文献 ^{a)}
<i>ntrc</i>	生育阻害・クロロフィル量の低下	56, 57
	酸化ストレス処理に対する高い感受性	56, 57
	明暗周期条件による生育阻害レベルの変化	57, 73
	2-Cys Prx酸化型ダイマーの蓄積	57, 74
	AGPaseの還元応答の抑制とデンプン蓄積量の低下	65
	クロロフィル代謝の異常	66, 75
	NPQの上昇	76, 77
<i>ntrc/trxf1</i>	顕著な生育阻害	70
	代謝プロファイルの変化	
<i>ftb/ntrc</i>	独立栄養条件での致死性	39
	光合成システムの全般的な機能不全	
<i>ntrc/trxf1/trxf2</i>	顕著な生育阻害	45
	葉緑体の形態異常	
<i>ntrc/trxx</i>	顕著な生育阻害	45
	葉緑体の形態異常	
<i>ntrc/trxm1/trxm2/trxm4</i>	顕著な生育阻害	71
	クロロフィル代謝の異常	

^{a)}NTRC 単独欠損変異株 (*ntrc*) については、代表的な文献のみ記した。

代謝プロファイル変化や葉緑体の形態異常などの様々な生理的变化を伴っている。これらの結果は、Trx 各サブタイプと NTRC がそれぞれ異なるレドックス制御能を協調的に働かせ、葉緑体の機能調節を支えていることを示している。そして、Trx ファミリーを統括する FTR と NTRC を同時に抑制・欠損させた変異株 (*ftrb/ntrc* 二重変異株) は、光合成能力をほぼ完全に失い、独立栄養成長を果たすことすらできなくなる³⁹⁾。FTR/Trx 経路と NTRC 経路を軸としたレドックス制御ネットワークを組織することが植物にとっていかに重要か—以上の結果はその多大なるインパクトを強く裏付けている。

7. おわりに

これまでの数多くの研究によって、レドックスを基盤とした葉緑体の機能統御ネットワークの分子基盤と生理意義が少しずつ明らかになってきた。とはいえ情報を整理してみると、やっぱりまだまだ分からないことだらけだということを再認識させられる。そのような未解明な点は本稿の随所で述べたが、例えば植物個体の一生にわたる機能ダイナミクスや標的タンパク質の酸化側の反応を司る分子メカニズムなど、他にも疑問は尽きない。葉緑体の様々な生理機能とクロストークを持つ極めて複雑な制御システムであるからこそ、その全体像を明らかにするためには、より視野を広げて研究を進めていくことが重要であろう。今後もタンパク質分子～植物個体レベルの包括的解析を推し進め、レドックス制御ネットワークの未知なる側面を探っていきたいと考えている。

Received Mar 3, 2018; Accepted April 4, 2018; Published April 30, 2018.

参考文献

1. Laurent, T. C., Moore, E. C., and Reichard, P. (1964) Enzymatic synthesis of deoxyribonucleotides. IV. Isolation and characterization of thioredoxin, the hydrogen donor from *Escherichia coli* B. *J. Biol. Chem.* 239, 3436–3444.
2. Buchanan, B. B. (1980) Role of light in the regulation of chloroplast enzymes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31, 341–374.
3. Buchanan, B. B., and Balmer, Y. (2005) Redox regulation: a broadening horizon. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56, 187–220.
4. Lemaire, S. D., Michelet, L., Zaffagnini, M., Massot, V., and Issakidis-Bourguet, E. (2007) Thioredoxins in chloroplasts. *Curr. Genet.* 51, 343–365.
5. Serrato, A. J., Fernandez-Trijuque, J., Barajas-Lopez, J. D., Chueca, A., and Sahrawy, M. (2013) Plastid thioredoxins: a "one-for-all" redox-signaling system in plants. *Front. Plant Sci.* 4, 463.
6. Geigenberger, P., Thormahlen, I., Daloso, D. M., and Fernie, A. R. (2017) The unprecedented versatility of the plant thioredoxin system. *Trends Plant Sci.* 22, 249–262.
7. Motohashi, K., Kondoh, A., Stumpp, M. T., and Hisabori, T. (2001) Comprehensive survey of proteins targeted by chloroplast thioredoxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 11224–11229.
8. Yano, H., Wong, J. H., Lee, Y. M., Cho, M. J., and Buchanan, B. B. (2001) A strategy for the identification of proteins targeted by thioredoxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 4794–4799.
9. Balmer, Y., Vensel, W. H., Hurkman, W. J., and Buchanan, B. B. (2006) Thioredoxin target proteins in chloroplast thylakoid membranes. *Antioxid. Redox Signal.* 8, 1829–1834.
10. Bartsch, S., Monnet, J., Selbach, K., Quigley, F., Gray, J., von Wettstein, D., Reinbothe, S., and Reinbothe, C. (2008) Three thioredoxin targets in the inner envelope membrane of chloroplasts function in protein import and chlorophyll metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 4933–4938.
11. Hall, M., Mata-Cabana, A., Akerlund, H. E., Florencio, F. J., Schroder, W. P., Lindahl, M., and Kieselbach, T. (2010) Thioredoxin targets of the plant chloroplast lumen and their implications for plastid function. *Proteomics* 10, 987–1001.
12. Lindahl, M., and Kieselbach, T. (2009) Disulphide proteomes and interactions with thioredoxin on the track towards understanding redox regulation in chloroplasts and cyanobacteria. *J. Proteomics* 72, 416–438.
13. Montrichard, F., Alkhalifioui, F., Yano, H., Vensel, W. H., Hurkman, W. J., and Buchanan, B. B. (2009) Thioredoxin targets in plants: the first 30 years. *J. Proteomics* 72, 452–474.

14. Wolosiuk, R. A., Crawford, N. A., Yee, B. C., and Buchanan, B. B. (1979) Isolation of three thioredoxins from spinach leaves. *J. Biol. Chem.* 254, 1627–1632.
15. Schurmann, P., Maeda, K., and Tsugita, A. (1981) Isomers in thioredoxins of spinach chloroplasts. *Eur. J. Biochem.* 116, 37–45.
16. Geck, M. K., Larimer, F. W., and Hartman, F. C. (1996) Identification of residues of spinach thioredoxin *f* that influence interactions with target enzymes. *J. Biol. Chem.* 271, 24736–24740.
17. Collin, V., Issakidis-Bourguet, E., Marchand, C., Hirasawa, M., Lancelin, J. M., Knaff, D. B., and Miginiac-Maslow, M. (2003) The *Arabidopsis* plastidial thioredoxins: new functions and new insights into specificity. *J. Biol. Chem.* 278, 23747–23752.
18. Yoshida, K., Hara, S., and Hisabori, T. (2015) Thioredoxin selectivity for thiol-based redox regulation of target proteins in chloroplasts. *J. Biol. Chem.* 290, 14278–14288.
19. Hodges, M., Miginiac-Maslow, M., Decottignies, P., Jacquot, J. P., Stein, M., Lepiniec, L., Cretin, C., and Gadal, P. (1994) Purification and characterization of pea thioredoxin *f* expressed in *Escherichia coli*. *Plant Mol. Biol.* 26, 225–234.
20. Miginiac-Maslow, M., and Lancelin, J. M. (2002) Intrasteric inhibition in redox signalling: light activation of NADP-malate dehydrogenase. *Photosynth. Res.* 72, 1–12.
21. Schwarz, O., Schurmann, P., and Strotmann, H. (1997) Kinetics and thioredoxin specificity of thiol modulation of the chloroplast H⁺-ATPase. *J. Biol. Chem.* 272, 16924–16927.
22. Zhang, N., and Portis, A. R., Jr. (1999) Mechanism of light regulation of Rubisco: a specific role for the larger Rubisco activase isoform involving reductive activation by thioredoxin-*f*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 9438–9443.
23. Marri, L., Zaffagnini, M., Collin, V., Issakidis-Bourguet, E., Lemaire, S. D., Pupillo, P., Sparla, F., Miginiac-Maslow, M., and Trost, P. (2009) Prompt and easy activation by specific thioredoxins of Calvin cycle enzymes of *Arabidopsis thaliana* associated in the GAPDH/CP12/PRK supramolecular complex. *Mol Plant* 2, 259–269.
24. Sasaki, Y., Kozaki, A., and Hatano, M. (1997) Link between light and fatty acid synthesis: thioredoxin-linked reductive activation of plastidic acetyl-CoA carboxylase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 11096–11101.
25. Ballicora, M. A., Frueauf, J. B., Fu, Y., Schurmann, P., and Preiss, J. (2000) Activation of the potato tuber ADP-glucose pyrophosphorylase by thioredoxin. *J. Biol. Chem.* 275, 1315–1320.
26. Mikkelsen, R., Mutenda, K. E., Mant, A., Schurmann, P., and Blennow, A. (2005) α -Glucan, water dikinase (GWD): a plastidic enzyme with redox-regulated and coordinated catalytic activity and binding affinity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 1785–1790.
27. Sparla, F., Costa, A., Lo Schiavo, F., Pupillo, P., and Trost, P. (2006) Redox regulation of a novel plastid-targeted β -amylase of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 141, 840–850.
28. Yamaryo, Y., Motohashi, K., Takamiya, K., Hisabori, T., and Ohta, H. (2006) In vitro reconstitution of monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) synthase regulation by thioredoxin. *FEBS Lett.* 580, 4086–4090.
29. Seung, D., Thalmann, M., Sparla, F., Abou Hachem, M., Lee, S. K., Issakidis-Bourguet, E., Svensson, B., Zeeman, S. C., and Santelia, D. (2013) *Arabidopsis thaliana* AMY3 is a unique redox-regulated chloroplastic α -amylase. *J. Biol. Chem.* 288, 33620–33633.
30. Silver, D. M., Silva, L. P., Issakidis-Bourguet, E., Glaring, M. A., Schriemer, D. C., and Moorhead, G. B. (2013) Insight into the redox regulation of the phosphoglucan phosphatase SEX4 involved in starch degradation. *FEBS J.* 280, 538–548.
31. Thormahlen, I., Ruber, J., von Roepenack-Lahaye, E., Ehrlich, S. M., Massot, V., Hummer, C., Tezycka, J., Issakidis-Bourguet, E., and Geigenberger, P. (2013) Inactivation of thioredoxin *f1* leads to decreased light activation of ADP-glucose pyrophosphorylase and altered diurnal starch turnover in leaves of *Arabidopsis* plants. *Plant Cell Environ.* 36, 16–29.
32. Skryhan, K., Cuesta-Seijo, J. A., Nielsen, M. M., Marri, L., Mellor, S. B., Glaring, M. A., Jensen, P. E., Palcic, M. M., and Blennow, A. (2015) The role of cysteine residues in redox regulation and protein stability of *Arabidopsis thaliana* starch synthase 1. *PLoS One* 10, e0136997.
33. Motohashi, K., and Hisabori, T. (2006) HCF164 receives reducing equivalents from stromal thioredoxin across the thylakoid membrane and mediates reduction of target proteins in the thylakoid lumen. *J. Biol. Chem.* 281, 35039–35047.

34. Motohashi, K., and Hisabori, T. (2010) CcdA is a thylakoid membrane protein required for the transfer of reducing equivalents from stroma to thylakoid lumen in the higher plant chloroplast. *Antioxid. Redox Signal.* 13, 1169–1176.
35. Gopalan, G., He, Z., Balmer, Y., Romano, P., Gupta, R., Heroux, A., Buchanan, B. B., Swaminathan, K., and Luan, S. (2004) Structural analysis uncovers a role for redox in regulating FKBP13, an immunophilin of the chloroplast thylakoid lumen. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 13945–13950.
36. Simionato, D., Basso, S., Zaffagnini, M., Lana, T., Marzotto, F., Trost, P., and Morosinotto, T. (2015) Protein redox regulation in the thylakoid lumen: the importance of disulfide bonds for violaxanthin de-epoxidase. *FEBS Lett.* 589, 919–923.
37. Collin, V., Lamkemeyer, P., Miginiac-Maslow, M., Hirasawa, M., Knaff, D. B., Dietz, K. J., and Issakidis-Bourguet, E. (2004) Characterization of plastidial thioredoxins from *Arabidopsis* belonging to the new γ -type. *Plant Physiol.* 136, 4088–4095.
38. Ikegami, A., Yoshimura, N., Motohashi, K., Takahashi, S., Romano, P. G., Hisabori, T., Takamiya, K., and Masuda, T. (2007) The CHL11 subunit of *Arabidopsis thaliana* magnesium chelatase is a target protein of the chloroplast thioredoxin. *J. Biol. Chem.* 282, 19282–19291.
39. Yoshida, K., and Hisabori, T. (2016) Two distinct redox cascades cooperatively regulate chloroplast functions and sustain plant viability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, E3967–E3976.
40. Chibani, K., Tarrago, L., Schurmann, P., Jacquot, J. P., and Rouhier, N. (2011) Biochemical properties of poplar thioredoxin α . *FEBS Lett.* 585, 1077–1081.
41. Yoshida, K., and Hisabori, T. (2017) Distinct electron transfer from ferredoxin-thioredoxin reductase to multiple thioredoxin isoforms in chloroplasts. *Biochem. J.* 474, 1347–1360.
42. Naranjo, B., Diaz-Espejo, A., Lindahl, M., and Cejudo, F. J. (2016) Type- f thioredoxins have a role in the short-term activation of carbon metabolism and their loss affects growth under short-day conditions in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 67, 1951–1964.
43. Pulido, P., Spinola, M. C., Kirchsteiger, K., Guinea, M., Pascual, M. B., Sahrawy, M., Sandalio, L. M., Dietz, K. J., Gonzalez, M., and Cejudo, F. J. (2010) Functional analysis of the pathways for 2-Cys peroxiredoxin reduction in *Arabidopsis thaliana* chloroplasts. *J. Exp. Bot.* 61, 4043–4054.
44. Laugier, E., Tarrago, L., Courteille, A., Innocenti, G., Eymery, F., Rumeau, D., Issakidis-Bourguet, E., and Rey, P. (2013) Involvement of thioredoxin γ 2 in the preservation of leaf methionine sulfoxide reductase capacity and growth under high light. *Plant Cell Environ.* 36, 670–682.
45. Ojeda, V., Perez-Ruiz, J. M., Gonzalez, M., Najera, V. A., Sahrawy, M., Serrato, A. J., Geigenberger, P., and Cejudo, F. J. (2017) NADPH thioredoxin reductase C and thioredoxins act concertedly in seedling development. *Plant Physiol.* 174, 1436–1448.
46. Wang, P., Liu, J., Liu, B., Feng, D., Da, Q., Wang, P., Shu, S., Su, J., Zhang, Y., Wang, J., and Wang, H. B. (2013) Evidence for a role of chloroplastic m -type thioredoxins in the biogenesis of photosystem II in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 163, 1710–1728.
47. Okegawa, Y., and Motohashi, K. (2015) Chloroplastic thioredoxin m functions as a major regulator of Calvin cycle enzymes during photosynthesis in vivo. *Plant J.* 84, 900–913.
48. Chi, Y. H., Moon, J. C., Park, J. H., Kim, H. S., Zulfugarov, I. S., Fanata, W. I., Jang, H. H., Lee, J. R., Lee, Y. M., Kim, S. T., Chung, Y. Y., Lim, C. O., Kim, J. Y., Yun, D. J., Lee, C. H., Lee, K. O., and Lee, S. Y. (2008) Abnormal chloroplast development and growth inhibition in rice thioredoxin m knock-down plants. *Plant Physiol.* 148, 808–817.
49. Courteille, A., Vesa, S., Sanz-Barrio, R., Cazale, A. C., Becuwe-Linka, N., Farran, I., Havaux, M., Rey, P., and Rumeau, D. (2013) Thioredoxin $m4$ controls photosynthetic alternative electron pathways in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 161, 508–520.
50. Da, Q., Sun, T., Wang, M., Jin, H., Li, M., Feng, D., Wang, J., Wang, H. B., and Liu, B. (2018) M -type thioredoxins are involved in the xanthophyll cycle and proton motive force to alter NPQ under low-light conditions in *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep.* 37, 279–291.
51. Peltier, J. B., Emanuelsson, O., Kalume, D. E., Ytterberg, J., Friso, G., Rudella, A., Liberles, D. A., Soderberg, L., Roepstorff, P., von Heijne, G., and van Wijk, K. J. (2002) Central functions of the lumenal and peripheral thylakoid proteome of *Arabidopsis* determined by experimentation and genome-wide prediction. *Plant Cell* 14, 211–236.
52. Arsova, B., Hoja, U., Wimmelbacher, M., Greiner, E., Ustun, S., Melzer, M., Petersen, K., Lein, W., and Bornke, F. (2010) Plastidial thioredoxin α interacts

- with two fructokinase-like proteins in a thiol-dependent manner: evidence for an essential role in chloroplast development in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell* 22, 1498–1515.
53. Schroter, Y., Steiner, S., Matthai, K., and Pfannschmidt, T. (2010) Analysis of oligomeric protein complexes in the chloroplast sub-proteome of nucleic acid-binding proteins from mustard reveals potential redox regulators of plastid gene expression. *Proteomics* 10, 2191–2204.
 54. Steiner, S., Schroter, Y., Pfalz, J., and Pfannschmidt, T. (2011) Identification of essential subunits in the plastid-encoded RNA polymerase complex reveals building blocks for proper plastid development. *Plant Physiol.* 157, 1043–1055.
 55. Wimmelbacher, M., and Bornke, F. (2014) Redox activity of thioredoxin ζ and fructokinase-like protein 1 is dispensable for autotrophic growth of *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 65, 2405–2413.
 56. Serrato, A. J., Perez-Ruiz, J. M., Spinola, M. C., and Cejudo, F. J. (2004) A novel NADPH thioredoxin reductase, localized in the chloroplast, which deficiency causes hypersensitivity to abiotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 279, 43821–43827.
 57. Perez-Ruiz, J. M., Spinola, M. C., Kirchsteiger, K., Moreno, J., Sahrawy, M., and Cejudo, F. J. (2006) Rice NTRC is a high-efficiency redox system for chloroplast protection against oxidative damage. *Plant Cell* 18, 2356–2368.
 58. Moon, J. C., Jang, H. H., Chae, H. B., Lee, J. R., Lee, S. Y., Jung, Y. J., Shin, M. R., Lim, H. S., Chung, W. S., Yun, D. J., and Lee, K. O. (2006) The C-type *Arabidopsis* thioredoxin reductase ANTR-C acts as an electron donor to 2-Cys peroxiredoxins in chloroplasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 348, 478–484.
 59. Konig, J., Baier, M., Horling, F., Kahmann, U., Harris, G., Schurmann, P., and Dietz, K. J. (2002) The plant-specific function of 2-Cys peroxiredoxin-mediated detoxification of peroxides in the redox-hierarchy of photosynthetic electron flux. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 5738–5743.
 60. Bernal-Bayard, P., Ojeda, V., Hervas, M., Cejudo, F. J., Navarro, J. A., Velazquez-Campoy, A., and Perez-Ruiz, J. M. (2014) Molecular recognition in the interaction of chloroplast 2-Cys peroxiredoxin with NADPH-thioredoxin reductase C (NTRC) and thioredoxin x . *FEBS Lett* 588, 4342–4347.
 61. Sueoka, K., Yamazaki, T., Hiyama, T., and Nakamoto, H. (2009) The NADPH thioredoxin reductase C functions as an electron donor to 2-Cys peroxiredoxin in a thermophilic cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus* BP-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 380, 520–524.
 62. Pascual, M. B., Mata-Cabana, A., Florencio, F. J., Lindahl, M., and Cejudo, F. J. (2011) A comparative analysis of the NADPH thioredoxin reductase C-2-Cys peroxiredoxin system from plants and cyanobacteria. *Plant Physiol.* 155, 1806–1816.
 63. Sanchez-Riego, A. M., Mata-Cabana, A., Galmozzi, C. V., and Florencio, F. J. (2016) NADPH-thioredoxin reductase C mediates the response to oxidative stress and thermotolerance in the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC7120. *Front. Microbiol.* 7, 1283.
 64. Mihara, S., Yoshida, K., Higo, A., and Hisabori, T. (2017) Functional significance of NADPH-thioredoxin reductase C in the antioxidant defense system of cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. *Plant Cell Physiol.* 58, 86–94.
 65. Michalska, J., Zauber, H., Buchanan, B. B., Cejudo, F. J., and Geigenberger, P. (2009) NTRC links built-in thioredoxin to light and sucrose in regulating starch synthesis in chloroplasts and amyloplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 9908–9913.
 66. Richter, A. S., Peter, E., Rothbart, M., Schlicke, H., Toivola, J., Rintamaki, E., and Grimm, B. (2013) Posttranslational influence of NADPH-dependent thioredoxin reductase C on enzymes in tetrapyrrole synthesis. *Plant Physiol.* 162, 63–73.
 67. Perez-Ruiz, J. M., Guinea, M., Puerto-Galan, L., and Cejudo, F. J. (2014) NADPH thioredoxin reductase C is involved in redox regulation of the Mg-chelatase I subunit in *Arabidopsis thaliana* chloroplasts. *Mol. Plant* 7, 1252–1255.
 68. Nikkanen, L., Toivola, J., and Rintamaki, E. (2016) Crosstalk between chloroplast thioredoxin systems in regulation of photosynthesis. *Plant Cell Environ.* 39, 1691–1705.
 69. Toivola, J., Nikkanen, L., Dahlstrom, K. M., Salminen, T. A., Lepisto, A., Vignols, H. F., and Rintamaki, E. (2013) Overexpression of chloroplast NADPH-dependent thioredoxin reductase in *Arabidopsis* enhances leaf growth and elucidates *in vivo* function of reductase and thioredoxin domains. *Front. Plant Sci.* 4, 389.

70. Thormahlen, I., Meitzel, T., Groysman, J., Ochsner, A. B., von Roepenack-Lahaye, E., Naranjo, B., Cejudo, F. J., and Geigenberger, P. (2015) Thioredoxin *f1* and NADPH-dependent thioredoxin reductase C have overlapping functions in regulating photosynthetic metabolism and plant growth in response to varying light conditions. *Plant Physiol.* 169, 1766–1786.
71. Da, Q., Wang, P., Wang, M., Sun, T., Jin, H., Liu, B., Wang, J., Grimm, B., and Wang, H. B. (2017) Thioredoxin and NADPH-dependent thioredoxin reductase C regulation of tetrapyrrole biosynthesis. *Plant Physiol.* 175, 652–666.
72. Thormahlen, I., Zupok, A., Rescher, J., Leger, J., Weissenberger, S., Groysman, J., Orwat, A., Chatel-Innocenti, G., Issakidis-Bourguet, E., Armbruster, U., and Geigenberger, P. (2017) Thioredoxin play a crucial role in dynamic acclimation of photosynthesis in fluctuating light. *Mol. Plant.* 10, 168–182.
73. Lepisto, A., Kangasjarvi, S., Luomala, E.-M., Brader, G., Sipari, N., Keranen, M., Keinanen, M., and Rintamaki, E. (2009) Chloroplast NADPH-thioredoxin reductase interacts with photoperiodic development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 149, 1261–1276.
74. Kirchsteiger, K., Pulido, P., Gonzalez, M., and Cejudo, F. J. (2009) NADPH thioredoxin reductase C controls the redox status of chloroplast 2-Cys peroxiredoxins in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant* 2, 298–307.
75. Stenbaek, A., Hansson, A., Wulff, R. P., Hansson, M., Dietz, K.-J., and Jensen, P. E. (2008) NADPH-dependent thioredoxin reductase and 2-Cys peroxiredoxins are needed for the protection of Mg-protoporphyrin monomethyl ester cyclase. *FEBS Lett.* 582, 2773–2778.
76. Carrillo, L. R., Froehlich, J. E., Cruz, J. A., Savage, L. J., and Kramer, D. M. (2016) Multi-level regulation of the chloroplast ATP synthase: the chloroplast NADPH thioredoxin reductase C (NTRC) is required for redox modulation specifically under low irradiance. *Plant J.* 87, 654–663.
77. Naranjo, B., Mignee, C., Krieger-Liszkay, A., Hornero-Mendez, D., Gallardo-Guerrero, L., Cejudo, F. J., and Lindahl, M. (2016) The chloroplast NADPH thioredoxin reductase C, NTRC, controls non-photochemical quenching of light energy and photosynthetic electron transport in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ.* 39, 804–822.

Redox-based regulatory network for controlling chloroplast functions

Keisuke Yoshida

Laboratory for Chemistry and Life Science, Tokyo Institute of Technology

解説

Flaveria 属における C₄ 型光合成の進化過程[†]

関西学院大学 理工学部 生命科学科
谷口 幸美*

C₄型光合成は大気中の湿度やCO₂濃度の低下といった環境の変化に適応して植物が獲得した収斂進化の一形態であり、C₃型光合成を行う祖先種からC₂型(C₃-C₄中間型)を経てC₄型光合成を行う種が発生した可能性が示唆されている。C₄型光合成を行う植物種の多くは葉肉細胞と維管束鞘細胞の二細胞間で分業し光合成を行うが、このためには二種類の細胞の位置を正しく制御し、かつ二細胞間の連携をとることが重要となる。本稿ではC₃種、C₄種に加えてC₂種(C₃-C₄中間種)、C₄-like種が多数現存するキク科の*Flaveria*属植物をモデルとして、段階的に進んだと考えられるC₄型光合成の進化過程やその過程で起こる形態的变化、遺伝子発現の変化について紹介する。

1. はじめに

C₃型光合成ではCO₂の固定からショ糖やデンプンなどの炭水化物合成までの一連の代謝反応は主に葉肉細胞内で行われる。これに対してC₄型光合成のうちの大部分を占める二細胞性のC₄型光合成では、二種類の細胞が協働してC₄回路を駆動し一方の細胞にCO₂を濃縮する(一細胞内でCO₂を局所的に濃縮するものも少数ながら存在している^{47,48})。二細胞性のC₄型光合成では、気孔から入ったCO₂は重炭酸イオンに変換された後、葉肉細胞において炭素数が4つのオキサロ酢酸に固定され、アスパラギン酸またはリンゴ酸へと変換された後に維管束鞘細胞へと輸送される。維管束鞘細胞では、脱炭酸酵素の働きにより放出されたCO₂が維管束鞘細胞に局在するribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO)によって再固定され炭水化物合成までの代謝反応が行われる。脱炭酸反応で生じたピルビン酸(後述するNAD-malic enzyme型ではアラニン)やホスホエノールピルビン酸は葉肉細胞に戻され再び最初のCO₂固定反応の基質となる(C₄回路)。C₄型光合成を行う種ではRuBisCOの発

現領域が維管束鞘細胞へ限定されており、C₄回路により維管束鞘細胞内のCO₂分圧が高く保たれているため、RuBisCOのオキシゲナーゼ反応が抑制され、高温や乾燥など葉内のCO₂濃度が低下する条件下でも高い光合成効率を示す。トウモロコシ(*Zea mays*)やサトウキビ(*Saccharum officinarum*)に代表されるC₄型光合成を行う作物は高温や乾燥条件下でも旺盛な生育を示し生産性が非常に高いことが知られているが、それはこのC₄型光合成に由来する形質である。

地球上にC₄型光合成を営む陸上植物は19科7500種ほどが存在することが確認されており、これらは62系統(単子葉類26系統、双子葉類36系統)に分類される³⁸)。また、C₄回路に関与する遺伝子群はC₃種のゲノムにもコードされていることが知られている⁴²)。このように、C₃種のゲノムにC₄型光合成に必要な遺伝子が存在しており、かつ多くの独立した系統においてC₄型への進化が起こったと考えられることから、C₄型光合成は収斂進化形質でありC₃型植物がもともと持っている遺伝子の発現などを変化させることでC₄化が引き起こされたと考えられている³⁷)。また、C₃型とC₄型の中間的な光合成特性を示すC₂型(C₃-C₄中間型)に分類される植物が21系統存在し、そのうち14系統はC₄型種と共通の

[†]解説特集「変動する光量への光合成機能の調節」

*連絡先 E-mail: y-taniguchi@kwansei.ac.jp

祖先をもつことが報告されていることから³⁹⁾、 C_4 型光合成は C_3 型から一足飛びに発生したのではなく C_2 型(C_3 - C_4 中間型)を経て発生したと考えられている。キク科 *Flaveria* 属植物は C_4 種が含まれる系統の中では比較的近年(約300万年前から現在にかけて)に C_4 化が起こったとされる属であり³⁸⁾、同属内に C_3 種や C_4 種だけでなく9つの C_2 種(C_3 - C_4 中間種)、3つの C_4 -like種を含んでいる²³⁾。*Flaveria* 属植物の起源と分類については本稿では詳述しないが、著者らの総説²⁹⁾に記載されているので参考にして頂きたい。*Flaveria* 属植物に関して光合成様式や生理学的な知見が比較的多いことから、本稿ではこれらをモデルとして C_4 型光合成の進化過程とその過程で起こる形態的变化や遺伝子発現の変化について紹介する。

2. C_4 型光合成における C_4 回路と葉内構造

C_4 回路には、維管束鞘細胞で機能する脱炭酸酵素の種類によって分けられた3つのサブタイプがある。葉緑体に局在するNADP-malic enzyme (NADP-ME)によってリンゴ酸が脱炭酸されるNADP-ME型、ミトコンドリアに局在するNAD-malic enzyme (NAD-ME)によってリンゴ酸が脱炭酸されるNAD-ME型、サイトゾルのPEP carboxykinase (PEP-CK)によってオキサロ酢酸が脱炭酸されるPEPCK型である¹⁸⁾。 C_4 型植物のこれらのサブタイプへの分類は、主に働く脱炭酸酵素によって分類されており、複数の経路を併用している植物種も存在する^{13,25,49,51)}。また、系統分類の上で同一系統に属する C_4 種に複数のサブタイプが存在する例も報告されており(*Panicoideae*にはNADP-ME型の*Setaria*属、NAD-ME型の*Panicum*属、PEP-CK型の*Megathyrsus*属が存在している⁶⁾)、 C_4 植物が進化の過程でいずれの C_4 回路のサブタイプを利用するようになったのかは、かなりフレキシブルであるようである。

C_4 型光合成を行う植物の葉には C_4 回路のサブタイプによらずクランツ構造とよばれる解剖学的特徴がある⁵⁾(一細胞内で CO_2 を局所的に濃縮するものにはクランツ構造は見られない^{47,48)})

(図1)。クランツ構造は維管束もしくは貯水組織の周囲に配置される大きく肥大化した細胞(クランツ細胞)とその外側に配置される葉肉細胞が花冠(リース、ドイツ語でKranz)のようにみえることから名付けられた。 C_4 型光合成を行う種では CO_2 は最初に葉肉細胞で同化され、クランツ細胞に濃縮される。本稿で紹介する*Flaveria*属やトウモロコシなど、多くの C_4 種ではクランツ細胞に相当するのは維管束鞘細胞である(一部メストム鞘や維管束の柔組織がクランツ細胞に相当する種も存在している^{5,8)})。また、いくつかの C_4 種では葉肉細胞と維管束鞘細胞の間にもう一層細胞層が存在するものもあるが^{8,9)}、基本的には最初に CO_2 を C_4 ジカルボン酸へと固定する細胞とそれを脱炭酸して CO_2 濃縮する細胞が分かれているところに特徴がある。 C_4 種の維管束鞘細胞は葉肉細胞に比べて大きく、葉緑体が蓄積しているが、葉緑体以外の細胞小器官の数やサイズや細胞内での位置にも大きな違いがある。維管束鞘細胞における細胞小器官の特徴は利用している C_4 回路のサブタイプとも密接に関連しており、例えばNADP-ME型ではクランツ細胞の葉緑体におけるPSIIが減少しているがNAD-ME型ではそのようなことは見られない^{8,9,12,15)}。また、NAD-ME型では脱炭酸はミトコンドリアで行われるが、NADP-ME型では葉緑体で行われる¹⁴⁾ために、NAD-ME型の維管束鞘細胞のミトコンドリアは近縁のNADP-ME型の種と比較して大きく数も多くなっている^{8,19,32,50)}。 C_4 種の葉肉細胞では近縁の C_3 種と比較して葉緑体の数が少なく、 C_3 種の葉緑体が葉肉細胞の周縁部をカバーするように存在するのに対して C_4 種ではそのような配置は見られない^{44,45)}。この葉肉細胞における葉緑体の減少と配置の変化によって、サイトゾルに存在するPEP carboxyrase (PEPC)が CO_2 (HCO_3^-)をより捕捉しやすくなっていると考えられている³⁹⁾。

3. C_3 型から C_2 型(C_3 - C_4 中間型)へ

前述したとおり C_3 型から C_4 型への進化は一足飛びに起こったのではなく、 C_2 型(C_3 - C_4 中間型)を経ていると予想されている。 C_2 型(C_3 - C_4 中間

型)の光合成では C_4 回路ではなく光呼吸によって生じる炭素数 2 のグリシンを利用したグリシンシャトル (C_2 回路)を用いて維管束鞘細胞へ CO_2 を濃縮しており (図 1)、このことが“ C_2 型”という名称の由来となっている。 C_2 回路が機能

する結果、 C_2 種 (C_3 - C_4 中間種) は C_3 種よりも低く C_4 種よりは高い CO_2 補償点を示す^{3,20}。 C_2 回路では RuBisCO のオキシゲナーゼ反応によって生じる 2-ホスホグリコール酸がペルオキシソームでグリシンへと変換され、維管束鞘細胞のミトコ

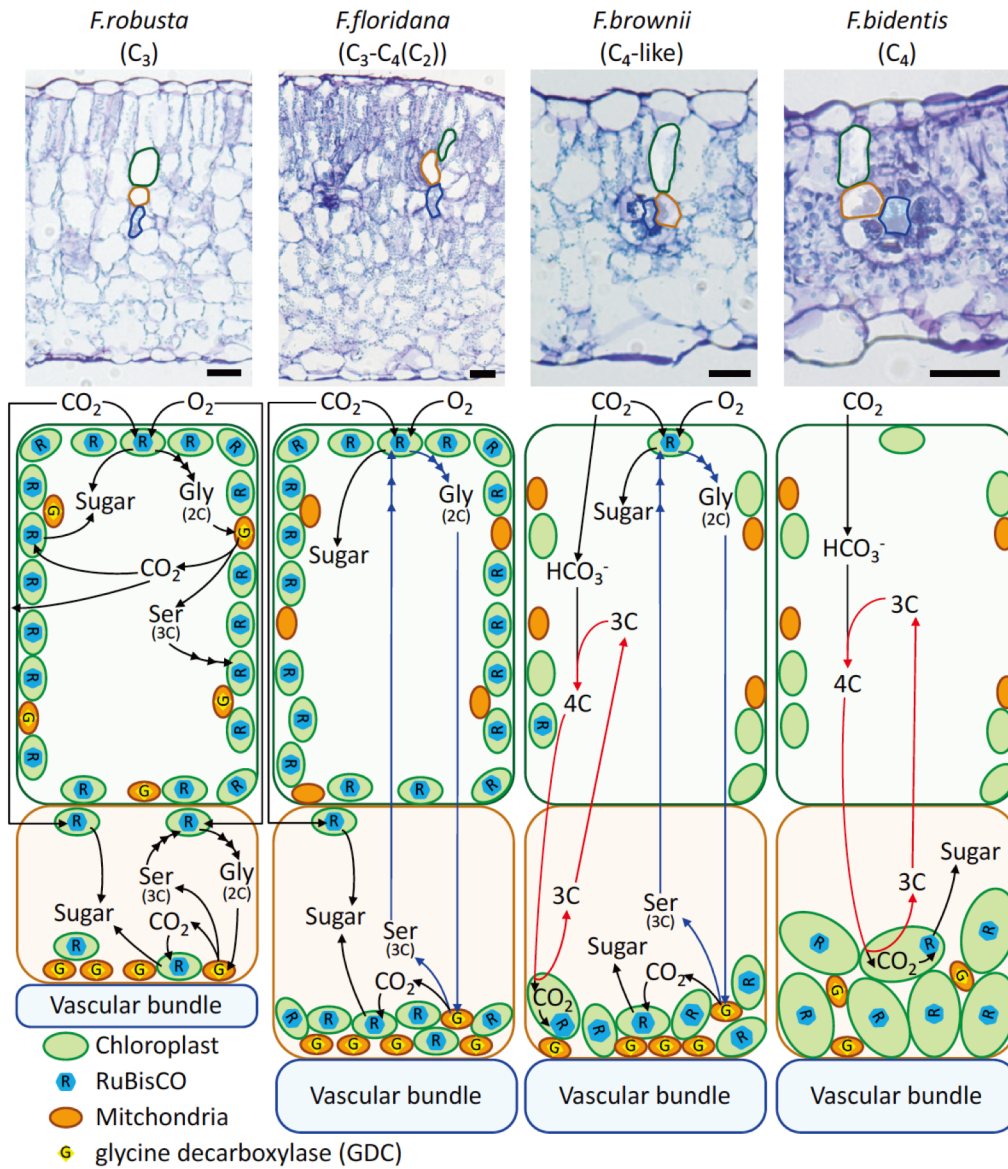


図 1. *Flaveria* 属における C_3 型から C_4 型への進化過程の模式図

上段：各植物種の成熟葉の横断切片。緑色囲みは葉肉細胞、オレンジ色囲みは維管束鞘細胞の代表的な位置を示している。また、青色囲みは維管束の位置を示している。bar=50 μ m

下段：各植物種における代謝経路の概略図。緑色で示す細胞は葉肉細胞を、オレンジ色で示す細胞は維管束鞘細胞を、青色枠は維管束を、青矢印で示す経路は C_2 回路を、赤矢印で示す経路は C_4 回路をそれぞれ表している。*Flaveria robusta* (C_3) では維管束鞘細胞のミトコンドリアが維管束側に偏って配置される proto-Kranz 構造が見られる。グリシン：Gly、セリン：Ser

ンドリアへと輸送されてそこで 2 分子のグリシンから CO₂ とセリンを生成する。生成された CO₂ は RuBisCO によって同化され、もう一方のセリンはペルオキシソームでグリセリン酸に変換された後に葉緑体で 3-ホスホグリセリン酸となり C₃ 回路へと合流する。この C₂ 回路による CO₂ 濃縮でカギとなるのはミトコンドリアに局在するグリシンデカルボキシラーゼ (GDC) の発現領域であり、C₃ 型では葉肉細胞と維管束鞘細胞のどちらのミトコンドリアにも GDC は存在するが、C₂ 型 (C₃-C₄ 中間型) では維管束鞘細胞のミトコンドリアに限定されることでグリシンが濃度依存的に維管束鞘細胞へと移動し二細胞間での C₂ 回路が働くようになったと考えられている^{10, 40)}。

また C₂ 型 (C₃-C₄ 中間型) では GDC の局在だけでなく葉内構造も C₃ 型と比較して大きく変化しており、維管束鞘細胞が肥大化し維管束鞘細胞内のミトコンドリアと葉緑体の配置が維管束側の細胞壁に偏っている、初期のクランツ構造を形成している⁴⁰⁾ (図 1)。この維管束鞘細胞内の細胞小器官の配置は、ミトコンドリアと葉緑体の位置が近くミトコンドリアで放出された CO₂ が再び漏れ出すのを抑制し葉緑体に効率的にトラップされることを可能にしていると考えられる。*Flaveria* 属を含め C₂ 型 (C₃-C₄ 中間型) が発生した地域は亜熱帯であり、光呼吸活性が高くなる生育条件であるため³⁸⁾、C₂ 回路による CO₂ 濃縮機構が有利であったと考えられる。

C₃ 型から C₂ 型 (C₃-C₄ 中間型) への進化はこれまで GDC の局在化の変化という比較的シンプルな変化で説明されてきたが、近年 *Flaveria* 属のいくつかの C₃ 型では維管束鞘細胞のミトコンドリアが既に維管束側に偏って局在している proto-Kranz とよばれる構造をもつ種があることが報告された⁴⁰⁾ (図 1)。この proto-Kranz 構造は、維管束鞘細胞において光呼吸によって放出される CO₂ を効率的に補足することを可能にし、C₂ 型 (C₃-C₄ 中間型) への進化の過程で GDC が維管束鞘細胞に局在するようになった際に C₂ 回路が機能することを促進していると考えられている。なぜ C₃ 型において維管束鞘細胞の変化が起こるのかは不明であるが、Sage らは高温・乾

燥環境下にある植物の維管束密度が高いことと関連する可能性を指摘している⁴⁰⁾。

4. C₂ 型 (C₃-C₄ 中間型) から C₄-like 型へ

Flaveria 属の C₄-like 種では C₄ 回路が機能しているが^{27, 28)}、C₂ 種 (C₃-C₄ 中間種) の多くは機能的な C₄ 回路を持たないことが報告されている³⁾。一方で、¹⁴CO₂ の取り込み実験において C₂ 種 (C₃-C₄ 中間種) でも C₄ ジカルボン酸への CO₂ の取り込みが低いレベルではあるが見られることも報告されている²⁶⁾。また、*Flaveria* 属トランスクリプトーム比較解析から *Flaveria* 属 C₂ 種 (C₃-C₄ 中間種) では C₄ 回路で働く酵素群である PEPC、ピルビン酸リン酸ジキナーゼ (PPDK)、NADP-ME、アスパラギン酸アミノ基転移酵素、アラニンアミノ基転移酵素などの発現が C₃ 種と比較して高いことが明らかになっている²²⁾。これらのことは、C₂ 種 (C₃-C₄ 中間種) においても C₄ 代謝酵素を使った代謝経路が部分的に機能することを想像させる。Mallman らは、C₂ 回路によって維管束鞘細胞においてグリシンの脱炭酸に伴って生成されるアンモニアを代謝するために C₄ 代謝酵素群が使われている可能性を指摘している²²⁾。加えて、筆者らの解析により、*Flaveria* 属 C₂ 種 (C₃-C₄ 中間種) *Flaveria floridana* では C₄ 回路で機能する酵素群は葉肉細胞と維管束鞘細胞の両方で発現しており、発現の細胞特異性は獲得されていないことが明らかになった (Taniguchi et al., in preparation)。*F. floridana* では細胞特異性なしに葉肉細胞と維管束鞘細胞の両方で C₄ 代謝酵素群の発現が上昇しているため、二細胞間での C₄ 回路による CO₂ 濃縮は機能していないのと考えられる。このように C₄ 回路で機能する酵素群は C₂ 種 (C₃-C₄ 中間種) ですでに発現が上昇しており、C₄ 回路を獲得するための形質変化は C₂ 種 (C₃-C₄ 中間種) の段階で既に始まっていると考えられる。一方、*Flaveria* 属 C₄-like 種 *Flaveria brownii* では C₄ 代謝酵素群の活性が C₂ 型種と比較して劇的に上昇していること²⁰⁾に加え、C₄ 種ほど完全ではないが C₄ 代謝酵素群が細胞特異的に発現していた (Taniguchi et al., in preparation)。炭素同位体分別測定による δ¹³C の値が C₄-like 種

*F. brownii*では低くC₄回路が機能していることが示されていることから²⁷⁾、C₄-like型ではC₄代謝酵素群の発現領域が限定化されることによりC₄回路がCO₂濃縮経路として機能するようになったのではないかと考えられる。また、C₄-like種*F. brownii*では葉肉細胞においてもRuBisCOが発現しておりC₃回路が機能している⁷⁾。葉肉細胞ではRuBisCOのオキシゲナーゼ反応も起こるため、C₂回路によるCO₂濃縮も機能していることが考えられている^{39, 41)}。他の*Flaveria*属C₄-like種(*Flaveria palmeri*や*Flaveria vaginata*)でもRuBisCOの発現が葉肉細胞に残存している²⁸⁾。つまり、C₂型(C₃-C₄中間型)からC₄-like型への進化の過程では、C₂回路によるCO₂濃縮とC₄回路によるCO₂濃縮を併用しながら段階的に移行していったと考えられる。

また、C₄-like型ではC₂型(C₃-C₄中間型)と比較して維管束鞘細胞の葉緑体が増加し大きくなり(C₄型よりは少なく小さい)^{2, 4)}、一層の維管束鞘細胞に対して葉肉細胞が一層取り囲むようなクランツ構造はC₂型(C₃-C₄中間型)からC₄-like型への進化の過程で明確になる²⁴⁾。

5. C₄-like型からC₄型へ

進化の最終ステップであるC₄-like型からC₄型への過程では、RuBisCOの発現領域が完全に維管束鞘細胞へと限定されることで、完全なC₄型光合成が成立することになる^{14, 34)}。また、これに伴ってC₄種ではC₂回路によるCO₂濃縮が失われる。RuBisCOの発現領域の限定化には転写後制御が関与することが知られており^{34, 35, 36)}、その機構としてmRNAの安定化に関与する因子やタンパク質の蓄積に関与する因子などが考えられているが詳しいことは明らかになっていない。また、C₄種ではRuBisCOの他にC₄回路の代謝酵素群も細胞特異的に発現が制御されているが、この細胞特異的な発現制御には転写制御や転写後制御、エピジェネティックな制御機構など様々な制御機構が関与することが示唆されている³⁶⁾。この他に*Flaveria*属のC₄種では維管束鞘細胞の葉緑体が肥大化しグラナ構造が大きく減少する^{1, 31)}。PSII複合体はグラナに局在しているため、このグラナ

構造の減少は維管束鞘細胞におけるPSIIの活性抑制につながっている^{33, 52)}。通常、C₃回路では1分子のCO₂固定あたりATPが3分子とNADPHが2分子必要であるが、C₄回路を駆動した結果NADP-ME型のC₄光合成の場合1分子のCO₂固定あたりATP5分子・NADPH2分子が必要となる。この、増加したATPに対する要求は、NADPHの生産なしにATPを生産できる循環型電子伝達系によってまかなわれていると考えられている^{31, 46)}。つまりC₄型の維管束鞘細胞の葉緑体ではPSIIの活性を抑制することにより直鎖型電子伝達系の活性を抑制し、循環型電子伝達系によるATP供給のみが行われていると考えられる。

6. 維管束鞘細胞と葉肉細胞の分化

C₂型(C₃-C₄中間型)では二細胞でCO₂濃縮を行うものの、維管束鞘細胞と葉肉細胞の存在比率は維管束鞘細胞1に対して3~5程度となるのに対して、C₄回路が機能するようになるC₄-like型以降の維管束鞘細胞と葉肉細胞は1:1の比率に近くなる²⁴⁾。この維管束鞘細胞に対してほぼ1つの葉肉細胞層を形成する際の細胞の作り分けはC₄型光合成にとって重要であるが、その分子機構などについては現在もほとんど解明されていない。30年近く前から、維管束から移行するシグナル分子がその隣に位置する維管束鞘細胞やさらに外側に配置される葉肉細胞という特徴を決定しているという仮説が提唱されており²¹⁾、近年になってトウモロコシの*Zmscr1*変異体において維管束鞘細胞の葉緑体発達に異常が観察されたことから⁴³⁾、モデルで提唱されているシグナル因子はSHORT ROOT(SHR)/SCARECROW(SCR)ではないかと指摘されている¹¹⁾。SHRとSCRはGRASファミリーに属する転写因子であり、シロイヌナズナにおいて根の“維管束-内皮-皮層”という放射状パターンの形成を制御する(図2)。シロイヌナズナの根においてSHRは中心柱で転写・翻訳され、その隣の内皮細胞へと拡散しそこで発現するSCRと直接的に相互作用することによりトラップされる。形成されたSHR/SCR複合体は内皮細胞の核に局在しSCR自身の転写を正に制御することによりフィードバックループを形成し

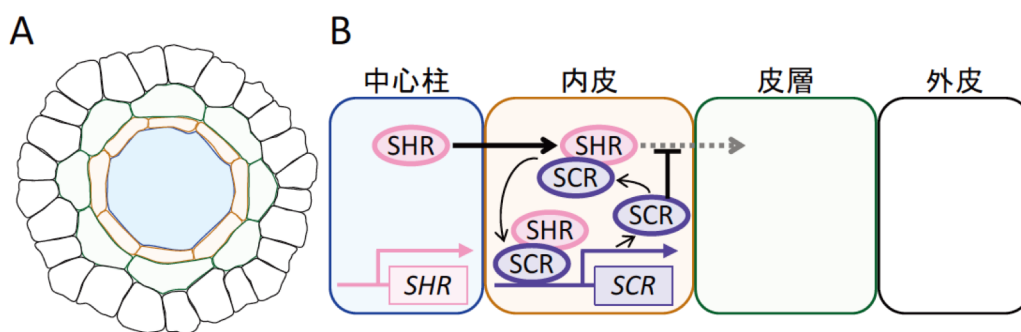


図2. シロイヌナズナの根における放射パターン形成

A: シロイヌナズナの根の横断面の模式図。青色は中心柱（維管束組織）、オレンジ色は内皮、緑色は皮層、白色は外皮をそれぞれ示している。B: SHR および SCR による制御機構。SHR は中心柱で転写・翻訳され、その隣の内皮細胞へと拡散しそこで発現する SCR と直接的に相互作用する。形成された SHR/SCR 複合体は内皮細胞の核に局在し SCR 自身の転写を正に制御することによりフィードバックループを形成しており、内皮細胞の隣（皮層）へ SHR が拡散することを阻害している。

内皮細胞のさらに隣（皮層）へ SHR が拡散することを阻害するとともに、そこが内皮細胞であるという位置を決めるシグナルとして機能している^{16, 17, 30}。このスキームを葉の維管束系に置き換えて考えると、維管束で発現する SHR が維管束鞘細胞に拡散しそこで発現する SCR と相互作用し維管束鞘細胞であるという特徴を決定するとともに、SHR が拡散してこなかった細胞は葉肉細胞となるというモデルになるが、このモデルでは葉肉細胞を一層に規定することができない。さらに現実はまだ少し複雑なようで、トウモロコシの細胞種別トランスクリプトーム解析においてトウモロコシに複数ある SHR 遺伝子のうちの1つは維管束だけでなく維管束鞘細胞でも発現しており、SCR と相同な遺伝子も維管束鞘細胞だけでなく葉肉細胞でも発現していることが示されている¹¹。このことに対して Fouracre らは維管束からの SHR が維管束鞘細胞を決定し、維管束鞘細胞からの SHR が葉肉細胞を決定するのではないかと推測している¹¹。これに対して *Flaveria bidentis* においてシロイヌナズナ SCR と相同な遺伝子の 5' 上流領域に GUS 遺伝子をつないで解析したところ、SCR のプロモーター活性は成熟葉においては維管束鞘細胞のみに観察された (Taniguchi et al., in preparation)。これらを考え合わせると、C₄ 型のクランツ構造を決定する分

子機構の解明には本葉発達の初期から維管束鞘細胞の形成過程を詳細に解析することが必要であると考えられる。また、現在我々は *Flaveria* 属 C₄ 種の変異体解析や C₂ 種と C₄-like 種の種間交雑種後代の解析を進めており、これらの解析が進めば分子的な C₄ 進化の過程が明らかになることが期待される。

Received Mar 1, 2018; Accepted April 4, 2018; Published April 30, 2018.

参考文献

1. Andersen K.S., Bain J.M., Bishop D.G. and Smillie R.M. (1972) Photosystem II activity in agranal bundle sheath chloroplasts from *Zea mays*. *Plant Physiol.* 49, 461–466.
2. Araus J.L., Brown R.H., Bouton J.H. and Serret M.D. (1990) Leaf anatomical characteristics in *Flaveria trinervia* (C₄), *Flaveria brownii* (C₄-like) and their F1 hybrid. *Photosynth. Res.* 26, 49–57.
3. Bauwe H. (2011) Photorespiration the bridge to C₄ photosynthesis. in *C₄ Photosynthesis and Related CO₂ Concentrating Mechanisms* (Raghavendra A.S. and Sage R.F., Eds.) pp 81–108, Springer Netherlands, Dordrecht, Netherlands

4. Brown R.H. and Hattersley P.W. (1989) Leaf anatomy of C₃-C₄ species as related to evolution of C₄ photosynthesis. *Plant Physiol.* 91, 1543–1550.
5. Brown W.V. (1975) Variations in anatomy, associations, and origins of Kranz tissue. *Am. J. Bot.* 62, 395–402.
6. Brutnell T.P., Wang L., Swartwood K., Goldschmidt A., Jackson D., Zhu X.G., Kellogg E. and Van Eck J. (2010) *Setaria viridis*: a model for C₄ photosynthesis. *Plant Cell* 22, 2537–2544.
7. Cheng S.H., Moore B.D., Edwards G.E. and Ku M.S. (1988) Photosynthesis in *Flaveria brownii*, a C₄-Like Species *Plant Physiol.* 87, 867–873.
8. Dengler N.G. and Nelson T. (1999) Leaf structure and development in C₄ plants. in *C₄ Plant Biology* (Sage R.F. and Monson R.K., Eds.) pp 133–172, Academic Press, San Diego, CA, USA.
9. Edwards E.J. and Voznesenskaya E.V. (2010) Kranz forms and single cell C₄ in terrestrial plants. in *C₄ Photosynthesis and Related CO₂ Concentrating Mechanisms* (Raghavendra A.S. and Sage R.F., Eds.) pp 29–61, Springer Netherlands, Dordrecht, Netherlands.
10. Engelmann S., Wiludda C., Burscheidt J., Gowik U., Schlue U., Koczor M., Streubel M., Cossu R., Bauwe H. and Westhoff P. (2008) The gene for the P-subunit of glycine decarboxylase from the C₄ species *Flaveria trinervia*: analysis of transcriptional control in transgenic *Flaveria bidentis* (C₄) and *Arabidopsis* (C₃). *Plant Physiol.* 146, 1773–1785.
11. Fouracre J.P., Ando S. and Langdale J.A. (2014) Cracking the Kranz enigma with systems biology. *J. Exp. Bot.* 65, 3327–3339.
12. Furbank R.T. (2011) Evolution of the C₄ photosynthetic mechanism: are there really three C₄ acid decarboxylation types? *J. Exp. Bot.* 62, 3103–3108.
13. Furumoto T., Hata S. and Izui K. (1999) cDNA cloning and characterization of maize phosphoenolpyruvate carboxykinase, a bundle sheath cell-specific enzyme. *Plant Mol. Biol.* 41, 301–311
14. Hatch M.D. (1987) C₄ photosynthesis: a unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure. *Biochim. Biophys. Acta.* 895, 81–106.
15. Hattersley P.W. and Watson L. (1992) Diversification of photosynthesis. in *Grass Evolution and Domestication* (Chapman G.P. Eds.) pp 38–116, Academic Press, London, UK.
16. Heidstra R., Welch D. and Scheres B. (2004) Mosaic analyses using marked activation and deletion clones dissect *Arabidopsis* SCARECROW action in asymmetric cell division. *Genes Dev.* 18, 1964–1969.
17. Helariutta Y., Fukaki H., Wysocka-Diller J., Nakajima K., Jung J., Sena G., Hauser M.T. and Benfey P.N. (2000) The *SHORT-ROOT* gene controls radial patterning of the Arabidopsis root through radial signaling. *Cell* 101, 555–567.
18. Kanai R. and Edwards G.E. (1999) The biochemistry of C₄ photosynthesis. in *C₄ Plant Biology* (Sage R.F. and Monson R.K., Eds.) pp 49–87, Academic Press, San Diego, CA, USA.
19. Koteyeva N.K., Voznesenskaya E.V., Roalson E.H. and Edwards G.E. (2011) Diversity in forms of C₄ in the genus *Cleome* (Cleomaceae). *Ann. Bot.* 107, 269–283.
20. Ku M.S., Wu J., Dai Z., Scott R.A., Chu C. and Edwards G.E. (1991) Photosynthetic and photorespiratory characteristics of *Flaveria* species. *Plant Physiol.* 96, 518–528.
21. Langdale J.A. and Nelson T. (1991) Spatial regulation of photosynthetic development in C₄ plants. *Trends Genet.* 7, 191–196.
22. Mallmann J., Heckmann D., Brautigam A., Lercher M.J., Weber A.P., Westhoff P. and Gowik U. (2014) The role of photorespiration during the evolution of C₄ photosynthesis in the genus *Flaveria*. *Elife* 3, e02478.
23. McKown A.D., Moncalvo J.M. and Dengler N.G. (2005) Phylogeny of *Flaveria* (Asteraceae) and inference of C₄ photosynthesis evolution. *Am. J. Bot.* 92, 1911–1928.
24. McKown A.D. and Dengler N.G. (2007) Key innovations in the evolution of Kranz anatomy and C₄ vein pattern in *Flaveria* (Asteraceae). *Am. J. Bot.* 94, 382–399.
25. Meister M., Agostino A. and Hatch M.D. (1996) The roles of malate and aspartate in C₄ photosynthetic metabolism of *Flaveria bidentis* (L.). *Planta* 199, 262–269.
26. Monson R.K., Moore B.D., Ku M.S. and Edwards G.E. (1986) Co-function of C₃- and C₄-photosynthetic pathways in C₃, C₄ and C₃-C₄ intermediate *Flaveria* species. *Planta* 168, 493–502.
27. Monson R.K., Teeri J.A., Ku M.S., Gurevitch J., Mets L.J. and Dudley S. (1988) Carbon-isotope discrimination by leaves of *Flaveria* species

- exhibiting different amounts of C₃- and C₄-cycle co-function. *Planta* 174, 145–151.
28. Moore B.D., Ku M.S. and Edwards G.E. (1989) Expression of C₄-like photosynthesis in several species of *Flaveria*. *Plant Cell Environ.* 12, 541–549
 29. Munekage N.Y. and Taniguchi Y.Y. (2016) Evolutionary model of C₄ photosynthesis in genus *Flaveria*. *BSJ-Review* 7, 20–27.
 30. Nakajima K., Sena G., Nawy T. and Benfey P.N. (2001) Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning. *Nature* 413, 307–311.
 31. Nakamura N., Iwano M., Havaux M., Yokota A. and Munekage Y.N. (2013) Promotion of cyclic electron transport around photosystem I during the evolution of NADP-malic enzyme-type C₄ photosynthesis in the genus *Flaveria*. *New Phytol.* 199, 832–842.
 32. Oakley J.C., Sultmanis S., Stinson C.R., Sage T.L. and Sage R.F. (2014) Comparative studies of C₃ and C₄ Atriplex hybrids in the genomics era: physiological assessments. *J. Exp. Bot.* 65, 3637–3647.
 33. Oswald A., Streubel M., Ljungberg U., Hermans J., Eskins K. and Westhoff P. (1990) Differential biogenesis of photosystem-II in mesophyll and bundle-sheath cells of 'malic' enzyme NADP⁺-type C₄ plants. A comparative protein and RNA analysis. *Eur. J. Biochem.* 190, 185–194.
 34. Patel M., Siegel A.J. and Berry J.O. (2006) Untranslated regions of *FbRbcSI* mRNA mediate bundle sheath cell-specific gene expression in leaves of a C₄ plant. *J. Biol. Chem.* 281, 25485–25491.
 35. Patel M. and Berry J.O. (2008) Rubisco gene expression in C₄ plants. *J. Exp. Bot.* 59, 1625–1634
 36. Reeves G., Grangé-Guermente M.J. and Hibberd J.M. (2017) Regulatory gateways for cell-specific gene expression in C₄ leaves with Kranz anatomy. *J. Exp. Bot.* 68, 107–116.
 37. Reyna-Llorens I. and Hibberd J.M. (2017) Recruitment of pre-existing networks during the evolution of C₄ photosynthesis. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 372, 20160386.
 38. Sage R.F., Sage T.L. and Kocacinar F. (2012) Photorespiration and the evolution of C₄ photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63, 19–47.
 39. Sage R.F., Khoshravesh R. and Sage T.L. (2014) From proto-Kranz to C₄ Kranz: building the bridge to C₄ photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 65, 3341–3356.
 40. Sage T.L., Busch F.A., Johnson D.C., Friesen P.C., Stinson C.R., Stata M., Sultmanis S., Rahman B.A., Rawsthorne S. and Sage R.F. (2013) Initial events during the evolution of C₄ Photosynthesis in C₃ Species of *Flaveria*. *Plant Physiol.* 163, 1266–1276.
 41. Schulze S., Mallmann J., Burscheidt J., Koczor M., Streubel M., Bauwe H., Gowik U. and Westhoff P. (2013) Evolution of C₄ photosynthesis in the genus *Flaveria*: establishment of a photorespiratory CO₂ pump. *Plant Cell* 25, 2522–2535.
 42. Sheen J. (1999) C₄ Gene Expression. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 187–217.
 43. Slewinski T.L., Anderson A.A., Zhang C. and Turgeon R. (2012) *Scarecrow* plays a role in establishing Kranz anatomy in maize leaves. *Plant Cell Physiol* 53, 2030–2037.
 44. Stata M., Sage T.L., Rennie T.D., Khoshravesh R., Sultmanis S., Khaikin Y., Ludwig M. and Sage R.F. (2014) Mesophyll cells of C₄ plants have fewer chloroplasts than those of closely related C₃ plants. *Plant Cell Environ.* 37, 2587–2600.
 45. Stata M., Sage T.L., Hoffmann N., Covshoff S., Ka-Shu Wong G. and Sage R.F. (2016) Mesophyll Chloroplast Investment in C₃, C₄ and C₂ Species of the Genus *Flaveria*. *Plant Cell Physiol.* 57, 904–918.
 46. Takabayashi A., Kishine M., Asada K., Endo T. and Sato F. (2005) Differential use of two cyclic electron flows around photosystem I for driving CO₂ concentration mechanism in C₄ photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 16898–16903.
 47. Voznesenskaya E.V., Franceschi V.R., Kiirats O., Freitag H. and Edwards G.E. (2001) Kranz anatomy is not essential for terrestrial C₄ plant photosynthesis. *Nature* 414, 543–546.
 48. Voznesenskaya E.V., Franceschi V.R., Kiirats O., Artyusheva E.G., Freitag H. and Edwards G.E. (2002) Proof of C₄ photosynthesis without Kranz anatomy in *Bienertia cycloptera* (Chenopodiaceae). *Plant J.* 31, 649–662.
 49. Voznesenskaya E.V., Franceschi V.R., Chuong S.D. and Edwards G.E. (2006) Functional characterization of phosphoenolpyruvate carboxykinase-type C₄ leaf anatomy: immuno-, cytochemical and ultrastructural analyses. *Ann. Bot.* 98, 77–91.
 50. Voznesenskaya E.V., Koteyeva N.K., Edwards G.E. and Ocampo G. (2010) Revealing diversity in structural and biochemical forms of C₄ photosynthesis and a C₃-C₄ intermediate in genus

- Portulaca* L. (Portulacaceae). *J. Exp. Bot.* 61, 3647–3662.
51. Wingler A., Walker R.P., Chen Z. and Leegood R.C. (1999) Phosphoenolpyruvate carboxykinase is involved in the decarboxylation of aspartate in the bundle sheath of Maize. *Plant Physiol.* 120, 539–546.
52. Woo K.C., Anderson J.M., Boardman N.K., Downton W.J., Osmond C.B. and Thorne S.W. (1970) Deficient photosystem II in agranal bundle sheath chloroplasts of C₄ Plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 67, 18–25.

Evolutionary progression from C₃ to C₄ photosynthesis in the *Flaveria*

Yukimi Y. Taniguchi

Department of Bioscience, School of Science and Technology, Kwansai Gakuin University

特別企画：若手研究者の海外留学レポート！

第三回「スイス滞在記」

ETH Zurich
(現東京大学大学院 農学生命科学研究科)

森田 隆太郎

私は神戸大学の深山浩准教授のもとで光合成に応答したイネの澱粉生合成制御機構の研究で学位を取得後、日本学術振興会の「特別研究員に向けた海外渡航支援日本-スイス若手研究者交流事業」に採択され、2017年4月から10月までの6ヶ月間スイス連邦工科大学チューリッヒ校 (ETH Zurich) の Samuel C. Zeeman 教授のラボに客員研究員として留学してきた。本稿では短い留学期間ではあるが、著者のスイスでの体験を若手の皆様と共有したい。

【チューリッヒでの生活】

ETH Zurich はスイス最大の都市であるチューリッヒ市にある。チューリッヒ市はチューリッヒ湖の北西端に位置し、市街地の中央にはリマト川が流れ、中世ヨーロッパの街並みが保存された綺麗で自然に溢れた街である。世界の巨大な金融センターの1つでもあり、日本でもテレビCMでお馴染みのチューリッヒ保険や世界有数の金融会社であるUBSも本社を構える。スイスの首都はベルンであるので、チューリッヒはアメリカでいうニューヨークにあたる。また、国際サッカー連盟などの国際機関の本部、多くの博物館や美術館があり、街の中はトラム (路面電車) が時刻表通りに運行されている。おまけに真夏でも最高気温が25度ほどと過ごしやすく、(お勧めはしないが) 女性が夜一人で出歩いても大丈夫なくらい治安が良い。ただ一点、問題なのは物価が日本のおよそ2倍であることだ。某ハンバーガーチェーン店のセットメニューは約1,200円、ラボの博士課程の学生の家賃は15万円ほどであった。しかし給料水準も高いので、贅沢しすぎなければ問題なく生活できる。ありがたいことに日本食レストラン、日本食品店、ETH日本人会やスイス在住の日本人音楽家が多数いて、日本との接点が全くなくなるならないのもいい点である。このような風光明媚で生活水準が高い街で過ごせたのはいい経験である。



チューリッヒの街並みと中心部を流れるリマト川

【ETH Zurich での研究生活】

ETH Zurich は Times Higher Education が公表している 2018 年度世界大学ランキングで 10 位にランクされる世界屈指の大学であり、X 線を発見したヴィルヘルム・レントゲン、20 世紀最高の物理学者アルベルト・アインシュタインなど、これまで計 21 名のノーベル賞授賞者を輩出している。これらの卒業生が示すように ETH は歴史的に化学、数学、物理学の分野で評判が高く、近年ではコンピューターサイエンスやライフサイエンスの分野でも最先端の研究を行なっている。

受入研究者である Zeeman 教授は植物の澱粉生合成・分解研究のトップランナーの 1 人である。そのため世界 10 カ国から博士課程の学生 12 名とポスドク 5 名が来ており、5ヶ国語が飛び交う国際的な雰囲気の中、互いの研究について深い議論ができた。一般的にヨーロッパ人は 9 時から 17 時の間働き・・・

というイメージかもしれないが、スイス人は勤勉で朝から晩まで研究していた。毎週金曜日には大学内にある Student Bar が開かれ、ラボを超えて学生やポスドクが集まり安くビールを飲みながら自身の研究や国のことを話すのは英語の勉強にもなり、世界の様々な価値観を知る機会になった。他にラボには3人のテクニシャン、植物の栽培を専門にする Gardener、実験機器やソフトウェアを専門に扱う IT man が1人ずつ、そして驚くことに高校生1人と小学生2人がインターンシップ生としてラボに在籍していた。これはスイスの教育システムの特色で、幼少期からキャリアパスについて考えさせるため小学生の頃から大学や企業へインターンシップに行かせるようだ。

また著者が ETH で驚いたことを2つあげようと思う。1つは ETH ではほぼ全ての実験機器がクラウドで繋がっており、外部からでも ETH のネットワークに接続することで外出先からでも実験機器にアクセスすることができた。もう1つは実験機器の更新の速度である。ある器械を神戸大学が導入すると同時に、ETH では同じ器械が引退し、最新のものを導入していた。この器械については、著者が日本の他大学の知り合いに聞いたところ日本国内ではほとんど導入されていないようである。また各メーカーが定期的に来ては、新しい技術や器械の講習会を開いていた。このような最新のものを取り入れる姿勢も、ETH が世界10位の大学である所以なのかもしれない。

【その他】

スイスへ留学する利点の1つは経済的な面である。まず授業料が年間およそ10万円である。そしてスイスの博士課程の学生は給料を貰える。と言うか、公募されている博士課程のポジションを得られなければ進学できない。こういう背景のためか、社会的にスイスの博士課程の学生は学生ではなく若手研究者として扱われていたように感じた。給与水準も高く、博士課程の学生でもポスドクでも、日本学術振興会特別研究員よりも約2倍貰うことができる。確かにスイスの物価は日本のおよそ2倍であるが、家賃や外食費が高いだけで質素に生活すれば貯金する余裕も生まれる。また、上述のように教育システムや研究設備は素晴らしいので、多くの最先端の技術を身につけることができる。問題点をあえて挙げるとしたら語学だろう。受入先のラボのポスドクや博士課程の学生が教育活動に携わっており、ドイツ語やフランス語が必要なケースがあった。私のように自分でお金を持っていけば問題ないだろうが、受入先のお金で雇用される場合は言語が障壁となる可能性がある。ただ ETH や隣にあるチューリッヒ大学には多くの日本人の博士課程の学生やポスドクが在籍しているので、スイスに留学したい場合は萎縮せず、受入研究者としっかり打合せされたい。

最後になるが、スイスでの半年間は研究・私生活ともに日本では経験できないものであった。平日は研究に没頭し、週末はアルプスで特産の白ワインを嗜む。そのような生活を経験したい人は絶対に行って欲しい。

【謝辞】

本稿を執筆する機会をくださった光合成学会若手の会清水会長及び渡辺さん、光合成研究編集長伊福先生にお礼申し上げます。著者に質問等ございましたら以下の連絡先までお気軽にご連絡ください。

(ryutarou.morita@gmail.com)



リッフェル湖に映る「逆さ」マッターホルン

報告記事

第 14 回若手の会セミナー開催報告

東京大学 大学院総合文化研究科

清水 隆之

若手の会での初の試みとして、今回のセミナーはすべて英語で行われました。招待講演者の 1 人である、京都大学の Hedi Pedajas さんに、セミナーに参加した感想や発表した研究内容などを報告記事としてまとめて頂いたので、そちらも併せてご覧ください。

今回は、11 月 11 日に埼玉大学の講義室をお借りして行いました。開催に際して、埼玉大学の高橋拓子さんと神保晴彦さんには、企画・運営の幹事として多大なご協力を頂きました。この場を借りて御礼申し上げます。セミナーの内容としては、日本で活躍している外国人研究者・留学生 5 名（東工大の Imran Pancha さん、東工大の Luu Trinh さん、基生研の Eunchul Kim さん、京大の Hedi Pedajas さん、埼玉大の Isura Nagahage さん）と海外に留学して研究を行っていた日本人 2 名（神戸大の森田さん、埼玉大の神保さん）に講演して頂きました。

優秀な外国人研究者・留学生が光合成関連分野にも多くいるにも関わらず、本会には参加していないため交流の機会がないことに憂えた神保さんの発案で本セミナーの開催に至りました。目的通り、とても有意義な研究交流が出来たと感じています。懇親会終了後もその熱は収まらず、一部の有志でお互いの研究に対する情熱を歌にのせながら一晩中語り明かしました。

今後も若手の会は、学生・若手研究者の皆様に様々な機会を提供したいと考えています。次回は、本会終了後にセミナー開催予定です。フランクな会ですので、お気軽に参加頂ければと思います。



(第 14 回若手の会セミナー 参加者から)

An initiation into the world of PPR protein (presentations)

Laboratory of Plant Molecular Genetics, Department of Botany,
Graduate School of Science, Kyoto University

Hedi Pedajas

Amongst the golden ginkgo leaves of last fall, I had the pleasure of presenting my work at the 14th Young Researchers Seminar of Japanese Society of Photosynthesis Research in Saitama, the first (of many, I believe) to be held in English. To put this into context, I must admit that I switched to my present research field of “Gene expression regulation by PPR proteins” only recently ahead of my entering into a PhD course in April 2018, and have absolutely no experience in presenting my work. Which roughly translates to “full-scale panic mode!!” However, arriving at the venue despite getting slightly lost on the way, I was quickly put at ease by the friendly atmosphere the organizers created in our small gathering. Even though my topic is only remotely connected to photosynthesis, I hope an interest might have been sparked in some people hearing about these fascinating RNA binding proteins for the first time.

Modular PPR proteins recognize specific RNA sequences following a set of rules termed the PPR code and are implicated in most processes involving the nucleic acid. For example, proteins from the RFL family have been shown to be involved in post-transcriptional modification of abnormal and potentially harmful mitochondrial RNA and are characterized by their distinctive rapid and active evolution. My research focuses on the collaboration of nuclear-encoded RFL2 and mitochondrial endonuclease RNaseP (PRORP1) in degrading the transcripts from chimeric *orf291* (partial *cox2* + sequence of unknown origin) in *Arabidopsis* mitochondria. To clarify the interaction, I am reconstructing the reaction in *Nicotiana benthamiana* by using chloroplast transformation to create plant lines with the expressed target (*orf291*). The two protein genes are introduced into the transplastomic plants transiently by using *Agrobacterium* infection. This is expected to induce an endonucleolytic cut in the target, observable in Northern Blotting. As stressed in my presentation, this system is powerful because it allows fast and relatively easy testing of the effect of mutations in the PPR or can be modified for other PPR proteins and their targets. Therefore, the *benthamiana* transient expression method is versatile and has benefits over creating stable transformants and should be considered as an alternative when designing your research system.

Ending on this positive note, I would like to take the opportunity to thank the organizers for inviting me to give the talk and say: “Until next time!” I mean karaoke, of course. ;)

集会案内

第 26 回「光合成セミナー2018：反応中心と色素系の多様性」の開催案内

期日：2018年（平成30年）7月21日（土）午後2時から22日（日）午後4時まで

場所：神戸大学百年記念会館（<http://www.kobe-u.ac.jp/guid/access/rokko/rokkodai-dai2.html>）
（交通）電車には3通りの方法があります。阪急電車「六甲」駅、JR西日本「六甲道」駅、または、阪神電車「御影」駅から、市バス36系統「鶴甲団地」行に乗車「神大文理農学部前」下車。

開催の目的：光合成に関して、物理学、化学、生物学を融合した討論を行う。光合成の進化、物質変換、人工光合成などについても討論する。第一線の研究者に専門分野の解説をしていただくとともに、参加者の口頭・ポスター発表を行う。

協賛：日本光合成学会

内容：1. 講演会

大岡宏造（大阪大学）「光合成細菌タイプ1反応中心の研究の現状」

高市真一（東京農業大学）「カロテノイド研究30余年」

2. 口頭発表（討論を含めて、一人10分から15分を予定）

3. ポスター発表（2分程度のポスタープレビューも併せて行う）

申込：発表申し込み締め切り 2018年（平成30年）7月6日（金）

参加申し込み締め切り 2018年（平成30年）7月6日（金）

参加費：（7月21日の懇親会費、7月22日の昼食代を含む）

一般 5,000円（予定）

学生 3,000円（予定）

世話人：秋本誠志（神戸大学）、大岡宏造（大阪大学）、大友征宇（茨城大学）、
出羽毅久（名古屋工業大学）、永島賢治（神奈川大学）、宮武智弘（龍谷大学）

申し込み・問い合わせ先：神戸大学大学院 理学研究科 秋本誠志
(E-mail: photosynthesis@boar.kobe-u.ac.jp, Tel: 078-803-5705)

プログラムおよび今後の案内は下記ホームページにて、更新情報を随時、掲載いたします。

http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~ohoka/photosyn_seminar_2018/top.html

宿泊：セミナー期間は小中高の夏休み期間と重なります。早めにホテルを予約してください。

その他：光合成生物の進化も含めた光反応・色素系の基礎から応用までを幅広く議論し、異分野の学生・研究者が楽しく交流できる場を提供していきたいと考えています。また新しい研究テーマや方向性のヒントが得られることも期待しています。今後の運営・内容等に関してご意見等がありましたら、遠慮無くメール（上記メールアドレス宛）をいただければ幸いです。

集会案内

「International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Biogenesis」 開催案内

- 期日： 2018年11月7日(水)から11月10日(土)まで
場所： 倉敷国際ホテル (11月7日)
(<https://www.kurashiki-kokusai-hotel.co.jp/>)
倉敷市民会館 (11月8日、9日、10日)
(<https://arsk.jp/shimin/>)
後援： 文部科学省 科学研究費補助金
新学術領域研究「新光合成：光エネルギー変換システムの再最適化」

倉敷国際ホテルならびに倉敷市民会館において国際シンポジウム「International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Biogenesis」を開催します。研究領域をリードする15名の研究者を海外から招聘し、加えて日本から研究の第一線で活躍する講演者によるシンポジウムです。世界の光合成、葉緑体機能の最前線を聞くことができる絶好の機会です。またポスター発表(最大120題)を予定し、ポスター発表者の中から5分間のショートトークが選ばれます。ホームページは、順次更新して参ります。

本シンポジウムは、新学術領域研究「新光合成：光エネルギー変換システムの再最適化」の後援を受けて行うものです。また公益財団法人 大原奨農会よりご支援をいただいております。

詳しくは下記ウェブサイトをご覧ください。
<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/ISPCB/>

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

編集後記

満開だった桜も早々に散り、様々な入学式で桜を眺めた情景は、少なくとも京都市内では過去のものとなった気がします。まさに気候変動を実感させられます。こうした変化は、野外の植生に大きく影響を及ぼすと同時に、農業現場への影響も大きいと思われます。将来、予測される環境変化の中で、作物の生産性を最大化するにはどういった光合成システムが求められるのか、光合成研究が検討すべき大きな課題となってきています。これに関連して、今号では、2017年5月27日に龍谷キャンパスで開催された第8回日本光合成学会・公開シンポジウム「変動する光量への光合成機能の調節」でご講演していただいた皆様に特集記事をお願いしました。また、年会でポスター発表賞を受賞されたお二人に加え、解説記事を東京大学の佐藤直樹先生に執筆していただきました。解説記事の文末のお言葉は、我々後進が期すべきものだと思います。ぜひご一読ください。さらに、表紙に関連して、論文が出たばかりのトピックス記事を次号の予告編として掲載しました。今後、こうした速報的な話題もタイミングが合えば掲載したいと考えています。

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、伊福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。もちろん、査読がありますので必ずしも掲載はお約束できませんが、奮ってご投稿ください。表紙にふさわしい写真、トピックスも募集しています。

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28巻 第1号 (通巻81号) 2018年4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
