光合成研究

第 29 巻 第 1 号 (通巻 84 号) 2019 年 4 月 NEWS LETTER Vol. 29 NO. 1 April 2019

THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

新会長のご挨拶	鹿内 利治(京都大) 2
集会案内 第10回日本光合成学会年会およびシンポジウ	ム開催のお知らせ 3
解説 シアノバクテリアとその分子生物学	池内 昌彦(東京大) 5
解説 緑藻クラミドモナスにおける光合成ターボエンジン	~の駆動と制御
	山野隆志他(京都大) 14
トピックス 南極の陸生光合成生物における光化学系 II (光阳実の潜在的リスク	の光不活性化波長依存性と生育環境における
	小杉 真貴子 他 (中央大 他) 29
解説特集 「光合成と窒素と作物生産」	39
序文	牧野 周 他 (東北大) 40
解説 作物の光合成速度の改良を目的とする自然変異アリ	リルの特定と利用
	安達 俊輔 他(東京農工大) 41
解説 窒素利用の改変を目指す葉緑体オートファジー研究	その進展 泉 正範(東北大) 54
表紙の紹介 サンゴの蛍光タンパク質は共生藻類の誘引に	ニ働く 相原 悠介(名古屋大) 68
特別企画 第6回「海外での研究経験、フランスとアメリ	リカ」 高橋 拓子(埼玉大) 69
報告記事 生命科学系フロンティアミーティング 2018 (第	第17 回若手の会セミナー)開催報告
	清水 隆之(東京大) 73
報告記事 生命科学系フロンティアミーティング 2018 参	加報告 菅波 眞央(東北大) 74
報告記事 第4回光合成細菌ワークショップ開催記録	原田 二朗 他(久留米大 他) 76
集会案内 第 27 回「光合成セミナー2019:反応中心と色	素系の多様性」の開催案内 78
集会案内 第10回 International Meeting «Photosynthesis and	d Hydrogen Energy Research for Sustainability -
2019»の開催案内	79
集会案内 第27回「光合成セミナー2019:反応中心と色	素系の多様性」の開催案内 80
事務局からのお知らせ	81
日本光合成学会会員入会申込書	82
日本光合成学会会則	83
「光合成研究」投稿規定	85
幹事会名簿	86
編集後記・記事募集	87
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2019 年度役員	88
賛助法人会員広告	

新会長のご挨拶

日本光合成学会会長

鹿内 利治 (京都大学 理学研究科)

2019年より2年間、高橋裕一郎会長の後任として、日本光合成学会の会長をお引き受けすることになりました。力不足の会長ですが、どうぞ宜しくお願い致します。

我々の日本光合成学会は、2009年に日本光合成研究会から生まれたものです。私は事務局長として、 学会への移行にご尽力された伊藤会長、初代の池内会長、それから田中会長、高橋会長の陰で、学会 の発展を見てきました。ポスターセッションは池内会長が始められ、最初は演題数も少なかったので すが、ずいぶん充実しました。若手の方から、大きな学会より良いディスカッションができるとの評 判を伺い、年会の形を整えて良かったなと思っています。年会を企画くださった方々のご協力で、立 派な会議ができるようになりました。また web 版の光合成事典も良く利用されているようですし、ホー ムページも充実しました。何よりも頼もしいのは、若手の会が活発に活動していることです。このよ うな発展をみると、そろそろ何もしない会長が出ても良いのかなとさえ思います。と言うのも、皆様 ご存知の様に、我々の学会は年会費 1500 円で運営されております。この手作り感は学会の一つの特徴 であり、余計なことはやらないというのも、大事なことかと思います。

日本光合成学会の更なる発展を願われている方々からは、お叱りを受けるかもしれません。私の考 えていることを最後に少しだけ述べたいと思います。一つは、学会の守備範囲が狭くなっている気が します。光合成研究は、原子から地球のレベルまで、幅広い領域をカバーするのが特徴であり、これ までのように、年会に参加すると様々なことが勉強できるようにしたいと考えています。もう一つ私 が考えていることは、国際化の問題です。日本は、欧米諸国から地理的に離れており、国境を超えて 研究をするのに敷居が高かったと思います。最近は、中国や韓国の研究のレベルが上がっており、東 アジアでも質の高い会議が開催できるようになりました。この流れは加速されるでしょうから、我々 も東アジアでの光合成研究の交流の活性化を考える必要があるでしょう。しかし、せっかく良い議論 ができている年会をすぐ国際化するのは、考えのものですね。先日、ワトソンの書いた double helix を めくっていたら、イタリアの国際学会は観光が目玉で、多くのイタリア人は早口の英語が理解できな いと辛辣なことが書いてありました。ヨーロッパでも学会の国際化に時間がかかったのでしょうね。 我々も焦る必要はないはずです。

幸い事務局長の園池さんはとても頼りになりますので、協力して、学会員の方々が、少しでも活動 しやすい環境を整備したいと考えております。皆様のご理解とご協力を宜しくお願い致します。

2

集会案内

第10回日本光合成学会年会およびシンポジウム

日時: 2019年5月25日(土)13:00~26日(日)12:00

会場: 京都産業大学 むすびわざ館

https://www.kyoto-su.ac.jp/facilities/musubiwaza/access.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になります
- 懇親会費:一般3,000円 学生2,000円

参加申込:学会HPより参加申し込み(締め切り2019年5月2日(木))

発表形式:ポスターおよび口頭(シンポジウムのみ)

*むすびわざ館は、阪急大宮駅(阪急京都線)、JR丹波口駅(JR嵯峨野線)が最寄り駅です。 阪急の方が、本数が多く便利かもしれません。京都駅、四条烏丸から共に3km程度なのでタ クシー利用もできます。

*京都市内のホテル予約は取りにくくなっています。早めの予約をお願いします。

5月25日(土)

13:00~15:00

シンポジウム1 光合成研究最近の話題(むすびわざホール)

本シンポジウムは、特定のトッピックスに限定せず、シンポジウム2とのバランスを考えて 4名の方に講演をお願いしました。光合成学会年会に様々な分野の方にご参加いただく為の 試みです。

「シアノバクテリアの物質生産と光合成」

池内昌彦(東大・総合文化)

「光合成型複合体 I がフェレドキシン依存性を示す構造基盤」

栗栖源嗣(阪大·蛋白研)

「光合成は葉緑体の細胞内共生説を支持するのか―最近の知見から」

佐藤直樹(東大・総合文化)

「Tree of life の構築と光合成の進化」

田中歩(北大・低温研)

オルガナイザー:鹿内利治(京大・理)

15:20~17:00

ポスター紹介(むすびわざホール)

17:00~18:00

奇数番号ポスターセッション

18:00~19:00

偶数番号ポスターセッション

光合成研究 29 (1) 2019

19:00~

懇親会(むすびわざ館1階食堂)

5月26日(日)

9:00~11:00

シンポジウム2 藻類と環境との対話(むすびわざホール)

生物は、常に環境との間の相互作用、つまり対話を通して生命活動を営んでいる。藻類はも とより、光合成生物の場合、光や温度といった物理的環境因子は、生命活動を支えるエネル ギー獲得活動に直結し、種類ごとの生息地を限定する。そして、それらの物理学環境因子の 変動を受けて、光合成生物は代謝機能の調節を行うなどの対処を行い、一方、そのような生 物の存在そのものが環境の変化をもたらすといった側面もある。また、生物とウィルスとの 関わりや、共生生物とそのホスト生物との関わりといった他種生物との関わりは、物理的環 境因子と同じく、生物の生命活動を強く規定することになる。本シンポジウムでは、藻類と 環境との対話の複数のモードの話題を通し、藻類そのものへの理解を深めるきっかけとした い。

「珪藻の光環境変化応答の多様性」

菓子野康浩(兵庫県立大·生命理学)

「極域光合成生物の光獲得と防御をめぐる適応戦略とその多様性」

小杉真貴子(中央大・理工)

「珪藻とウィルスの対話~珪藻はウィルスと共存しているのか?」

木村圭(佐賀大・農)

「サンゴ共生藻と環境との対話、宿主との対話」

丸山真一朗(東北大・生命科学) - 英乙野専浩(反康県立士・仕合理学) 伊垣健士郎(立士・仕合)

オルガナイザー:菓子野康浩(兵庫県立大・生命理学)、伊福健太郎(京大・生命)

11:00~12:00

総会・ポスター賞授賞式 12:00 閉会

13:00~

若手の会セミナーhttps://sites.google.com/site/photosynwakate/home

世話人

本橋 健(京都産業大学):年会準備委員長 鹿内利治(京都大学):年会企画委員長

解説

シアノバクテリアとその分子生物学

東京大学大学院 総合文化研究科 生命環境科学系 池内昌彦*

唯一の酸素発生型光合成原核生物であるシアノバクテリアは、細菌としても植物への橋渡しとしても ユニークな生物群であり、光合成や光応答現象にかかわる重要なしくみを多くもつ。また、ゲノム研 究の草創期から重点的に取り上げられてきたため、その分子生物学的理解は大いに進んでいる。さら に近年の多様なシアノバクテリアの爆発的なゲノム決定を受け、多彩な生命現象と膨大な機能未知遺 伝子の関連にますます注目が集まってきている。本稿では、光合成調節にかかわる多様な遺伝子や、 代表的な光応答現象である光合成の補色順化や走光性、細胞凝集にかかわる光受容体やシグナル伝達 の研究を主観的に紹介し、今後の光合成生物とその機能の進化の解明の一助となることを期待する。

1. 歴史

シアノバクテリアは植物の葉緑体(プラスチド) の起源となった酸素発生型光合成原核生物であ り、細菌としても植物への橋渡しとしてもユニー クな生物群である。シアノバクテリアには遺伝子 操作やタンパク質の構造解析に適したモデル生 物種が多数知られている。そのため、1982年に 初めて光合成の光化学系Ⅱ複合体の反応中心 D1 タンパク質の遺伝子 psbA が植物からクローニン グされ、そのホモログ遺伝子が形質転換可能なシ アノバクテリアでクローニングされたとき、シア ノバクテリアの分子生物学研究は激しくブース トされた。もちろん、ルビスコや CO₂(無機炭素) 取り込み機構など他の重要な光合成機能や複製 転写翻訳などの分子生物学研究もおのずとシア ノバクテリアを中心に活発になっていた。タンパ ク質の機能解析には、生化学的アプローチが欠か せないが、反応中心タンパク質のような疎水性タ ンパク質の扱いは非常に難しい。SDS-PAGE でも シャープな単一バンドとならず、ウェスタンブ ロッティングによる膜へのトランスファーや抗 体作製も容易ではない。このような難点を相補的 に克服するのは分子生物学による遺伝子破壊や

なお、ゲノムプロジェクトにおいて最初にどの 種を選択するかはとても重要である。当時、筆者 は Synechocystis 6803 を強く推していたので、あ とになって他の株を研究対象としている高名な 先生方から苦言をいただいたこともある。 Synechocystis 6803 は光合成増殖が速いわけでも

変異導入である。光合成研究の材料としては、単 細胞性シアノバクテリア Synechocystis sp. PCC 6803 (以下 Synechocystis 6803) 、Synechococcus elongatus sp. PCC 7942, Synechococcus sp. PCC 7002 などがよく知られており、それぞれによく 使われていた。なかでも、Synechocystis 6803 はへ テロ増殖が可能でリソースの整備で先行してい た。そのため、かずさ DNA 研究所の田畑らはこ の株をゲノムプロジェクトの対象として選び、イ ンフルエンザ菌やマイコプラズマに続いて、1996 年に光合成生物としては初めてゲノムを決定し た¹⁾。また、同時にゲノムアノテーションデータ ベースの CyanoBase が公開された²⁾。これを受け てすぐに遺伝子破壊プロジェクト(1996~2000 年)が開始され、筆者は小川晃男さん(名大)や 福澤秀哉さん(京大)らとこれに参画した。実は、 筆者は1996年の完全ゲノム論文の前に発表され た 1995 年論文 3)をみて、すでにいくつか遺伝子 破壊を始めていた。

^{*}連絡先 E-mail: mikeuchi@bio.c.u-tokyo.ac.jp

生化学研究に適したものでもないが、リソースへ のアクセスが格段に優れていた。これは、同株の リソースを開発した J.G.K. Williams 博士(デュポ ン)のオープンマインドな思想とゲノムリソース のオープンアクセスを推進した田畑哲之博士(か ずさ DNA 研究所)の尽力に負うところが大きい。 筆者も新規遺伝子のクローニングには Williams 氏のライブラリーを使わせてもらい、網羅的破壊 のプラットフォームとしてかずさ DNA 研の cosmid ライブラリーを使わせていただいた。ま た、ゲノム決定を受けて、すぐに遺伝子破壊プロ ジェクト(1996~2000年)やDNA マイクロアレ イプロジェクト(1998~2002年)などが立ち上 がり、ますます Synechocystis 6803 に世界の研究 が集中することになった。

Synechocystis 6803 の研究はこのように活況を 呈したが、2000年以降、他のシアノバクテリア のゲノム決定とともに窒素固定や生物時計、タン パク質の結晶化などで他のシアノバクテリアも 使われるようになり、それらのゲノムも順次決定 されていった。また、2000年のアラビドプシス から始まり、植物や藻類のゲノムも次々と決定さ れた。こうして、シアノバクテリアの遺伝子が細 胞内共生による葉緑体の成立を介して植物の核 ゲノムへ継承された貢献度も評価できるように なってきた。遺伝子の系統解析は現生の植物や藻 類を生んだシアノバクテリアの細胞内共生を1 回だけとしているが、その葉緑体の起源となった シアノバクテリアはまだ特定されていない。シア ノバクテリアのゲノムには約1.8 Mb から15 Mb まで広い多様性があるが、約 3.5 Mb の Synechocystis 6803 よりははるかに大きなゲノム サイズの種が葉緑体の起源となったという。とも かく細胞内共生したシアノバクテリアがもって いた遺伝子のうち、単独生活に必要な遺伝子の大 半は失われた。また、オルガネラ化した葉緑体で はシアノバクテリアで独自に発達していた光合 成機能や調節にかかわる遺伝子の多くも失われ、 代わりに真核生物の新たな遺伝子に置き換えら れていったと考えられる。たとえば、過剰な光エ ネルギーを散逸する非光化学消光として、シアノ バクテリアのオレンジカロテノイドタンパク質 (OCP)がカロテノイドのキサントフィル回路な どに置換された。OCP はフィコビリソームと相 互作用して、過剰な光エネルギーを可逆的な散逸 にかかわる。しかし、細胞内共生直後の灰色藻や 紅藻はフィコビリソームをもつにもかかわらず、 なぜか OCP を失った。一方、キサントフィル回 路が進化で獲得されたのは珪藻や緑藻の段階で ある。

2. シアノバクテリアの多様性

原核生物の遺伝子の多様性は真核生物の比で はなく、シアノバクテリアの多様性は藻類や植物 をはるかに凌駕している。たとえば、光合成機能 の核心はシアノバクテリアと植物でよく保存さ れている。とくに光化学系や電子伝達の成分のい くつかの遺伝子は葉緑体 DNA にコードされてお り、保存性が特に高い。しかし、そのような遺伝 子であっても、シアノバクテリアでは独自の多様 性が見られる。たとえば、光化学系Ⅱ反応中心の 遺伝子 psbA はシアノバクテリアでは独自の多重 化によって 2-8 コピーに増巾しており、さらにそ のうちの1コピーは他と大きく離れている。これ は低酸素や紫外線による誘導など特殊な環境応 答を示す4というが、そのかけ離れた配列の多様 性と機能との関係はいまだはっきりしない。一方、 藻類や植物の葉緑体は高度に保存された psbA 遺 伝子だけをもち、種間の差異はほとんどない。ま た、一群の微生物マット形成型シアノバクテリア は、クロロフィル a よりも長波長を吸収するクロ ロフィルfを合成するとともに光化学系 I や光化 学系Ⅱの反応中心の遺伝子の独自のパラログを もつ。これらはクロロフィル*f*合成やクロロフィ ルfによる遠赤色光による光捕集を可能にするも のと考えられている 5 。これらのクロロフィル f関連遺伝子はモデル生物である Synechocystis 6803 などには存在せず、シアノバクテリアの多 様性を際立たせている。また多様な好熱性シアノ バクテリアが知られており、反応中心複合体タン パク質の結晶解析や生化学解析によく使われて いる。好熱性生物はシゾンなど一部の藻類にもみ られるが、高い好熱性はシアノバクテリアにだけ みられる特性である。

シアノバクテリア固有の光合成機能やその調 節機構においても、シアノバクテリア内でも大き な多様性があることが多い。たとえば、細胞内共 生とともに失われた OCP は、シアノバクテリア では広く分布するだけでなく、その機能分化が著 しい。モデル生物の Synechocystis 6803 は非光化 学消光型の OCP 遺伝子を1コピーだけもつが、 好熱性 Thermosynechococcus elongatus では異なる タイプの遺伝子だけをもち、窒素固定型 Anabaena sp. PCC 7120 は非光化学消光型を含め て 5 種もの OCP 関連遺伝子をもつ⁶⁾。これらの OCP 関連遺伝子の機能と多様化の意義は、まだ 研究途上であるが様々な環境での生存戦略を反 映している可能性がある。

昨今の次世代シーケンス技術の進歩とコスト 低下のおかげで、ゲノム決定される生物の種(も しくは株)の数は急増している。2013 年に Shih らは、シアノバクテリアのすべての系統を網羅す るように新たに54種(株)のゲノムを決定し、 各遺伝子の系統樹を作成した⁷⁾。これによって細 胞内共生を介して真核光合成生物に継承された 遺伝子のカバー率を上げるとともに、光合成関連 遺伝子の興味深いバリアントを報告している。こ れによれば、シアノバクテリア固有のクロロフィ ル a 結合タンパク質の複数のバリアントがシア ノバクテリアの系統をまたぐように分布してい る。そのなかには光化学系 I 複合体の三量体化に 関わるサブユニットと融合したものもある。これ らの遺伝子が普遍的とはいえなくても多くのゲ ノムに存在することは、光合成装置の多様性を示 している。

急増するシアノバクテリアのゲノムデータは GenBank などのデータベースをサーチするとよ くわかる。しかし、昨今、サーチ対象として「シ アノバクテリア」を指定しても他のバクテリアの 遺伝子がヒットしたり、「シアノバクテリア以外」 を指定してもシアノバクテリアの遺伝子がヒッ トすることがある。これは GenBank 内のデータ の整理が十分でないことを意味している。そのた め、CyanoBase のように特化したデータベースが 有用である。2016 年の藤澤らによる CyanoBase の登録種(株)を、それまでの 39 から 376 まで 増やした⁸⁾。なお、ゲノム決定には生物種も株も 重要であるため、*Synechocystis* 6803 には複数の株 が含まれている。しかも、シアノバクテリアでは、 PCC # (株保存施設、本来は Pasteur Culture Collection number) などの株名すら本来の命名規 則から逸脱していることもあるので、詳細は専門 家に問い合わせてほしい。ともかく現在では 1000 種 (株) を超える膨大な数のシアノバクテ リアのゲノム情報が入手できるので、その品質の 評価や系統樹、遺伝子分布などの基礎情報の整備 が望まれる。

3. フィコビリソームの多様性

フィコビリソームはシアノバクテリアや紅藻、 灰色藻の主要な光捕集装置であり、開環テトラピ ロールを共有結合するフィコビリタンパク質の オリゴマーが形成するディスクをリンカータン パク質が串刺しにすることで円筒状のコアシリ ンダーや周辺ロッドを形成する。典型的なフィコ ビリソームでは、コアシリンダーが 3~5本の束 を形成し、その上に6~10本以上の周辺ロッドが 結合し、扇形を形成している。またコアシリン ダーの束の底面でチラコイド膜に結合し、膜内の 光化学系複合体にエネルギーを渡している。この ため、高エネルギー(短波長)の光を吸収する周 辺ロッドから、より低エネルギー(長波長)の光 を吸収するコアシリンダーへの段階的なエネル ギー準位の勾配を形成し、光化学系複合体のクロ ロフィル a への効率的なエネルギー転移を実現 している。このようなフィコビリソームの構造と 機能は、発色団を結合しないリンカータンパク質 の連携によって構築されている。しかし、リン カータンパク質単独の構造を決定することは難 しく、近年のフィコビリソーム超複合体の高分解 能単粒子解析による詳細な構造決定で初めて構 築機構の理解が可能になった^{9,10)}。

このような高度に秩序だったフィコビリソー ムの多様性は、光化学系との相互作用に関わる部 位(ここでは近位という)と周辺ロッドの先端(遠 位という)にみられる。つまり、近位側ではアン カータンパク質(ApcE)が光化学系IIに結合す るのに対し、リンカータンパク質のCpcLは光化

7

学系 I に結合する^{11,12)}。他方、遠位側では赤吸収 型のフィコシアニンディスクを終端とするもの から、緑~橙色光吸収型のフィコエリスリンや フィコエリスロシアニンを終端に付加するもの や、青緑光吸収型のフィコウロビリンを一部結合 するフィコエリスリンも知られている。一般には、 このようなフィコビリソームの多様で精巧な超 複合体の構築のしくみは解決済みと思われてい るかもしれないが、これほど研究され尽くしてい るにもかかわらずゲノム上にはまだ機能不明の フィコビリソーム関連遺伝子がいくつも存在す ることは驚くべきことである。

4. フィコビリソームの光質調節(補色順化)

上述のフィコビリソームの多様性には、シアノ バクテリアの種ごとに固定されているもの(適応 種)と光環境によって調節されるもの(順化種) がある。後者の有名な例として、糸状性シアノバ クテリア Fremyella diplosiphon で、赤色光で培養 すると細胞はフィコシアニンを多く蓄積して青 緑色を呈し、緑色光で培養すると細胞はフィコエ リスリンを蓄積して赤色を呈する。これは補色順 化という現象で、100年以上前からよく知られて いた。この補色順化を示す種が網羅的に調べられ ているが、近年の遺伝子の解析をもとに大きく見 直された。具体的には、補色順化の光応答は、シ アノバクテリオクロムという光受容体による転 写調節因子の活性調節によるものである^{13,14)}。 RcaE という赤色光活性型のシアノバクテリオク ロムがフィコエリスリンとフィコシアニンを鏡 像的に誘導する。一方、CcaS という緑色光活性 型シアノバクテリオクロムは、フィコエリスリン またはフィコエリスロシアニンの蓄積、またリン カータンパク質 CpcL を誘導する¹⁵⁾。とくに広瀬 らは GenBank に登録された約 1300 種(株)のシ アノバクテリアゲノムの網羅的解析を行い、補色 順化には上記の組合せで少なくとも 7 つの遺伝 型があることが明らかにした¹⁵⁾。さらに、種(株) の系統と遺伝子型を比較することで、補色順化能 が水平移動によって多くのシアノバクテリアに 伝播したことがわかる。これは多様な光合成の調 節の進化のシナリオの解析例として非常に興味 深い。また、青緑色光によるフィコウロビリンの 誘導現象についても、研究は進んでいるが、光受 容体はまだ同定されていない。

5. 細胞運動と走光性

シアノバクテリアは鞭毛をもたないが、種に よって滑走運動、twitching 運動、遊泳運動などを 示す。とくに、糸状性シアノバクテリアの滑走運 動は昔からよく知られているが、その運動機構の 遺伝子は今でもほとんどわかっていない。一方、 単細胞性 Synechocystis 6803 などは断続的な twitching 運動による走光性を示すため、遺伝子破 壊プロジェクトなどで運動や走光性に必要な遺 伝子が多数同定されている¹⁶⁾。このとき、柔ら かいⅣ型線毛で周囲に付着し、必要に応じて線毛 を細胞内へ引き込むことで、細胞運動の推進力と している。このしくみは病原性細菌などの線毛運 動と似ているが、走光性には特殊な光受容体が必 要である。Synechocystis 6803 では、PixJ1, PixA (UirS) というシアノバクテリオクロムと PixD という BLUF 型光受容体が正の走光性を示すの に必要である¹⁷⁻¹⁹⁾。また、Cph2 というフィトク ロムとシアノバクテリオクロムの融合タンパク 質もかかわるようである²⁰⁾。制御のしくみとし ては、PixJ はタンパク質リン酸化を介した線毛駆 動装置の活性調節、PixA は線毛装置の発現調節、 PixD はタンパク質相互作用を介する駆動装置の 活性調節、Cph2 は二次メッセンジャー分子のサ イクリックジグアニル酸 (c-di-GMP) による駆動 装置の活性調節と考えられるが、その詳細はどれ も未解明である。このように複数の制御系が走光 性調節にかかわることは、多数のシグナル伝達と クロストークする複雑なネットワークの存在を 示唆している。

6. 細胞外多糖と細胞凝集の調節

多くのシアノバクテリアはさまざまな細胞外 多糖を分泌し、バイオフィルムや群体、凝集体を 形成することが知られている。ただ、"ラボスト レイン"ともいわれる多くの培養株では、このよ うな性質は液体培養において不都合なので、失わ れているものが選抜されている。しかし、細胞外



図1. 代表的なシアノバクテリアの光受容体と光応答現象

2009 年当時の概略図(池内、成川原図)で、その後も多くの光受容体の関与が明らかになっている。 略称:Sy, Synechocystis sp. PCC 6803; An, Anabaena sp. PCC 7120; Fd, Fremyella diplosiphon, Thr0924 (SasA) は Thermosynechococcus の光受容体

多糖はしばしば光合成生産の主要産物であり、細 胞凝集体の形成などにかかわっていることはま ちがいない。このような細胞外多糖の生産とその 調節の研究には、その性質を保持した株の利用が 重要である。筆者らは、偶然に好熱性シアノバク テリア Thermosvnechococcus vulcanus RKN 株が低 温光条件で顕著な細胞凝集を示すことに気づき、 その原因物質がセルロースであり、その合成酵素 を破壊すると凝集もセルロース生産も失われる ことを見いだした²¹⁾。しかし、そもそもは、か ずさ DNA 研究所のゲノム決定に参画して、好熱 性シアノバクテリアにセルロース合成酵素の遺 伝子があることに気づいたことがきっかけで あった。このセルロース生産と細胞凝集を手がか りとして、合成酵素複合体をコードする遺伝子群 や低温による誘導のしくみが明らかになった²²⁾。 また、光による酵素の活性化には、上述の c-di-GMP 合成と分解にかかわるシアノバクテリ オクロム型光受容体 SesABCの協調的制御が関 わっていた^{23,24)}。細胞外多糖は多様性が甚だしく、 他の生物にそのまま外挿できるわけではないが、

環境応答や光合成物質生産のブレイクスルーと なるかもしれない。

シアノバクテリアの光受容体と光応答現象の 多様性と分子機構

すでに述べたように、シアノバクテリアは光合 成や光応答の多様な遺伝子の宝庫であり、図1と 表1にそれらの一例を示す。これらは現象と遺伝 子(光受容体および標的装置)の関係が明らかに なっている希なケースといえる。今、多様なシア ノバクテリアのゲノムデータベースをひもとけ ば、そこには数万を超える光合成や光応答にかか わる未同定遺伝子がみつかる。また、シアノバク テリアには光合成だけでなく窒素固定能や複雑 な細胞体制をもつもの、藻類や菌類、植物と共生 するものなど、きわめて多様性が高く、それぞれ に固有の調節機構があるはずである。しかし、多 くのシアノバクテリアでは形質転換法が確立さ れていないため遺伝子の機能解析が容易でない。 今後は、個別の形質転換法の開発や評価可能なモ デル系への遺伝子セットの導入などのクロスエ

光応答現象	作用光	光受容体	光受容体の出力	標的装置	生理作用
補色順化	緑色光	CcaS	His キナーゼ	フィコビリソーム	集光装置の光順化
同上	赤色光	RcaE	His キナーゼ	フィコビリソーム	集光装置の光順化
同上	遠赤色光	RfpA	His キナーゼ	クロロフィルf	集光装置の光順化
走光性	青色光	PixJ, PixD	タンパク質相互作用	Ⅳ型線毛	Twitching 細胞運動の光制御
同上	紫外光	PixA	タンパク質リン酸化?	Ⅳ型線毛	Twitching 細胞運動の光制御
細胞凝集	青色光	SesA(Tlr0924)他	c-di-GMP 合成分解	セルロース合成酵素	バイオフィルム形成の光制御

表1. 代表的なシアノバクテリアの光応答現象と光受容体

ンジニアリングを駆使することで、その多様性の 全貌が明らかになることを期待している。

8. 光受容体の基礎と応用

これまでシアノバクテリアの環境応答につい て述べたが、他の生物と比べて圧倒的に光応答が 複雑で多様化している。なかでもシアノバクテリ オクロム類は筆者らが発見・命名した一群の光受 容体である。これは開環テトラピロールを発色団 として結合する GAF ドメイン単独で光化学反応 が完結するシンプルな光受容体であるが、その感 知する光は紫外光から赤色光まで非常に幅広い ことが特徴の一つである。その主な理由は、発色 団の種類とともにその多様な反応性にある。光化 学反応は開環テトラピロールの末端のピロール 環をつなぐ二重結合の回転異性化というすべて に共通しているが、その後に引き起こされる Cys 残基の脱着やプロトンの付加脱離、アポタンパク 質との相互作用などさまざまな発色にかかわる 機構がタンパク質ごとに異なっている²⁵⁻²⁷⁾。この ような発色(つまり、光質感知)の多様性は、多 様な光捕集色素が発達しているシアノバクテリ アならではの進化的帰結といえる。

シアノバクテリオクロムにはヒスチジンキ ナーゼドメインや c-di-GMP 合成分解ドメイン、 タンパク質相互作用ドメインなど多様な出力機 構がある。シアノバクテリアの膨大なゲノムデー タには、数百のシアノバクテリオクロム遺伝子が 含まれているが、その大半の生理的機能は未知で ある。そのため、これまでは光応答性の多様性の 研究が主にされてきたが、今後はその生理的機能 の解明が待たれる。しかし、光応答現象は、多く の場合シアノバクテリアの生存に必須ではない ため、遺伝子の確認だけでは不十分である。たと えば、上述の ccaS という補色順化にかかわる遺 伝子は、最初にゲノム決定された Synechocystis 6803 ではすでに破壊されていたため、その研究 は容易ではなかった。このような教訓を糧に、シ アノバクテリアの多様な光応答の生物学が今後 花開くことを期待している。

シアノバクテリオクロムは応用研究でも注目 されている。これと近縁なフィトクロムは、上記 の GAF ドメインだけでなく前後のドメインも必 要とする大型の光受容体で、シアノバクテリアだ けでなく、植物や菌類、バクテリアに広く分布し、 よく研究されてきた。またフィトクロムにはヒト の皮膚を貫通しやすい遠赤色光に応答するもの があり、光遺伝学(オプトジェネティクス)にも 応用されている。一方、構造がシンプルなシアノ バクテリオクロムには遠赤色光型がこれまで知 られていなかった。近年、成川らはシアノバクテ リオクロムの人工的な改変の研究も精力的に進 めており、長波長吸収型の開発にも成功している ²⁸⁾。シンプルで多様な光受容体であるシアノバク テリオクロムには、今後もさまざまな応用研究が 期待される。

9. 光合成による物質生産

光合成による物質生産は光合成科学の応用研 究のひとつであり、光合成の能力を最大限に生か すには単に目的物質を合成する酵素を大量発現 するだけでは十分ではない。その観点では、遺伝 子の多重改変が容易で、細胞構造が単純なシアノ バクテリアが初期のブレイクスルーに貢献する 可能性は高い。筆者らは、リモネンなどの油性物 質の生産の最適化をあれこれ試みたが、生産量に は厳しい限界があった²⁹。生産酵素の回転速度

(活性)だけでなく基質供給や産物の排出などさ まざまな律速が想定される。これらを詳しく検討 した陳らの研究では、ソルビトール 2.4 g/L の光 合成生産(培地への排出)を実現している^{30,31)}。 一方、シアノバクテリア本来の環境応答である塩 ストレスによるスクロース誘導を利用した例で は、スクロース排出輸送体の導入だけで2g/L以 上の光合成生産に成功している³²⁾。どちらの場 合も、物質生産と排出は長時間持続しており、光 合成の主要なシンクとなっている。今後は、細胞 増殖や老化を抑制し、生産だけに集中する光バイ オリアクターの構築が重要になってくるだろう。 また最近のスクリーニングで光合成生産に適し た株の開発も加速している。これらの株とモデル 生物での分子生物学的改変を組み合わせること で、さらに生産性のよいシステムの構築が可能に なれば、実用化へのハードルはかなり下がると期 待される。

10. おわりに

本記事は、筆者のシアノバクテリアの研究を中 心に、独断と思い込みでまとめたものであります。 そのため、多くの引用すべき研究や貢献を言及し ていません。このような不備に関して、関係者の 方々には陳謝します。最後に本記事を書く機会を いただいた成川礼氏には深く感謝いたします。

Received Mar 14, 2019; Accepted Apr 6, 2019; Published Apr 30, 2019.

参考文献

1. Kaneko, T., Sato, S., Kotani, H., Tanaka, A., Asamizu, E., Nakamura, Y., Miyajima, N., Hirosawa, M., Sugiura, M., Sasamoto, S., Kimura, T., Hosouchi,
T., Matsuno, A., Muraki, A., Nakazaki, N., Naruo, K.,
Okumura, S., Shimpo, S., Takeuchi, C., Wada, T.,
Watanabe, A., Yamada, M., Yasuda, M. and Tabata,
S. (1996) Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain
PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. *DNA Res.* 3, 109-136.

- Nakamura, Y., Kaneko, T., Hirosawa, M., Miyajima, N. and Tabata, S. (1998) CyanoBase, a www database containing the complete nucleotide sequence of the genome of *Synechocystis* sp. strain PCC6803. *Nucleic Acid. Res.* 26, 63-67.
- Kaneko, T., Tanaka, A., Sato, S., Kotani, H., Sazuka, T., Miyajima, N., Sugiura, M. and Tabata, S. (1995) Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. I. Sequence features in the 1 Mb region from map positions 64% to 92% of the genome. *DNA Res.* 2, 153-166, 191-158.
- Summerfield, T.C., Toepel, J. and Sherman, L.A. (2008) Low-oxygen induction of normally cryptic *psbA* genes in cyanobacteria. *Biochemistry* 47, 12939-12941.
- Gan, F., Zhang, S., Rockwell, N.C., Martin, S.S., Lagarias, J.C. and Bryant, D.A. (2014) Extensive remodeling of a cyanobacterial photosynthetic apparatus in far-red light. *Science* 345, 1312-1317.
- Bao, H., Melnicki, M.R., Pawlowski, E.G., Sutter, M., Agostoni, M., Lechno-Yossef, S., Cai, F., Montgomery, B.L. and Kerfeld, C.A. (2017) Additional families of orange carotenoid proteins in the photoprotective system of cyanobacteria. *Nat. Plants* 3, 17089.
- Shih, P.M., Wu, D., Latifi, A., Axen, S.D., Fewer, D.P., Talla, E., Calteau, A., Cai, F., Tandeau de Marsac, N., Rippka, R., Herdman, M., Sivonen, K., Coursin, T., Laurent, T., Goodwin, L., Nolan, M., Davenport, K.W., Han, C.S., Rubin, E.M., Eisen, J.A., Woyke, T., Gugger, M. and Kerfeld, C.A. (2013) Improving the coverage of the cyanobacterial phylum using diversity-driven genome sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 1053-1058.
- Fujisawa, T., Narikawa, R., Maeda, S.I., Watanabe, S., Kanesaki, Y., Kobayashi, K., Nomata, J., Hanaoka, M., Watanabe, M., Ehira, S., Suzuki, E., Awai, K. and Nakamura, Y. (2017) CyanoBase: a large-scale

update on its 20th anniversary. *Nucleic Acid. Res.* 45, D551-D554.

- Watanabe, M. and Ikeuchi, M. (2013) Phycobilisome: architecture of a light-harvesting supercomplex. *Photosynth. Res.* 116, 265-276.
- Zhang, J., Ma, J., Liu, D., Qin, S., Sun, S., Zhao, J. and Sui, S.F. (2017) Structure of phycobilisome from the red alga *Griffithsia pacifica*. *Nature* 551, 57-63.
- Kondo, K., Ochiai, Y., Katayama, M. and Ikeuchi, M. (2007) The membrane-associated CpcG2-phycobilisome in *Synechocystis*: a new photosystem I antenna. *Plant Physiol.* 144, 1200-1210.
- Watanabe, M., Semchonok, D.A., Webber-Birungi, M.T., Ehira, S., Kondo, K., Narikawa, R., Ohmori, M., Boekema, E.J. and Ikeuchi, M. (2014) Attachment of phycobilisomes in an antenna-photosystem I supercomplex of cyanobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 2512-2517.
- 13. Kehoe, D.M. and Grossman, A.R. (1996) Similarity of a chromatic adaptation sensor to phytochrome and ethylene receptors. *Science* 273, 1409-1412.
- Hirose, Y., Shimada, T., Narikawa, R., Katayama, M. and Ikeuchi, M. (2008) Cyanobacteriochrome CcaS is the green light receptor that induces the expression of phycobilisome linker protein. *Proc. Natl. Acad. Sci.* U.S.A. 105, 9528-9533.
- Hirose, Y., Chihong, S., Watanabe, M., Yonekawa, C., Murata, K., Ikeuchi, M. and Eki, T. (2019) Diverse chromatic acclimation regulating phycoerythrocyanin and rod-shaped phycobilisome in cyanobacteria. *Mol. Plant.* in press.
- Yoshihara, S., Geng, X., Okamoto, S., Yura, K., Murata, T., Go, M., Ohmori, M. and Ikeuchi, M. (2001) Mutational analysis of genes involved in pilus structure, motility and transformation competency in the unicellular motile cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 42, 63-73.
- Yoshihara, S., Katayama, M., Geng, X. and Ikeuchi, M. (2004) Cyanobacterial phytochrome-like PixJ1 holoprotein shows novel reversible photoconversion between blue- and green-absorbing forms. *Plant Cell Physiol.* 45, 1729-1737.
- Narikawa, R., Suzuki, F., Yoshihara, S., Higashi, S., Watanabe, M. and Ikeuchi, M. (2011) Novel photosensory two-component system (PixA-NixB-NixC) involved in the regulation of positive and negative phototaxis of cyanobacterium

Synechocystis sp. PCC 6803. Plant Cell Physiol. 52, 2214-2224.

- Okajima, K., Yoshihara, S., Fukushima, Y., Geng, X., Katayama, M., Higashi, S., Watanabe, M., Sato, S., Tabata, S., Shibata, Y., Itoh, S. and Ikeuchi, M. (2005) Biochemical and functional characterization of BLUF-type flavin-binding proteins of two species of cyanobacteria. *J. Biochem.* (Tokyo) 137, 741-750.
- 20. Wilde, A., Fiedler, B. and Borner, T. (2002) The cyanobacterial phytochrome Cph2 inhibits phototaxis towards blue light. *Mol. Microbiol.* 44, 981-988.
- 21. Kawano, Y., Saotome, T., Ochiai, Y., Katayama, M., Narikawa, R. and Ikeuchi, M. (2011) Cellulose accumulation and a cellulose synthase gene are responsible for cell aggregation in the cyanobacterium *Thermosynechococcus vulcanus* RKN. *Plant Cell Physiol.* 52, 957-966.
- 22. Maeda, K., Tamura, J., Okuda, Y., Narikawa, R., Midorikawa, T. and Ikeuchi, M. (2018) Genetic identification of factors for extracellular cellulose accumulation in the thermophilic cyanobacterium *Thermosynechococcus vulcanus*: proposal of a novel tripartite secretion system. *Mol. Microbiol.* 109, 121-134.
- 23. Enomoto, G., Nomura, R., Shimada, T., Ni-Ni-Win, Narikawa, R. and Ikeuchi, Μ. (2014)Cyanobacteriochrome SesA is a diguanylate cyclase induces cell aggregation that in Thermosynechococcus. J_{\cdot} Biol. Chem. 289, 24801-24809.
- Enomoto, G., Ni-Ni-Win, Narikawa, R. and Ikeuchi, M. (2015) Three cyanobacteriochromes work together to form a light color-sensitive input system for c-di-GMP signaling of cell aggregation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, 8082-8087.
- Ikeuchi, M. and Ishizuka, T. (2008) Cyanobacteriochromes: a new superfamily of tetrapyrrole-binding photoreceptors in cyanobacteria. *Photochem. Photobiol. Sci.* 7, 1159-1167.
- Hirose, Y., Rockwell, N.C., Nishiyama, K., Narikawa, R., Ukaji, Y., Inomata, K., Lagarias, J.C. and Ikeuchi, M. (2013) Green/red cyanobacteriochromes regulate complementary chromatic acclimation via a protochromic photocycle. *Proc. Natl. Acad. Sci.* U.S.A. 110, 4974-4979.
- Fushimi, K. and Narikawa, R. (2019) Cyanobacteriochromes: photoreceptors covering the entire UV-to-visible spectrum. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 57, 39-46.

- Fushimi, K., Miyazaki, T., Kuwasaki, Y., Yamamoto, T., Miyake, K., Takeda, Y., Nakajima, T., Park, E.Y., Ikeuchi, M., Sato, M. and Narikawa, R. (2019) Rational conversion of chromophore selectivity of cyanobacteriochromes to accept mammalian intrinsic biliverdin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* in press.
- Kiyota, H., Okuda, Y., Ito, M., Hirai, M. Y. and Ikeuchi, M. (2014) Engineering of cyanobacteria for the photosynthetic production of limonene from CO₂. *J. Biotechnol.* 185, 1-7.
- 30. Chin, T., Okuda, Y. and Ikeuchi, M. (2018) Sorbitol production and optimization of photosynthetic supply

in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *J. Biotechnol.* 276-277, 25-33.

- 31. Chin, T., Okuda, Y, and Ikeuchi, M. (2019) Improved sorbitol production and growth in cyanobacteria using promiscuous haloacid dehalogenase-like hydrolase. *J. Biotechnol.* in press.
- Ducat, D.C., Avelar-Rivas, J.A., Way, J.C. and Silver, P.A. (2012) Rerouting carbon flux to enhance photosynthetic productivity. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 2660-2668.

Cyanobacteria and molecular biology

Masahiko Ikeuchi

Department of Life Sciences (Biology), Graduate School of Arts and Science, University of Tokyo

解説

緑藻クラミドモナスにおける光合成ターボエンジンの駆動と制御

京都大学 大学院生命科学研究科

山野 隆志、福澤 秀哉*

多くの藻類は、二酸化炭素(CO₂)欠乏ストレス環境においても光合成を維持するために、膜輸送体 やチャネルを用いて積極的に細胞外から葉緑体に無機炭素(Ci: CO₂と HCO₃⁻)を取り込み、固定酵素 周辺に CO₂を濃縮する仕組み「無機炭素濃縮機構」を持つ。「光合成のターボエンジン」にも例えら れるこの仕組みは、シアノバクテリア、緑藻、珪藻を用いた研究でその共通性と多様性が明らかになっ てきた。本稿では、無機炭素濃縮機構の駆動とその制御について、クラミドモナスを中心に最新の知 見を紹介する。

1. はじめに

人類は、温暖化・食糧不足・エネルギー枯渇な ど様々な問題を抱えている。これに対して、藻類 が持つ無機炭素濃縮機構(Carbon-concentrating mechanism: CCM)を利用し、光合成の能力を極 限まで高めた植物を創出することで解決しよう とするプロジェクトが世界的規模で進められて いる。その研究の土台となる CCM の基礎的な知 見が相次いで報告されるなど、CCM 研究はホッ トトピックスのひとつになりつつある。本稿では、 その発見から約 40 年に渡る CCM の分子機構の 解明の歴史について、最新の知見を踏まえながら 振り返り、緑藻の CCM の分子機構の理解がどこ まで進んだのかをクラミドモナスを中心に紹介 する。

2. 水圏における光合成の CO₂ 欠乏ストレス

植物は太陽光のエネルギーを利用して水と CO₂から有機物と O₂を作る光合成を行い、地球 上の全ての生命活動を根底から支えている。特に、 光合成に必要な CO₂を効率よく細胞内に取り込 む過程は、光合成の律速となる要因の一つである。 陸上植物では、葉の表皮にある気孔が開閉して CO₂を取り込む量を調節し、また受動的な CO₂ 輸送に関わるアクアポリンが同定されている¹⁾。 C4 植物では、維管束鞘細胞と葉肉細胞の複雑な 相互作用による有機酸の脱炭酸反応を介する濃 縮経路が存在するが、CO2やHCO3⁻を能動的に葉 緑体に運ぶ輸送体は見つかっていない。

微細藻類の光合成による一次生産は、地球上の 光合成全体の約50%を占めることから、水圏環 境における光合成を理解することは重要である ^{2,3)}。微細藻類にとって電子供与体である水は豊富 に存在するが、以下のi)-vi)に述べる理由から 光合成の基質であるCO₂が欠乏し、Rubiscoによ るCO₂の固定能は理論値の約25%に制限される ⁴⁾。

i) 現在の大気と平衡状態にある淡水を模した系 において、水圏環境の CO₂濃度は通常 15 μ M 以 下 で あ り 、 CO₂ 固 定 酵 素 Ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco)の 最大反応速度の半分を与える CO₂濃度「K_m(CO₂) 値」よりも低い。Jordan and Ogren (1981)の試 算によると、シアノバクテリアと緑藻の K_m(CO₂) 値はそれぞれ 105–320 μ M および 25–38 μ M であ り、9–19 μ M を示す高等植物の K_m(CO₂) 値に比 べて高く、そのため CO₂ に対する親和性が低い ⁵⁾。

^{*}連絡先 E-mail: fukuzawa@lif.kyoto-u.ac.jp

ii) Rubisco は、Ribulose 1, 5-bisphosphate (RuBP) に CO₂を結合して 3-Phosphoglycerate (3-PGA)を 生成することでカルビン・ベンソン回路に入るカ ルボキシラーゼ反応だけでなく、RuBP に O₂を 結合して 3-PGA と 2-Phosphoglycolate (2-PG)を生 成するオキシゲナーゼ反応も触媒する。CO₂の供 給が限られる水圏環境においては、Rubisco の触 媒反応はカルボキシラーゼ反応よりもオキシゲ ナーゼ反応に傾きやすくなる。

iii) 光合成生物の細胞密度の増加に依存して、溶存 CO₂の 50-80 %が光合成によって消費される⁶⁾。

iv) 水中における CO₂の拡散速度は大気中の場合 に比べて 10,000 分の 1 と低い⁷⁾。

v) CO₂は中性以上の pH 条件では水と反応して重 炭酸イオン(HCO₃⁻)の形で多く存在する。例え ば、pH 7.8 では HCO₃⁻は CO₂の約 30 倍、pH 9.0 では 400 倍以上になる。

vi) 電荷を帯びた HCO₃ は細胞や葉緑体を覆う生体膜を通過することができない。

3. 藻類の無機炭素濃縮機構

藻類はこのような CO_2 欠乏環境においても光 合成能を維持するために、無機炭素(Ci: CO_2 と HCO_3^{-})を積極的に細胞内に取り込み、 CO_2 を Rubisco の周囲に濃縮する仕組み「無機炭素濃縮 機構(Carbon-concentrating mechanism: CCM)」 を持つ。

光合成が律速されない 3-5%程度の高い濃度の CO₂を含む空気を通気する「高 CO₂条件」で生育 させた細胞は、C₃植物型の光合成特性を示す。 これに対して、大気レベルの 0.04%の濃度の CO₂ を含む空気を通気する「低 CO₂条件」で生育さ せた細胞は、CO₂が欠乏しているにも関わらず細 胞は Ci に対して高い親和性を示し、効率的な光 合成を行うことができる^{8,9}。藻類細胞の Ci に対 する親和性の指標の一つとして、光合成における 酸素発生の最大反応速度の半分の値を与える Ci 濃度「K_{0.5}(Ci)値」を用いることが多い。例えば、 緑藻クラミドモナスでは高 CO₂条件における K_{0.5}(Ci)はpH 7.8において約 300 μ M であるのに対 して,低 CO₂条件では親和性が上昇し、約 35-40 μM を示す⁹⁾。

 C_4 型光合成における有機酸の脱炭酸反応を介 する濃縮経路 (Biochemical な CCM) とは異なり、 藻類の CCM は細胞膜や葉緑体包膜に局在する Ci 輸送体やチャネルを介した Ci の直接的な輸送 (Biophysical な CCM) による。これは、「細胞 外から葉緑体内への Ci の輸送」→「HCO₃¬から $CO_2 \sim 0$ 変換・濃縮」→「CO₂の固定」→「漏れ た CO₂のリサイクル」からなる 4 つの過程と、 それを制御する仕組みとして捉えられる。これは、 自動車などのターボ (チャージャー) エンジンが 燃料を燃やすために使う酸素を圧縮し、より多く のパワーを作り出す仕組み「酸素の吸入」→「圧 縮」→「燃焼・膨張」→「排出」に似ていること から、CCM は「光合成のターボエンジン」にも 例えられる¹⁰。

4. CCM の起源と多様性

シアノバクテリアが地球史に出現した約30億 年前の地球の大気の CO2 濃度は、現在の数百倍 であったと考えられている。従って地球史初期の シアノバクテリアは CO₂ 欠乏ストレスにさらさ れることなく、CCM をもつ必要はなかった。そ れ以降の時代における CCM の起源について実際 に特定することは難しいが、微細藻類の CCM に 多様性が生じたのは、大気中の CO2 濃度が急激 に減少した環境変化に起因すると考えられる。大 気中のO₂とCO₂の濃度に関しては、少なくとも 6 億年前には O, 濃度は現在とあまり変わらない レベルにあり、CO2濃度は現在の15-20倍(0.6-1.0%)含まれていたとするモデルが報告されてい る¹¹⁾。従って、光強度の高い環境では相対的に 光合成の基質となる CO, 濃度が減少し、CO, の欠 乏ストレスにさらされる可能性が考えられ、藻類 はこの時点ですでに CCM を持っていた可能性が ある。さらに、約4.5億年前に始まった陸上植物 の出現と活発な光合成により、大気中の CO2 濃 度が急激に減少し、逆に O2の濃度が 30%以上に まで上昇した。この急激な大気組成の変化は、水 圏環境の微細藻類に極端な CO₂ 欠乏ストレスを 生じさせたと考えられ、その結果として微細藻類 は多様な CCM を進化的に獲得したのではないか と考えられている¹²⁾。つまり、現在の藻類が持 つ多様な CCM は、地球史初期のシアノバクテリ アに由来する単系統ではなく、約4億年前に存在 していた微細藻類がそれぞれ独立に獲得した多 系統のシステムであることが示唆される。シアノ バクテリアが持つ CCM に関与する膜輸送体やカ ルボキシゾームの構成因子などの遺伝子群が緑 藻や珪藻には保存されていないことからも、 CCM の起源が多系統であることが示唆される¹¹⁾。 シアノバクテリアの CCM は、Synechocystis sp. PCC6803 や Synechococcus elongatus PCC7942 な どをモデルとして精力的に研究されているが ^{13,14)}、本稿では緑藻の CCM を中心に紹介する。

5. CCM 研究の幕開け

宝月と宮地らは、4%と 0.04%の CO,を含む空 気をそれぞれ通気して生育させたクロレラの光 合成特性を調べ、細胞に与える Ci 濃度と CO2 固 定量をプロットした。すると、0.04%の CO2を通 気した細胞は Ci への親和性が上昇することを見 出し⁸⁾、その低 CO₂条件で誘導される炭酸脱水酵 素(Carbonic anhydrase: CA)が細胞の Ci への親 和性を変化させる重要な因子であることを示し た¹⁵⁾。さらに、CA を利用した間接的な Ci 輸送 を伴う濃縮機構の存在を示した¹⁶⁾。時を同じく して、アナベナやクラミドモナスでも CO,を濃 縮する仕組みがあることが示され^{9,17)}、CCM 研究 は世界的に広まっていった。初期の CCM 研究に おいては、阻害剤を用いた実験や様々な環境条件 における CCM の生理学について精力的な研究が 行われていたが、微細藻類における Ci の輸送・ 濃縮に関わる CA については生化学的な解析が 進んだ¹⁸⁾。さらに、CAの遺伝子構造が解かれ、 一次配列の類似性から、緑藻の酵素がヒト赤血球 の酵素と同じグループに含まれる真核型 α-CA に属しており¹⁹⁾、陸上植物の葉緑体やシアノバ クテリアの酵素が属するβ-CA とは別のグルー プに属することが示された²⁰⁾。しかし、CCMを 実際に駆動する膜輸送体やその制御にどのよう な遺伝子群が関わるのかは長らく不明であった。 藻類の光合成の仕組みを解明するうえで重要と

なるこの問題は、分子遺伝学の力により解決され ていくことになる。

6. CCM 研究の分子遺伝学的解析

微細藻類の CCM の分子遺伝学的研究は、主に 単細胞緑藻クラミドモナス Chlamydomonas reinhardtii を用いて進められてきた。クラミドモ ナスは、ゲノム情報が解読されていること²¹⁾、 エレクトロポレーションによる迅速かつ容易な 形質転換系が開発されていること^{22,23)}、大規模挿 入変異株ライブラリーやゲノム編集を始めとし た分子遺伝学的ツールが整備されていること ²⁴²⁶⁾、四分子解析を用いた遺伝解析(分子育種) が可能であること²⁷⁾などの理由から、光合成、 脂質蓄積、鞭毛運動などの生命機能を遺伝子レベ ルで明らかにすることができるモデル生物であ る²⁸⁾。

これまでに、高 CO₂ 条件では正常に生育でき るが、CCM の駆動が必要な低 CO₂ 条件では生育 できない、あるいは生育速度が遅延する変異株が 複数単離され、その変異原因遺伝子を同定するこ とで、CCM の駆動や制御に必要な因子が遺伝子 レベルで同定されてきた(表 1)。これらの因子 の詳細な機能ついては後述する。

また以前は、培養中の CO₂ 濃度について高 CO₂ 条件と低 CO₂ 条件の二条件に分けて議論されて きたが、少なくともクラミドモナスは溶存 CO₂ 濃度に応じて少なくとも三段階の順化機構を持 っことが分かってきた⁶⁾。すなわち、溶存 CO₂ 濃度が 70 μ M 以上の高 CO₂条件 (high-CO₂: HC)、 6–70 μ M の低 CO₂条件 (low-CO₂: LC)、6 μ M 未 満の超低 CO₂条件 (very low-CO₂: VLC) にそれ ぞれ順化することができる²⁹⁾。例えば、後述す る *LCIB* の変異株は、HC と VLC 条件では生育で きるが、LC 条件では生育できない表現型を示す ^{30,31)}。

7. クラミドモナスの葉緑体内構造

多くの藻類において、Rubisco は葉緑体ストロ マのピレノイドと呼ばれる構造に集積している。 従って、藻類は少なくとも細胞膜と葉緑体包膜の 障壁を乗り越えて Ci を輸送し、Rubisco 近傍に

変異株名	遺伝子	コードされるタンパク質	細胞内局在	参考文献	
炭酸脱水酵素					
cal-3, cia3	САНЗ	α -type carbonic anhydrase	チラコイド膜 ルーメン	61, 62, 63, 64	
pmp1, ad1	LCIB	Putative carbonic anhydrase	葉緑体ストロマ	29, 30, 31, 79, 90, 91	
輸送体・チャオ	ネル				
ycf10	Ycf10	CemA-like proton extrusion protein-like protein	葉緑体包膜	92	
Ain-1, lcia	LCIA	Anion channel	葉緑体包膜	29, 51, 52, 79, 93	
Hin-1	HLA3	ABC-type transporter	細胞膜	50, 51, 52, 71	
cia8	CIA8	Sodium:bile acid symporter subfamily	N.D.	94	
制御因子					
ccm1, cia5	CCM1, CIA5	Zn ²⁺ -binding regulatory factor	核	49, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 95	
lcr1	LCR1	MYB-transcription factor	N.D.	81	
H82	CAS	Ca ²⁺ -binding protein with rhodanase-like domain	チラコイド膜	82, 83, 85	
光呼吸酵素					
pgp1	PGP1	Phosphoglycolate phosphatase	N.D.	67, 68, 96	
hcr89	<i>GDH1</i>	Glycolate dehydrogenase	N.D.	69	
その他					
lci5	EPYC1/LC15	Rubisco interacting protein	ピレノイド	39, 41, 42	
rcal	RCA1	Rubisco activase	ピレノイド	97	
had1	HAD1	Putative dehydrogenase	N.D.	98	
cia6	CIA6	SET domain methyltransferase	N.D.	99	
cia7	CIA7	Putative protein	N.D.	100	

表1. クラミドモナスにおける無機炭素濃縮機構の変異株と原因遺伝子

N.D., not determined.

CO₂を濃縮する必要がある。クラミドモナスの特徴的な葉緑体内構造(図1)を利用して、巧みに
 CO₂濃縮を行う仕組みが見えてきた。

クラミドモナスは細胞内に 1 つのカップ状の 葉緑体を持つ。細胞の鞭毛がある方向を apical、 反対側を basal とした時、葉緑体の basal 側にピ レノイドを持つ。また左右に lobe と呼ばれる尖っ た構造を持つ。この特徴的な構造の生理学的な意 義については不明であるが、光化学系(PS) II 複合体のアセンブリと修復が葉緑体内で区画化 されていることに関係する可能性がある³²⁾。

藻類の多くは、葉緑体の中に鮮明な顆粒として 観察されるピレノイド (pyrenoid: ギリシア語で pyren:果実の核、eidos:形)と呼ばれる細胞内 微細構造を持つ。ピレノイドの有無、位置、形状、 数は同一種内で安定しているため、ピレノイドの 形態や個数は微細藻の種同定に用いられる。ツノ ゴケ類の例外を除いて、植物が陸上化するに伴っ てピレノイドは消失したため、ピレノイドは水圏 環境における光合成の機能に密接に関連するこ とが示唆される。

クラミドモナスのピレノイドはデンプン鞘に 囲まれ³³⁾、多方向からチラコイド膜が陥入して おり、このチラコイド膜は特に「ピレノイド チューブ」と呼ばれる。この構造は少なくとも 60 年以上前の電子顕微鏡像で記述されており³⁴⁾、 後述するようにピレノイドチューブを介して CO₂を濃縮するモデルが提唱されている。さらに、 クライオ電子顕微鏡を用いて構築された葉緑体 とピレノイドの三次元構造像から、ピレノイド チューブ(直径が約 100 nm)の中に複数のミニ チューブ(長軸の直径が約 20 nm)が通っている 様子が鮮明に観察された³⁵⁾。ミニチューブの内 腔は葉緑体ストロマと通じており、ストロマとピ レノイドマトリックスの間で炭素固定代謝にお ける低分子を拡散させるための管として働く説 が提唱されている³⁵⁾。実際に、CCM が駆動され る時に、RuBP と 3-PGA の代謝フラックスがピレ ノイドとストロマの間で高くなることが示され ている³⁶⁾。また、このミニチューブの構造につ いても、50 年以上前の電子顕微鏡観察によりす でに指摘されていたことは特筆すべきことであ る³⁷⁾。

これまで、クラミドモナスのピレノイドの実体 はRubiscoの集積による静的な結晶構造体である と考えられてきたが、その分裂と合成をリアルタ イムで観察した結果から、ピレノイドは「液-液



図1.

(A) 単細胞緑藻クラミドモナスの細胞内構造。(B, C, D) ピレノイド領域の微細構造。ピレノイドはデンプン鞘に囲まれ、チラコイド膜の一部はピレノイドに貫入したピレノイドチューブを形成している(B)。ピレノイドチューブの中にさらにミニチューブ構造が観察される。(C) はピレノイドチューブの断面のクライオ 電子顕微鏡像、(D) はクライオ電子顕微鏡像から構築したピレノイドチューブとミニチューブの三次元構造 を示す。(A) はマックス・プランク研究所の Benjamin Engel 博士から提供された図を改変した。(B, C, D) は文献 35 の図を改変した。 相分離(liquid-liquid phase separation: LLPS)」さ れた非膜系のオルガネラである可能性が示唆さ れている³⁸⁾。LLPSとは、よく振ったドレッシン グの中で振る舞う油滴のように、分散していた小 滴が素早く融合して、より大きい液滴を形成する 性質を示す。また、単離したピレノイドのプロテ オーム解析から、ピレノイドには Rubisco の他に デンプン・カロテノイド・アミノ酸の代謝、RNA 代謝・翻訳、テトラピロール・クロロフィルの合 成に関わる因子や多くの機能未知タンパク質が 約 200 種類も含まれていることが分かってきた ^{39,40)}。

Essential pyrenoid component 1 (EPYC1)はピレ ノイドに局在するタンパク質の1つである。 EPYC1 は、低 CO2条件で発現誘導を受ける遺伝 子として同定され⁴¹⁾、コードされるタンパク質 が低 CO₂条件でリン酸化されることが報告され ていた low-CO₂ inducible protein 5 (LCI5)と同一の タンパク質である⁴²⁾。EPYC1/LCI5 は Rubisco 小 サブユニットと相互作用し、ピレノイド内部への Rubisco のアセンブリに必須であることが示され たが³⁹⁾、リン酸化との関係はまだ分かっていな い。また、細胞から抽出した Rubisco と大腸菌で 合成した EPYC1/LCI5 を in vitro で混合すると相 分離された小滴を形成することも示されている ⁴³⁾。オミクス解析からは、分子量が約 80 kDa を 超えるタンパク質はピレノイドから排除されて いることが分かり⁴⁴⁾、LLPS によって生じる表面 張力がピレノイドへ移行するタンパク質の選抜 に関わる可能性が示唆されている⁴⁵⁾。さらに、 ピレノイド欠損株の解析から、ピレノイドは炭酸 固定の場としてだけでなく、CCM 関連タンパク 質の蓄積や代謝の制御に影響を与えることも分 かってきた 40)。

8. クラミドモナスの Ci 輸送・濃縮モデル

上記の変異株の表現型解析、変異原因遺伝子の 同定、葉緑体内構造、CCMの誘導に伴って発現 する遺伝子群の情報から⁴⁷⁻⁴⁹⁾、クラミドモナスの Ci 輸送・濃縮経路に関して、以下のような分子 メカニズムが推定されている。

i) 細胞外から葉緑体ストロマへの Ci 輸送

VLC 条件では、Ci は主に HCO₃の形で輸送さ れると考えられている。HCO3⁻の輸送には細胞膜 に局在する ATP-binding cassette (ABC)型輸送体 high-light activated 3 (HLA3)と葉緑体包膜に局在 するアニオンチャネル low-CO₂ inducible protein A (LCIA)が協調して働く⁵⁰⁻⁵²⁾。ATPaseの阻害剤 であるバナジン酸を添加すると CCM 駆動時にお ける HCO₃ 依存的な光合成が阻害され⁵³⁾、VLC 条件ではミトコンドリアが細胞膜近傍へ移動す ることから⁵⁴⁾、HLA3 はミトコンドリアから供給 される ATP のエネルギーを利用して HCO3 を輸 送することが示唆される。また、細胞膜に局在す る膜タンパク質 low-CO₂ inducible protein 1 (LCI1) も Ci 輸送に関わり⁵⁵⁾、HLA3 とタンパク質間相 互作用することが報告されているが 44)、LCI1 が HCO₃-と CO₂のどちらの輸送に関わるのかは明 らかでない。

LC条件では、Ci は主に CO₂の形で輸送される と考えられている。CO₂輸送体はまだ明らかでな いが、ストロマに流入した CO₂ は後述する LCIB/LCIC 複合体によって HCO₃⁻へ変換される と考えられている。LC条件と VLC条件で発現誘 導される遺伝子群に違いが認められないことか ら⁴⁹⁾、LC条件では HLA3 と LCIA の HCO₃⁻輸送 活性が翻訳後調節やアロステリック調節によっ て不活性化される可能性がある⁵⁶⁾。

HC 条件では、ヒト赤血球膜に存在する Rhesus (Rh)の相同タンパク質 Rh-1 が細胞膜に局在し、 CO_2 の受動的な取り込みを担う⁵⁷⁾。Rh-1 の発現 は HC 条件で誘導され、VLC 条件では抑制され る。HC 条件における発現を RNAi によって抑制 させた株では、HC 条件で生育が遅延し、VLC 条 件では違いが見られないことから、Rh-1 は VLC 条件で誘導される CCM の Ci 輸送には直接関わ らないと考えられる。

ii) Ci プールの形成

光照射条件における葉緑体ストロマのpHは約 8.0 の弱アルカリ性に保たれているため、輸送さ れた Ci は主に HCO₃-の分子種で存在し、葉緑体 包膜に囲まれた Ci プールを形成する。CO₂は生 体膜を容易に透過するため、細胞外への漏出を避

けるには CO₂が迅速に HCO₃-へ変換されること が重要である。ストロマにおける CO2 から HCO3⁻ への変換反応には、β-CA である CAH6 が関与す ると考えられてきたが⁵⁸⁾、CAH6 は鞭毛に局在す ることが報告され⁴⁴⁾、モデルの修正が必要になっ た。最近になって、low-CO₂ inducible protein B (LCIB)の相同タンパク質かつ相互作用因子であ る LCIC が、亜鉛を配位した β-CA 型の反応中心 構造を持つことが明らかになり⁵⁹⁾、LCIB/LCIC 複合体がストロマにおける Ci プールの維持に関 わると推定されている。しかし、大腸菌でタンパ ク質合成した LCIB、LCIC、LCIB/LCIC 複合体の in vitro における CA 活性は検出されなかったた め⁵⁹⁾、*in vivo*では葉緑体ストロマのHCO₃^{-/}CO₂ 比に応じて CA 活性のオン・オフを調節するよう な制御機構がある可能性が示唆されている。

iii) ストロマからチラコイド膜ルーメンへの HCO₃⁻輸送

葉緑体ストロマにある HCO₃は、チラコイド 膜に局在する HCO₃輸送体あるいはチャネルを 介して、ストロマからチラコイド膜ルーメンへと 輸送されると考えられている。この輸送体あるい はチャネルはまだ明らかでないが、その候補とし て LCIB と相互作用する因子でチラコイド膜に局 在が予測されるベストロフィンの相同タンパク 質が報告されている⁴⁴⁾。卵黄状黄斑ジストロ フィー(ベスト病)の原因遺伝子として同定され たベストロフィンは、その相同タンパク質がほぼ すべての生物群で保存されているアニオンチャ ネルである。シロイヌナズナのベストロフィン相 同タンパク質は、チラコイド膜に局在する CL チャネルとして H⁺濃度勾配形成により生じる膜 電位を打ち消し、プロトン駆動力の調節に関わる ⁶⁰⁾。クラミドモナスでは、LC/VLC 条件で発現が 誘導されるベストロフィン相同遺伝子が複数見 出されている 47)。遺伝子重複により変異株の表 現型は解析が難しいが、今後はゲノム編集を用い た多重遺伝子破壊株の作出による機能解析が期 待される。

iv) チラコイド膜ルーメンにおける HCO₃⁻から CO₂への変換

光照射下で、チラコイド膜ルーメン内はプロト ンの流入により約 pH 5 の酸性に傾いている。そ のため、HCO₃⁻と CO₂の平衡は CO₂側に偏って おり、輸送された HCO₃⁻はルーメンに局在する α-CA である CAH3 によって容易に CO₂へ変換 される⁶¹⁾。CAH3 が CCM の機能に必須であるこ とは、その変異株の解析により示された。 *ca1-3/cia3*株はHC条件では正常に生育できるが、 LC あるいは VLC 条件において生育が停止する。 また、*ca1-3/cia3* 株は HCO₃⁻の輸送は正常だが、 Rubisco へ供給するための HCO₃⁻から CO₂への変 換が損なわれているため、細胞内に大きな Ci プールが形成される⁶¹⁻⁶⁴。

v) ピレノイドへの CO₂の拡散と Rubisco による 固定

上述したように、チラコイド膜の一部はピレノ イドチューブとしてピレノイドに貫入している。 また、CAH3 は HC 条件ではストロマのチラコイ ド膜ルーメンで PSII と相互作用しているが、 CCM 駆動時にはピレノイド内(ピレノイド チューブのルーメン)に局在を変化させ、この移 動には CAH3 のリン酸化が関わることが示唆さ れている⁶⁵⁾。従って、CAH3 によって変換された CO₂ はピレノイドチューブを介して容易にピレ ノイド内部に拡散し、Rubisco によって固定され る。

vi) ピレノイドから漏れ出た CO2の再利用

Rubisco によって固定されなかった CO₂は葉緑 体から細胞質側へ漏出する可能性がある。これを 防ぐために、ピレノイドの周囲で CO₂をトラッ プしHCO₃⁻に再変換する機構が推定されている。 興味深いことに、LCIB と LCIC は LC 条件では葉 緑体ストロマに分散しているが、VLC 条件では その局在を変化させ、ピレノイドの周りに集合す る^{31,66)}。従って、 β -CA 型の反応中心構造を持つ LCIB/LCIC 複合体がピレノイドから漏れ出た CO₂を HCO₃⁻に変換することで、CO₂を再利用す るモデルが提唱されている³¹⁾。

9. CCM を誘導するシグナル

真核生物において、CCM を誘導するシグナルの実体はいまだに明らかでない。単純に細胞内あ

るいは細胞外の Ci 濃度の低下がシグナルである とする以外にも諸説ある。例えば、光呼吸酵素を コードする Phosphoglycolate phosphatase 1 (*PGP1*) と Glycolate dehydrogenase 1 (GDHI)の欠損変異株 は CCM が駆動できずに生育が停止し 67-69)、これ らの遺伝子の発現は CO, 欠乏条件で一過的に誘 導されることから^{47,49)}、光呼吸経路の活性やその 代謝産物が CCM の誘導に必要であることが示唆 されている。また、DCMU の添加によりペリプ ラズム炭酸脱水酵素をコードする CAHI と LCII の発現誘導が抑制され^{19,70,71)}、細胞内への Ci 濃 縮が阻害されることから⁹、電子伝達鎖における レドックス状態の変化が CCM を誘導するシグナ ルの出発点である可能性も考えられる。また概日 リズムが CCM の誘導に関わることも示唆されて いる⁷²⁾。近年、分子遺伝学的なアプローチによ り、CCM の制御に関わる因子が以下のように複 数同定されてきた。

10. CCM1/CIA5 と LCR1 による CO₂シグナル伝 達カスケード

生育に高 CO₂が必要な CO₂要求性変異株 cia5 株⁷³⁾と C16 株⁷⁴⁾は最初に単離された CCM 調節 変異株であり、その変異原因遺伝子として Zn²⁺ 結合タンパク質をコードする CCM1/CIA5 が同定 された 75, 76)。 CCM1/CIA5 は、mRNA ならびに タンパク質レベルで CO, 濃度条件に関わらず恒 常的に発現しており、in vivo で約 280-500 kDa の 高分子複合体を形成する⁷⁷⁾。また、CCM1/CIA5 は CO2 濃度条件に関わらず核に局在することか ら、CCM1/CIA5 が核内で転写因子複合体として 機能することが示唆されている⁷⁸⁾。CCM1/CIA5 の変異株では、LC/VLC 条件で誘導される多くの 遺伝子群(LCIA、LCIB、LCIC、HLA3、CAH1、 LCII など)の発現誘導が損なわれていることか ら、CCM1/CIA5 が CO₂のシグナル伝達の最上流 に位置するマスターレギュレーターであると推 定されているが^{49,78,79)}、実際に CCM1/CIA5 が CO₂ あるいは HCO₃と結合してセンサーとして機能 しているかどうかは不明である。マイクロ流体デ バイスを用いた実験から、クラミドモナスは約 30 mMの HCO₃-に対して正の走化性を示すが、

cia5 株ではこの走化性が失われたという興味深い結果も報告されている⁸⁰⁾。

ペリプラズム層に局在する CA をコードする CAH1 のプロモーター配列を用いたレポーター アッセイから、CAH1 と LCI1 の発現制御を担う MYB 転写因子 low-CO₂ stress response 1 (LCR1)が 同定された⁸¹⁾。LCR1 はそれ自身が CCM1/CIA5 によって発現制御を受けることから、LCR1 は CO₂ シグナルを増幅し、下流の遺伝子に伝える transmitter として機能すると考えられている。

11. 葉緑体から核へのレトログレードシグナル による CCM 遺伝子の転写制御

 CO_2 欠乏条件下で生育できない表現型を指標 としたクラミドモナス変異株のスクリーニング により、HLA3 と LCIA の蓄積量が低下した変異 株 H82 が単離された⁸²⁾。H82 株の原因遺伝子は、 植物に特有な Ca^{2+} 結合タンパク質 calcium sensing receptor (CAS)のオルソログをコードしていた⁸³⁾。 CAS は疎水領域を挟んで N 末端側に Ca^{2+} 結合領 域、C 末端側に機能未知の rhodanase-like ドメイ ンを持つ⁸⁴⁾。

H82株における HLA3 と LCIA の蓄積量の低下 は、*HLA3 と LCIA* が転写レベルで抑制されてい ることによる⁸³⁾。興味深いことに、VLC 条件に 移して 20 分後では、H82 株でも野生株と同様に 2 つの遺伝子の転写は誘導されるが、2 時間後に はその発現量が維持されない。従って、CAS は CCM1/CIA5 によって初期に転写誘導された *HLA3 と LCIA* の発現維持に関わると考えられる。

CAS の細胞内局在は、HC 条件では葉緑体全体 に分散するが、VLC 条件ではピレノイドチュー ブに沿ってピレノイド内部へと集合する^{83,85)}。こ の時、ピレノイド内部の Ca²⁺濃度も上昇している ことから、CAS はピレノイド内で Ca²⁺と結合し て、何らかのシグナルを発信していると考えられ る。すなわち、CAS を介したピレノイドから核 へのレトログレードシグナルが、HLA3 と LCIA の転写の維持に関わり、CCM の制御に関わると いうモデルが考えられる(図 2)。藻類の CCM は主に CO₂ の濃度変化により制御されると多く の研究者が考えてきたが、CAS が CCM を制御す



図2.

(A) 緑藻クラミドモナスにおける CCM の駆動と制御のモデル。黒丸で示したチラコイド膜に局在する重炭酸イオン輸送体/チャネル、黄丸で示したレトログレードシグナル、紫丸で示したカルシウムチャネルに関しては未解明である。(B) CCM の駆動に重要な LCIB の葉緑体内局在変化。Clover は改変型 GFP。スケールバーは 5 µm。(C) CCM の制御に重要な CAS の葉緑体内局在変化。スケールバーは 5 µm。文献 85 の図を改変した。

る発見は「Ca²⁺による光合成の制御」という古 くて新しい問題を改めて提起するものとなった。 陸上植物のCASもチラコイド膜に局在し、CO₂ ガス交換を行う気孔の閉鎖や、葉緑体から核への レトログレードシグナルにより植物の免疫応答 に関わる遺伝子発現を制御することが報告され ている^{86,87)}。つまり、CAS による葉緑体を介し たレトログレーシグナルは、緑色植物の進化の途 上で共生により緑藻が出現した早い段階ですで に獲得されていたことが示唆される。また、藻類 のCO₂濃縮と陸上植物のCO₂ガス交換といった、 光合成維持のためのCO₂の獲得が、CAS という 共通の因子で制御され、植物進化の過程で保存さ れていることも分かってきた。今後は、Ca²⁺と CO₂のシグナル伝達のクロストークを調べることで、緑色植物が持つ光合成の調節機構の進化と 多様性が解明できると期待される。

12. おわりに

これまでに述べた数多くの研究によって、緑藻 の CCM における駆動と制御の全体像が少しずつ 明らかになってきた。とはいえ、まだ未解明な点 が多く残されている。例えば、チラコイド膜に局 在することが予測される HCO₃ 輸送体/チャネル や、ピレノイドから核へのレトログレードシグナ ルの実態は不明である。環境中の CO₂ 濃度に応 答してピレノイドの内部や周囲へと局在を変化 させる LCIB や CAS の局在変化の制御機構につ いても不明である。また、ピレノイドそのものの 機能や、その構築に関わる因子についても明らか でない点が多い。ピレノイドの分裂様式の解明や、 藻類におけるピレノイドの多様性と陸上植物に おけるその消失の謎は、相分離されたオルガネラ の性質が植物の進化の過程でどのように変遷し ていったのかを明らかにする上でも重要な課題 である⁸⁸⁾。

このような現象を理解するためには、明確な表 現型を持つ変異株を用いた順遺伝学的解析は依 然として重要である。しかし、細胞内のタンパク 質の局在やオルガネラの形態などの観察によっ て表現型を記述する必要がある場合は、顕微鏡に よる変異株スクリーニングに非常に時間がかか るという問題がある。最近筆者らは、蛍光顕微 鏡・計算機による機械学習・セルソーターの三者 を統合した「インテリジェント画像活性細胞選抜 法」によって、機械ベースのクラミドモナス高速 変異株スクリーニングが可能であることを示し た⁸⁹⁾。今後は、このような先端技術を取り入れ ることで、光合成分野における CCM 研究がさら に加速することが期待される。

Received Mar 21, 2019; Accepted Apr 3, 2019; Published Apr 30, 2019.

参考文献

- Hanba, Y.T., Shibasaka, M., Hayashi, Y., Hayakawa, T., Kasamo, K., Terashima, I., Katsuhara, M. (2004) Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants. *Plant Cell Physiol.* 45, 521–529.
- Field, C.B., Behrenfeld, M.J., Randerson, J.T., Falkowski, P. (1998) Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science* 281, 237–240.
- 宝月 大輔、宮地 重遠 (1976) 「炭酸ガスと光合 成」34巻5号 279-286.
- Moroney, J.V., Ynalvez, R.A. (2007) Proposed carbon dioxide concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii. Eukaryot. Cell* 6, 1251– 1259.

- Jordan, D.B., Ogren, W.L. (1981) Species variation in the specificity of ribulose-bisphosphate carboxylase-oxygenase. *Nature* 291, 513–515.
- Vance, P., Spalding, M.H. (2005) Growth, photosynthesis, and gene expression in *Chlamydomonas* over a range of CO₂ concentrations and CO₂/O₂ ratios: CO₂ regulates multiple acclimation states. *Can. J. Bot.* 83, 796–809.
- Jones, H.G. (1992) Plants and microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology. Second edition, Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Hogetsu, D., Miyachi, S. (1977) Effects of CO₂ concentration during growth on subsequence photosynthetic CO₂ fixation in Chlorella. *Plant Cell Physiol.* 18, 347–352.
- Badger, M.R., Kaplan, A., Berry, J.A. (1980) Internal inorganic carbon pool of *Chlamydomonas reinhardtii*. Evidence for a carbon dioxide concentrating mechanism. *Plant Physiol.* 66, 407–413.
- Price, G.D., Howitt, S.M. (2014) Plant science: Towards turbocharged photosynthesis. *Nature* 513, 497–498.
- Badger, M.R., Price, G.D. (2003) CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution. *J. Exp. Bot.* 54, 609– 622.
- Raven, J.A. (1997) Putting the C in phycology. *Eur. J. Phycol.* 32, 319–333.
- Giordano, M., Beardall, J., Raven, J.A. (2005) CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56, 99–131.
- Fukuzawa, H., Ogawa, T., Kaplan, A. (2012) The uptake of CO₂ by cyanobacteria and microalgae. In photosynthesis "Plastid biology, energy conversion and carbon assimilation" (Ed. by Eaton-rye J.J., Tripathy B. C., and Sharkey T.D.) Springer, Advances in photosynthesis and respiration 34, 625– 650.
- Shiraiwa, Y., Miyachi, S. (1979) Enhancement of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylation reaction by carbonic anhydrase. *FEBS Lett.* 106, 243–246.
- Tsuzuki, M., Miyachi, S. (1979) Effects of CO₂ concentration during growth and ethoxyzolamide on CO₂ compensation point in *Chlorella*. *FEBS Lett.* 103, 221–223.
- Kaplan, A., Badger, M.R., Berry, J.A. (1980) Photosynthesis and the intracellular inorganic carbon

pool in the bluegreen alga Anabaena variabilis - Response to external CO_2 concentration. Planta 149, 219–226.

- Kamo, T., Shimogawara, K., Fukuzawa, H., Muto, S., Miyachi, S. (1990) Subunit constitution of carbonic anhydrase from *Chlamydomonas reinhardtii. Eur. J. Biochem.* 192, 557–562.
- Fukuzawa, H., Fujiwara, S., Yamamoto, Y., Dionisio-Sese, M. L., Miyachi, S. (1990) cDNA cloning, sequence, and expression of carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii*: Regulation by environmental CO₂ concentration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 4383–4387.
- Fukuzawa, H. Suzuki, E., Komukai, Y., Miyachi, S. (1992) A gene homologous to chloroplast carbonic anhydrase (*icfA*) is essential to photosynthetic carbon dioxide fixation by *Synechococcus* PCC7942. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89, 4437–4441.
- Merchant, S.S., Prochnik, S.E., Vallon, O., Harris, E.H., Karpowicz, S.J. et al. (2007) The *Chlamydomonas* genome reveals the evolution of key animal and plant functions. *Science* 318, 245–250.
- Shimogawara, K., Fujiwara, S., Grossman, A., Usuda. (1998) High-efficiency transformation of *Chlamydomonas reinhardtii* by electroporation. *Genetics* 148, 1821–1828.
- Yamano, T., Iguchi, H., Fukuzawa, H. (2013) Rapid transformation of *Chlamydomonas reinhardtii* without cell-wall removal. *J. Biosci. Bioeng.* 115, 691–694.
- Jinkerson, R.E., Jonikas, M.C. (2015) Molecular techniques to interrogate and edit the *Chlamydomonas* nuclear genome. *Plant J.* 82, 393– 412.
- Li, X., Zhang, R., Patena, W., Gang, S.S., Blum, S.R., et al. (2016) An indexed, mapped mutant library enables reverse genetics studies of biological processes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell* 28, 367–387.
- Greiner, A., Kelterborn, S., Evers, H., Kreimer, G., Sizova, I., Hegemann, P. (2017) Targeting of photoreceptor genes in *Chlamydomonas reinhardtii* via zinc-finger nucleases and CRISPR/Cas9. *Plant Cell* 29, 2498–2518.
- Dutcher, S.K. (1995) Mating and tetrad analysis in Chlamydomonas reinhardtii. Methods Cell Biol. 47, 531–540.

- 28. 福澤 秀哉、山野 隆志、梶川 昌孝 (2012)「緑藻 クラミドモナスにおける無機炭素濃縮機構と脂 質代謝」光合成研究 22, 174-184.
- Wang, Y., Spalding, M.H. (2014) Acclimation to very low CO₂: contribution of limiting CO₂ inducible proteins, LCIB and LCIA, to inorganic carbon uptake in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol*. 166, 2040–2050.
- Wang, Y., Spalding, M.H. (2006) An inorganic carbon transport system responsible for acclimation specific to air levels of CO₂ in *Chlamydomonas reinhardtii. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 10110–10115.
- 31. Yamano, T., Tsujikawa, T., Hatano, K., Ozawa, S., Takahashi, Y., Fukuzawa, H. (2010) Light and low-CO₂-dependent LCIB-LCIC complex localization in the chloroplast supports the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii. Plant Cell Physiol.* 51, 1453–1468.
- 32. Uniacke, J., Zerges, W. (2007) Photosystem II assembly and repair are differentially localized in *Chlamydomonas. Plant Cell* 19, 3640–3654.
- 33. Ramazanov, Z., Rawat, M., Henk, M.C., Mason, C.B., Matthews, S.W., Moroney, J.V. (1994) The induction of the CO₂-concentrating mechanism is correlated with the formation of the starch sheath around the pyrenoid of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Planta* 195, 210–216.
- Sager, R., Palade, G.E. (1954) Chloroplast structure in green and yellow strains of *Chlamydomonas*. *Exp. Cell Res.* 7, 584–588.
- Engel, B.D., Schaffer, M., Cuellar, L.K., Villa, E., Plitzko, J.M., Baumeister, W. (2015) Native architecture of the *Chlamydomonas* chloroplast revealed by in situ cryo-electron tomography. *eLife* 4, e04889.
- Küken, A., Sommer, F., Yaneva-Roder, L., Mackinder, L.C.M, Höhne, M., et al. (2018) Effects of microcompartmentation on flux distribution and metabolic pools in *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplasts. *eLife* 7, e37960.
- Ohad, I., Siekevitz, P., Palade, G.E. (1967) Biogenesis of chloroplast membranes I. Plastid differentiation in a dark-grown algal mutant (*Chlamydomonas reinhardtii*). J. Cell Biol. 35, 521– 552.
- Freeman Rosenzweig, E.S., Xu, B., Kuhn Cuellar, L., Martinez-Sanchez, A., Schaffer, M., et al. (2017) The eukaryotic CO₂-concentrating organelle is liquid-like

and exhibits dynamic reorganization. Cell 171, 148-162.

- Mackinder, L.C.M, Meyer, M.T., Mettler-Altmann, T., Chen, V.K., Mitchell, M.C., et al. (2016) A repeat protein links Rubisco to form the eukaryotic carbon-concentrating organelle. *Proc. Natl. Acad. Sci.* U. S. A. 113, 5958–5963.
- Zhan, Y., Marchand, C.H., Maes, A., Mauries, A., Sun, Y., et al. (2018) Pyrenoid functions revealed by proteomics in Chlamydomonas reinhardtii. *PLoS One* 13, e0185039.
- Somanchi, A., Handley, E.R., Moroney, J.V. (1998) *Chlamydomonas reinhardtii* cDNAs upregulated in low-CO₂ conditions: expression and analyses. *Can. J. Bot.* 76, 1003–1009.
- Turkina, M.V., Blanco-Rivero, A., Vainonen, J.P., Vener, A.V., Villarejo, A. (2006) CO₂ limitation induces specific redox-dependent protein phosphorylation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proteomics* 6, 2693–2704.
- Wunder, T., Cheng, S.L.H., Lai, S.K., Li, H.Y., Mueller-Cajar, O. (2018) The phase separation underlying the pyrenoid-based microalgal Rubisco supercharger. *Nat. Commun.* 9, 5076.
- Mackinder, L.C.M., Chen, C., Leib, R.D., Patena, W., Blum, S.R., et al. (2017) A spatial interactome reveals the protein organization of the algal CO₂-concentrating mechanism. *Cell* 171, 133–147.
- Bergeron-Sandoval, L.P., Safaee, N., Michnick, S.W. (2016) Mechanisms and consequences of macromolecular phase separation. *Cell* 165, 1067– 1079.
- Mitchell, M.C., Metodieva, G., Metodiev, M.V., Griffiths, H., Meyer, M.T. (2017) Pyrenoid loss impairs carbon-concentrating mechanism induction and alters primary metabolism in *Chlamydomonas reinhardtii. J. Exp. Bot.* 68, 3891–3902.
- Yamano, T., Miura, K., Fukuzawa, H. (2008) Expression analysis of genes associated with the induction of the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii. Plant Physiol.* 147, 340–354.
- Brueggeman, A.J., Gangadharaiah, D.S., Cserhati, M.F., Casero, D., Weeks, D.P., Ladunga, I. (2012) Activation of the carbon concentrating mechanism by CO₂ deprivation coincides with massive transcriptional restructuring in *Chlamydomonas reinhardtii. Plant Cell* 24, 1860–1875.

- 49. Fang, W., Si, Y., Douglass, S., Casero, D., Merchant, S.S., Pellegrini, M., et al. (2012) Transcriptome-wide changes in *Chlamydomonas reinhardtii* gene expression regulated by carbon dioxide and the CO₂-concentrating mechanism regulator CIA5/CCM1. *Plant Cell* 24, 1876–1893.
- Duanmu, D., Miller, A. R., Horken, K. M., Weeks, D. P., Spalding, M. H. (2009) Knockdown of limiting-CO₂-induced gene HLA3 decreases HCO₃⁻ transport and photosynthetic Ci affinity in *Chlamydomonas reinhardtii. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 5990–5995.
- Gao, H., Wang, Y., Fei, X., Wright, D.A., Spalding, M.H. (2015) Expression activation and functional analysis of HLA3, a putative inorganic carbon transporter in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant J.* 82, 1–11.
- Yamano, T., Sato, E., Iguchi, H., Fukuda, Y., Fukuzawa, H. (2015) Characterization of cooperative bicarbonate uptake into chloroplast stroma in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 7315–7320.
- Karlsson, J., Ramazanov, Z., Hiltonen, T., Gardeström, P., Samuelsson, G. (1994) Effect of vanadate on photosynthesis and the ATP/ADP ratio in low-CO₂-adapted *Chlamydomonas reinhardtii* cells. *Planta* 192, 46–51.
- Geraghty, A.M., Spalding, M.H. (1996) Molecular and structural changes in *Chlamydomonas* under limiting CO₂ (a possible mitochondrial role in adaptation). *Plant Physiol.* 111, 1339–1347.
- 55. Ohnishi, N., Mukherjee, B., Tsujikawa, T., Yanase, M., Nakano, H., et al. (2010) Expression of a low CO₂-inducible protein, LCI1, increases inorganic carbon uptake in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii. Plant Cell* 22, 3105–3117.
- 56. Wang, Y., Stessman, D.J., Spalding, M.H. (2015) The CO₂ concentrating mechanism and photosynthetic carbon assimilation in limiting CO₂: how *Chlamydomonas* works against the gradient. *Plant J.* 82, 429–448.
- Soupene, E., Inwood, W., Kustu, S. (2004) Lack of the Rhesus protein Rh1 impairs growth of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* at high CO₂. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 7787–7792.
- Mitra, M., Lato, S.M., Ynalvez, R.A., Xiao, Y., Moroney, J.V. (2004) Identification of a new chloroplast carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii. Plant Physiol.* 135, 173–182.

- Jin, S., Sun, J., Wunder, T., Tang, D., Cousins, A.B., et al. (2016) Structural insights into the LCIB protein family reveals a new group of β-carbonic anhydrases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 14716–14721.
- Herdean, A., Teardo, E., Nilsson, A.K., Pfeil, B.E., Johansson, O.N., et al. (2016) A voltage-dependent chloride channel fine-tunes photosynthesis in plants. *Nat. Commun.* 7, 11654.
- Karlsson, J., Clarke, A.K., Chen, Z.Y., Hugghins, S.Y., Park, Y.I., et al. (1998) A novel α-type carbonic anhydrase associated with the thylakoid membrane in *Chlamydomonas reinhardtii* is required for growth at ambient CO₂. *EMBO J.* 17, 1208–1216.
- Spalding, M.H., Spreitzer, R.J., Ogren, W.L. (1983) Carbonic anhydrase-deficient mutant of *Chlamydomonas reinhardii* requires elevated carbon dioxide concentration for photoautotrophic growth. *Plant Physiol.* 73, 268–272.
- 63. Funke, R.P., Kovar, J.L., Weeks, D.P. (1997) Intracellular carbonic anhydrase is essential to photosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* at atmospheric levels of CO₂. Demonstration via genomic complementation of the high-CO₂-requiring mutant ca-1. *Plant Physiol.* 114, 237–244.
- Moroney, J.V., Tolbert, N.E., Sears, B.B. (1986) Complementation analysis of the inorganic carbon concentrating mechanisms of *Chlamydomonas reinhardtii. Mol. Gen. Genet.* 204, 199–203.
- Blanco-Rivero, A., Shutova, T., Román, M.J., Villarejo, A., Martinez, F. (2012) Phosphorylation controls the localization and activation of the lumenal carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii*. *PLoS One* 7, e49063.
- Duanmu, D., Wang, Y., Spalding, M.H. (2009) Thylakoid lumen carbonic anhydrase (CAH3) mutation suppresses air-dier phenotype of LCIB mutant in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol*. 149, 929–937.
- 67. Suzuki, K., Marek, L.F., Spalding, M.H. (1990) A photorespiratory mutant of *Chlamydomonas* reinhardtii. Plant Physiol. 93, 231–237.
- Mamedov, T.G., Suzuki, K., Miura, K., Kucho, K., Fukuzawa, H. (2001) Characteristics and sequence of phosphoglycolate phosphatase from a eukaryotic green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. J. Biol. Chem. 276, 45573–45579.
- Nakamura, Y., Kanakagiri, S., Van, K., He, W., Spalding, M.H. (2005) Disruption of the glycolate dehydrogenase gene in the high-CO₂-requiring

mutant HCR89 of *Chlamydomonas reinhardtii. Can. J. Bot.* 83, 820–833.

- Dionisio-Sese, M.L., Fukuzawa, H., Miyachi, S. (1990) Light-induced carbonic anhydrase expression in *Chlamydomonas reinhardtii. Plant Physiol.* 94, 1103–1110.
- Im, C.S., Grossman, A.R. (2002) Identification and regulation of high light-induced genes in *Chlamydomonas reinhardtii. Plant J.* 30, 301–313.
- Mitchell, M.C., Meyer, M.T., Griffiths, H. (2014) Dynamics of carbon-concentrating mechanism induction and protein relocalization during the dark-to-light transition in synchronized *Chlamydomonas reinhardtii. Plant Physiol.* 166, 1073–1082.
- Moroney, J.V., Husic, H.D., Tolbert, N.E., Kitayama, M., Manuel, L.J., Togasaki, R.K. (1989) Isolation and characterization of a mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* deficient in the CO₂ concentrating mechanism. *Plant Physiol.* 89, 897–903.
- Fukuzawa, H., Ishizaki, K., Miura, K., Matsueda, S., Ino-ue, T., et al. (1998) Isolation and characterization of high-CO₂ requiring mutants from *Chlamydomonas reinhardtii* by gene tagging. *Can. J. Bot.* 76, 1092– 1097.
- 75. Fukuzawa, H., Miura, K., Ishizaki, K., Kucho, K., Saito, T., et al. (2001) *Ccm1*, a regulatory gene controlling the induction of a carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii* by sensing CO₂ availability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 5347–5352.
- Xiang, Y., Zhang, J., Weeks, D.P. (2001) The *Cia5* gene controls formation of the carbon concentrating mechanisms in *Chlamydomonas reinhardtii. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 5341–5346.
- Kohinata, T., Nishino, H., Fukuzawa, H. (2008) Significance of zinc in a regulatory protein, CCM1, which regulates the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol*. 49, 273–283.
- Wang, Y., Sun, Z., Horken, K.M., Im, C.S., Xiang, Y., et al. (2005) Analysis of CIA5, the master regulator of the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*, and its control of gene expression. *Can. J. Bot.* 83, 765–779.
- Miura, K., Yamano, T., Yoshioka, S., Kohinata, T., Inoue, Y. et al. (2004) Expression profiling-based identification of CO₂-responsive genes regulated by CCM1 controlling a carbon-concentrating mechanism

in Chlamydomonas reinhardtii. Plant Physiol. 135, 1595–1607.

- Choi, H.I., Kim, J.Y., Kwak, H.S., Sung, Y.J., Sim, S.J. (2016) Quantitative analysis of the chemotaxis of a green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*, to bicarbonate using diffusion-based microfluidic device. *Biomicrofluidics* 10, 014121.
- 81. Yoshioka, S., Taniguchi, F., Miura, K., Inoue, T., Yamano, T., Fukuzawa, H. (2004) The novel Myb transcription factor LCR1 regulates the CO₂-responsive gene *Cah1*, encoding a periplasmic carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell* 16, 1466–1477.
- Wang, L., Yamano, T., Kajikawa, M., Hirono, M., Fukuzawa, H. (2014) Isolation and characterization of novel high-CO₂-requiring mutants of *Chlamydomonas reinhardtii. Photosynth. Res.* 121, 175–184.
- Wang, L., Yamano, T., Takane, S., Niikawa, Y., Toyokawa, C., et al. (2016) Chloroplast-mediated regulation of CO₂-concentrating mechanism by Ca²⁺-binding protein CAS in the green alga Chlamydomonas reinhardtii. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 12586–12591.
- Han, S., Tang, R., Anderson, L.K., Woerner, T.E., Pei, Z. M. (2003) A cell surface receptor mediates extracellular Ca²⁺ sensing in guard cells. *Nature* 425, 196–200.
- Yamano, T., Toyokawa, C., Fukuzawa, H. (2018) High-resolution suborganellar localization of Ca²⁺-binding protein CAS, a novel regulator of CO₂-concentrating mechanism. *Protoplasma* 255, 1015–1022.
- Nomura, H., Komori, T., Kobori, M., Nakahira, Y., Shiina, T. (2008) Evidence for chloroplast control of external Ca²⁺-induced cytosolic Ca²⁺ transients and stomatal closure. *Plant J.* 53, 988–998.
- Nomura, H., Komori, T., Uemura, S., Kanda, Y., Shimotani, K., et al. (2012) Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nat. Commun.* 3, 926.
- 88. 田中厚子 (2019)「水圏の光合成を支える動的で 柔らかいピレノイド」藻類 第67巻 第1号 5-10.
- Nitta, N., Sugimura, T., Isozaki, A., Mikami, H., Hiraki, K., et al. (2018) Intelligent image-activated cell sorting. *Cell* 175, 266–276.
- 90. Spalding, M.H., Spreitzer, R.J., Ogren, W.L. (1983) Reduced inorganic carbon transport in a

CO₂-requiring mutant of *Chlamydomonas reinhardii*. *Plant Physiol*. 73, 273–276.

- Suzuki, K., Spalding, M.H. (1989) Adaptation of *Chlamydomonas reinhardtii* high-CO₂-requiring mutants to limiting-CO₂. *Plant Physiol.* 90, 1195– 1200.
- Rolland, N., Dorne, A.J., Amoroso, G., Sültemeyer, D.F., Joyard, J., Rochaix, J.D. (1997) Disruption of the plastid ycf10 open reading frame affects uptake of inorganic carbon in the chloroplast of *Chlamydomonas. EMBO J.* 16, 6713–6726.
- Mariscal, V., Moulin, P., Orsel, M., Miller, A.J., Fernández, E., Galván, A. (2006) Differential regulation of the *Chlamydomonas Nar1* gene family by carbon and nitrogen. *Protist* 157, 421–433.
- Machingura, M.C., Bajsa-Hirschel, J., Laborde, S.M., Schwartzenburg, J.B., Mukherjee, B., et al. (2017) Identification and characterization of a solute carrier, CIA8, involved in inorganic carbon acclimation in *Chlamydomonas reinhardtii. J. Exp. Bot.* 68, 3879– 3890.
- Miura, K., Kohinata, T., Yoshioka, S., Ohyama, K., Fukuzawa, H. (2002) Regulation of a carbon concentrating mechanism through CCM1 in *Chlamydomonas reinhardtii. Funct. Plant Biol.* 29, 211–219.
- 96. Suzuki, K. (1995) Phosphoglycolate phosphatase-deficient mutants of *Chlamydomonas reinhardtii* capable of growth under air. *Plant Cell Physiol.* 36, 95–100.
- Pollock, S.V., Colombo, S.L., Prout, D.L., Godfrey, A.C., Moroney, J.V. (2003) Rubisco activase is required for optimal photosynthesis in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in a low-CO₂ atmosphere. *Plant Physiol.* 133, 1854–1861.
- Adams, J.E., Colombo, S.L., Mason, C.B., Ynalvez, R.A., Tural, B., Moroney, J.V. (2005) A mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* that cannot acclimate to low CO₂ conditions has an insertion in the *Hdh1* gene. *Func. Plant Biol.* 32, 55–66.
- Ma, Y., Pollock, S. V., Xiao, Y., Cunnusamy, K., Moroney, J.V. (2011) Identification of a novel gene, *CIA6*, required for normal pyrenoid formation in *Chlamydomonas reinhardtii. Plant Physiol.* 156, 884–896.
- Ruby, A., Ynalvez, A.C., Moroney, J.V. (2008) Identification and characterisation of a novel inorganic carbon acquisition gene, *CIA7*, from an

insertional mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Funct. Plant Biol.* 35, 373–381.

Running and regulation of photosynthetic turbocharger engine in the green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*

Takashi Yamano and Hideya Fukuzawa

Graduate School of Biostudies, Kyoto University

トピックス

南極の陸生光合成生物における光化学系 Ⅱの光不活性化波長依存性と生 育環境における光阻害の潜在的リスク

¹中央大学 理工学部生命科学科 ²自然科学研究機構 アストロバイオロジーセンター 小杉真貴子 ^{1,2}*、小池裕幸¹

氷河の後退によって形成された南極露岩域の陸上環境は、低温や凍結、乾燥といったストレスに晒されており、生物にとって極限環境のひとつである。そこには地衣や気生藻など、水分可変型の乾燥耐性を有する光合成生物が優占して生育している。これまでに、その優れたストレス耐性に着目した生理生態学的な研究が行われてきたが、南極における観測の難しさや生物の扱い難さが障壁となり、生物ごとの断片的な情報に留まることが多かった。そこで私達は、微気象観測データと生理学特性データを併せて解析し、生育地での生理活性や生態を再現する手法の確立を目指している。特に光合成効率の大きな低下を引き起こす光阻害に関して、定量的かつ定性的にその影響を明らかにすることが重要である。本稿では、光合成分野で発展を遂げた光阻害に関する研究手法を応用することで明らかになってきた南極光合成生物の光ストレスに対する生理学特性とその多様性について解説する。

1. はじめに

南極の陸上環境には、乾燥耐性を有する藻類や 蘚類、地衣類の中の限られた種が生育し、一次生 産者として重要な役割を担っている。そこは、低 温、乾燥、凍結といったストレスに加え、夏の活 動期間には強い紫外線を含んだ日射に晒される ため光阻害を起こしやすく、光合成生物にとって 非常に過酷な環境である。光合成生物は南極の厳 しい環境に如何に適応しているのか。その生理生 態学的な戦略を明らかにすることは、生命現象の 成り立つ絶対条件や柔軟性を明らかにする上で 重要である。しかし一方で、南極の厳しい自然環 境は人の活動にも多くの制約を与え、極域研究の 発展を拒んできた。長期の現地調査が難しいこと や、試料が希少で代謝活性が低いことにより、生 物の生理生態学的特性に関してこれまで断片的 な情報しか得られてこなかった。南極の厳しい環 境下では資源をめぐる他生物との競争は希薄で あり、コストの多くが環境ストレスに対して費や されていると考えられる。そのためエネルギー収 支の面から環境への適応を捉えることが重要で ある。

2. 光化学系における光不活性化の過程

光は光合成生物にとって生育に必須の環境条 件であるが、過剰な光エネルギーは光化学系に損 傷を与え、しばしば光合成効率の大きな低下を招 く。光エネルギーによって引き起こされる光合成 活性の低下を光阻害という¹⁾。一方で、損傷した 光化学系タンパク質は修復系により再活性化さ れるが、修復系は光合成電子伝達系で生成する ATP に依存しているため光が必要である。その ため、光阻害による光合成活性の低下は損傷と回 復の速度のバランスで決定される^{2,3)}。光損傷と 回復は別々の環境要因によって左右されるため、 光阻害について研究する際は2つの過程を分け て考えることが重要である。本稿では、光による 損傷が起きる過程を「光不活性化 (photoinactivation)」、光不活性化の結果生じた 光化学系へのダメージを「光損傷 (photodamage)」

^{*}連絡先 E-mail: kosugi@bio.chuo-u.ac.jp

と定義し、「光阻害 (photoinhibition)」の用語 と区別して用いた。

光不活性化の過程に関してはこれまでに多く の研究がなされてきたが、未だに議論の余地が残 されている⁴⁷⁾。光不活性化は大きく分けて Two-step モデルと Excess energy モデルの2つ の経路が提唱されている。Two-step モデルは、光 化学系 II (系 II)の酸素発生系 (Oxygen evolving complex: OEC)が光により直接的に破壊され、そ の後に系 II が励起されることで D1 タンパク質の 損傷が引き起こされる経路である^{8,9)}。この時、 反応中心の破壊はマンガンクラスターの吸収ス ペクトルに依存することが知られており、UVA

(315~400 nm) で最も起こりやすく青色光でも 影響が見られる¹⁰⁻¹²⁾。一方 Excess energy モデル では、光化学系の励起によって生じた酸化力や還 元力が活性酸素を生じるなどして障害を引き起 こす経路が論じられている¹³⁻²⁵⁾。系 II では反応 中心のアクセプター側で行き場を失った電子が 酸素へ渡り活性酸素種 (ROS)の生成が生じる危 険がある。一重項酸素 (¹O₂) は P680⁺と Pheo⁻と の電荷の再結合によって生じる^{13,14)}。また、スー パーオキシド(·O²⁻)、過酸化水素(H₂O₂)、ヒ ドロキシラジカル (·OH) は光化学系から酸素へ 電子が渡ることで発生し、タンパク質合成系を阻 害することが知られている 15-17)。これにより光損 傷の回復が遅れ、光阻害が加速する¹⁸⁻²⁰⁾。系Iの 光損傷は系 Ⅱ からの過剰な電子伝達により引き 起こされ、ROS が関与していることが知られて いる²¹⁻²⁵⁾。系 I の回復は系 II に比べて遅いため光 阻害のリスクを増大させるが、自然環境下での系 Iの光阻害は系Ⅱに比べると影響が少ないと考え られている^{26,27)}。

3. 自然環境での光不活性化の反応係数を算出す るには

本稿では系IIの光不活性化に関して言及する。 光損傷による系II最大量子収率(F_v/F_m)の低下 はタンパク質合成阻害剤の存在下で照射時間に 対して1次反応で起こることが知られている ²⁸⁻³⁰⁾。一次反応なので、ある程度の光を照射した 時の残存(系 II)活性(y)は次の式で表される。

$y = a \times e^{-k_{pi} \times t}$

この反応係数 k_{pi} はすなわち速度定数である。aは初期値の定数、t は照射時間である。 k_{pi} は光子 の波長あるいは光量子束密度(photon flux density) (n) に依存する。つまり、単色光による照射を 行う場合、 k_{pi} は光量子束密度あるいはエネルギー 束密度(energy flux density) (I) に対する反応係 数(N_{pi} と E_{pi}) に置き換えることが可能である。

 $y = a \times e^{-N_{pi} \times n \times t}$

$$v = a \times e^{-E_{pi} \times I \times i}$$

 $N_{\rm pi} \times n = k_{pi}$

 $E_{\rm pi} \times I = k_{pi}$

 $n \times t$ は、単位面積辺りの総光子数 (N) 、 $I \times t$ は 総エネルギー量 (x、 kJm^{-2}) となる。

$$y = a \times e^{-N_{pi} \times N}$$

 $y = a \times e^{-E_{pi} \times x}$

 $N_{pi} \ge E_{pi}$ は波長ごとに、各生物固有の定数となる。 我々の研究では、エネルギー量に対する反応係数 (E_{pi}) を用いた³¹⁾。太陽光下における光損傷の 速度定数は各波長の速度定数 (k_{pi}) を積算したも のとなるので以下の式で求められる。

 $k_{pi} = \sum_{320\text{nm}}^{660\text{nm}} \left\{ \left(E_{pi} \right)_{\lambda} \times I_{\lambda} \right\}$

(320 nm から 660 nm までの照射エネルギーに対 する速度定数)



図1. 観測点の地図および写真

観測点は東南極地域の宗谷海岸に面するラングホブデのユキドリ沢中流部に位置する(南極全体図の赤点、およびその拡大図の星印)。元の地図画像は国土地理院から 1968 年と 1978 年に発表されたもの。下図は観 測点に設置した定点カメラで撮影された画像と生育する光合成生物の写真である。Site 1 にナンキョクカワノ リ、Site 2 にネナシイワタケ、Site 3 にヤノウエノアカゴケが生育している。

4. 南極光合成生物における光不活性化の波長依 存性の比較

昭和基地周辺のラングホブデにあるユキドリ 沢は、その名の通り夏期間に多くのユキドリが営 巣しており、貴重な栄養塩が光合成生物に提供さ れるため植生が豊かで南極特別保護地区(ASPA No. 141)に指定されている(図1)。私達が観 測地点とした場所はユキドリが毎年営巣に利用 している岩の周りに拡がった植生で、氷河の融解 水ではなくスノードリフトから水が供給される。 研究対象とした、緑藻類ナンキョクカワノリ

(Prasiola crispa)、地衣類ネナシイワタケ (Umbilicaria decussata)、蘚類ヤノウエノアカゴ ケ(Ceratodon purpureus)は、南極の露岩域に広 く分布する種で水分可変型の乾燥耐性を有して おり、吸水と共に代謝活性を速やかに回復させる 能力がある。南極から乾燥状態で日本に輸送した サンプルを吸水回復させ、1.0 mg/mlのストレプ トマイシンにより回復系を阻害した状態で吸水 時における光不活性化の波長依存性を測定した。 光照射は基礎生物学研究所の大型スペクトログ ラフを用いて行い、PAM クロロフィル蛍光測定 器により照射前後の系 II の最大量子収率 (F_v/F_m) を測定した。乾燥時における光損傷の測定は、照 射処理後にタンパク質合成阻害剤を含むバッ ファーで吸水回復し、F_v/F_mを測定した。照射エ ネルギー (kJ m⁻²) に対して F_v/F_m の残存率をプ ロットし、算出した反応係数 Epiを波長に対しプ ロットしたものが図2である。これは照射エネル ギーに対する光不活性化の波長依存性を表して いる。3種の生物の中で最も光感受性が高かった のはナンキョクカワノリで、特に短波長光による 影響が大きかった。スペクトルから類推して OEC が直接破壊される光不活性化が起きている



図2. 光不活性化の反応係数*E*_{pi}の波長依存性 照射光エネルギーに対する光不活性化の反応係数 を吸水状態のナンキョクカワノリ(○)、ネナシ イワタケ(△)、ヤノウエノアカゴケ(□)、乾 燥状態のナンキョクカワノリ(●)で測定した。 文献 31 より改変。

ことが示唆された。一方、地衣類はどの波長域に おいても光損傷がほぼ起こらず、蘚類では 320 nm でのみ光不活性化の反応係数が高かったが、 それでも緑藻の7分の1程度であった。興味深い ことに、乾燥状態のナンキョクカワノリでは短波 長光での *E*pi が吸水時の10分の1程に低下した。 これは、乾燥状態では光による OEC の破壊が著 しく抑制されたことを示している。乾燥時の光損 傷と防御機構に関しては後に詳しく記述する。

5. 太陽光に対する光不活性化の有効放射スペク トル

各波長で測定した Epiと太陽光放射スペクトル データを用いて、自然環境下での光不活性化の速 度定数を理論的に算出することができる。図3は 2013年1月の快晴の日に南極の観測点で測定し た太陽光放射スペクトルである。左は直射日光の 当たる開けた場所、右はナンキョクカワノリの生 育場所付近で2時間おきに測定を行った。生育環 境は昼頃まで岩陰で日陰になり、14 時ごろから 直射日光に晒される。光不活性化の速度定数は $E_{\rm pi} \times I = k_{\rm pi}$ で表されるが、これは光不活性化の有 効放射 (effective photoinactivation dose) として定 義することができる。正午の太陽光から計算した 光不活性化の速度定数の波長依存性を図4に示 した。吸水状態のナンキョクカワノリにおいて、 *E*_{pi}は 320 nm が最も高い値であったが、地表に到 達する太陽光に含まれる 320 nm 成分の割合は非 常に少ないため、光不活性化の有効放射としては 360 nm がピーク波長となった。もうひとつ着目 すべき点は、660 nm における光不活性化の有効 放射が青色光と同程度に大きいことである。赤色 光の光損傷に対する影響は盛んに議論がなされ てきた。最初に赤色光による系 II の光損傷を報





2013年1月2日の8時から18時まで2時間おきに太陽光放射スペクトルを測定した。1日中快晴であった。 文献31より改変。



図4. 南極の生育環境における光不活性化の速度定数k_{ni}の波長依存性

図3に示した12時の太陽光スペクトルに対する光不活性化の速度定数 k_{pi}を、ナンキョクカワノリ(○)、ネ ナシイワタケ(△)、ヤノウエノアカゴケ(□)、乾燥状態のナンキョクカワノリ(●)において算出した。 文献 31 より改変。

告したのは Kok であった³²⁾。しかし、光損傷の 大きな原因と考えられている Two-step モデルに よる OEC の破壊は、短波長光によって引き起こ され、赤色ほどの長波長光では起こらないとされ ている^{9,33)}。一方 Excess energy モデルでは、赤色 光による光損傷はクロロフィルに吸収された光 エネルギーが過剰となり、ROS を発生させるこ とで引き起こされると考えられるが、系 II の損 傷にはほとんど関与しないとされていた^{6,19)}。し かし近年、ROS による直接的な系 II の損傷が高 等植物や珪藻で報告されている³⁴⁻³⁶⁾。緑藻のナン キョクカワノリにおいても赤色光による系 II の 光損傷が起きており、太陽光下では青色光と同程 度に光損傷を引き起こす原因となっていること が示唆された。

6. 光不活性化の速度定数の検証と回復速度定数 の算出

白色光下での光不活性化の速度定数 k_{pi} は、照 射光の各波長における光不活性化の有効放射の 積算値 ($\sum_{320nm} \{ (E_{pi})_{\lambda} \times I_{\lambda} \}$)として求められる。 図 3 の太陽放射スペクトルと各生物の E_{pi} から算 出した自然環境下での k_{pi} の1日の変化を図5に 示した。この k_{pi} の理論値と実測値がどの程度一 致するのかを確かめるため、ソーラーシミュレー ター (HAL-C100、朝日分光)を用いて照射実験 を行った(図6)。ストレプトマイシンで処理し たナンキョクカワノリに対して 260、580、1750 μ mol photons m⁻² s⁻¹の3つの光強度(スペクトル



図5. 南極における、ある1日の系Ⅱ光不活性化の速 度定数の時間変化

直射日光の当たる開けた場所(直線)、生育地周 辺(点線)での系Ⅱの光不活性化の速度定数 k_{pi}を、 ナンキョクカワノリ(○)、ネナシイワタケ(△)、 ヤノウエノアカゴケ(□)、乾燥状態のナンキョ クカワノリ(●)において算出した。文献 31 より 改変。



図6. 疑似太陽光による系IIの量子収率低下の影響

260、580、1750の光強度で吸水状態のナンキョクカワノリに 30 分間の光照射を行った際の F_v/F_m の変化を 10 分おきに測定した。計算値の値は照射光スペクトルから算出した k_{pi} ($\sum_{320nm}^{660nm} \{ (E_{pi})_{\lambda} \times I_{\lambda} \}$)を用いて計算した。文献 31 より改変。

の形は同じ)で照射し、 F_v/F_m の値を測定した。 放射光スペクトルから各波長域の放射エネル ギーを求め、ナンキョクカワノリの E_{pi} を用いて k_{pi} を算出し、 F_v/F_m の値をシミュレーションした のが×印、実際の測定値が●印である(図6)。 実測値と計算値のずれは5%以内に収まったこ とから、光放射スペクトルと E_{pi} により光損傷の 速度定数を見積もることができることが示され た。光不活性化の速度定数が明らかになると、回 復の速度定数を見積もることが可能となる。図6 の〇印はタンパク質合成阻害剤未処理の条件で 光照射したもので、回復系が働くため●印より F_v/F_m の値が高く維持された。回復系が働く状態 での F_v/F_m は以下の式で定義される²⁸。

$$y = \left(k_{rec} + k_{pi} \times e^{\left((k_{pi} + k_{rec}) \times t\right)} / \left(k_{rec} + k_{pi}\right)\right)$$

260、580、1750 μ mol photons m⁻² s⁻¹の光強度での 回復速度はそれぞれ 0.026, 0.062, 0.033 min⁻¹ と算 出された。回復速度はある光強度までは光損傷速 度に比例して増加し、回復の最大速度に達すると 一定になることが知られている^{20,28)}。カワノリの 場合、580 μ mol photons m⁻² s⁻¹では回復速度が 260 μ mol photons m⁻² s⁻¹に比べて上がり F_{ν}/F_{m} が高い 値で維持された。しかし 1750 μ mol photons m⁻² s⁻¹ では 580 μ mol photons m⁻² s⁻¹より回復速度が低 下していることから、光による障害が系 II だけ でなく回復系にまで及んだ可能性がある。損傷の 速度が回復速度を上回ったため 30 分の照射で光 阻害が大きく進行した。1750 µmol photons m⁻² s⁻¹ は南極の夏期間の最も光強度が強い環境に相当 する。こうした光に吸水状態のナンキョクカワノ リが晒された場合、光阻害が進行し、光合成効率 は低下することが予測できる。光一光合成曲線を 測定すると 500 µmol photons m⁻² s⁻¹辺りで電子伝 達速度が飽和に達することから³⁷¹、このくらい の光量が最も光合成効率の良い光強度であると 考えられる。

7. 乾燥状態での光阻害と防御機構

水分可変型の乾燥耐性種は細胞内の水分の 90%を失った状態で長期の乾燥に耐え、再吸水で 数分のうちに活性を回復させる能力を持つ。こう した生物は砂漠や極域などのストレス環境に優 占して生育するが、乾燥時の光阻害に関する研究 はほとんど行われておらず、乾燥状態における光 阻害の波長依存性についても未報告であった。吸 水条件では光損傷の速度定数と回復の速度定数 が光阻害に影響するが、乾燥状態では代謝が止 まっているため回復系が動かず光損傷は蓄積さ れていくのみである。つまり、乾燥時の光阻害は 光損傷と同義である。ナンキョクカワノリの生育 環境での光損傷の蓄積を、乾燥時における光不活



図7. ナンキョクカワノリにおける乾燥時の系IIの光阻害防御機構 吸水時(左図)は反応中心の直接的な破壊と系IIの励起が共に起こるが、乾燥時(右図)は乾燥誘導性のNPQ により反応中心の励起が抑えられることに加えて、OECの光による損傷が抑えられることで系IIの損傷が軽 減する。図中の緑色の分子は集光性色素を示し、濃緑色の分子は乾燥時のクエンチャー分子を示している。

性化の速度定数からシミュレーションすると、 *E*_{pi}が非常に低いにも関わらず、吸水回復後の *F*_v/*F*_mが1日で4割程度低くなる計算結果となっ た³¹⁾。一方で、乾燥時も吸水時と同じ光感受性 を持っていた場合を計算すると、1日で*F*_v/*F*_mは ほぼゼロになると推定された³¹⁾。このことから、 乾燥時の光損傷の抑制はナンキョクカワノリに とって非常に重要であるが、乾燥状態が長期間に 及ぶ環境で直射日光に晒され続けるのは危険で あることが分かる。こうした生理学的特性は、ナ ンキョクカワノリの生態に影響を与えていると 考えられる。

乾燥耐性を有する光合成生物が持つ乾燥時の 光阻害防御機構として、乾燥誘導性の NPQ (d-NPQ)が知られている^{38,39)}。これは、乾燥時 に吸収された光エネルギーがクエンチャーに渡 され熱として散逸されることで、系 II 反応中心 の励起を防ぐ機構である。最近の論文³¹⁾で新た に指摘したのは、短波長光による OEC の光損傷 が乾燥時に大きく抑制されている点で、d-NPQ とは異なる光防御機構の存在を示唆している(図 7)。

ナンキョクカワノリは南極の露岩域に広く分 布するが、本観測点のある東南極地域では開けた 環境に生育することは稀で、日陰の湿った環境に 生育することが多い。一方で、南極の中でも比較 的温暖な南極半島では、開けた場所一面にコロ ニーを形成している。南極半島は東南極地域に比 べて降水量が多く夏期間の日射量も少ないこと から、光不活性化の有効放射が少なく回復にかか るコストも抑えられるため、生産エネルギーの多 くを成長や増殖に費やせるのだろう。また、同じ 観測点に生育しているにも関わらず、ナンキョク カワノリと蘚類、地衣類とは光不活性化の速度定 数が大きく異なっていた。ナンキョクカワノリが 回復系に大きなコストを払っているのに対し、地 衣や蘚類は光損傷そのものを防ぐ機構を備えて おり、そこにコストを費やしていると考えられる。

8. おわりに

光合成生物がある環境へ適応する際の絶対条 件のひとつとして、生育に必要なコストが生産エ ネルギーを超過しないことが挙げられる。南極に おいては、優れたストレス耐性能力を持つことだ けでなく、限られた利用可能なエネルギーをどこ に費やすかといった戦略が重要であり、特に光に 対する生理学的特性の違いがその戦略に多様性 を生んでいる。近年、盛んに議論されている「環 境変動が極域生態系に与える影響」についても、 エネルギー収支をめぐる生存戦略の違いが生育 優位性の変動を引き起こす可能性を考える必要 がある。

Received Mar 2, 2019; Accepted Mar 21, 2019; Published Apr 30, 2019.

参考文献

- 1. Kok, B. (1956) On the inhibition of photosynthesis by intense light. *Biochim. Biophys. Acta* 21, 234–244.
- Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S.I. and Murata, N. (2006) A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1757, 742–749.
- Takahashi, S. and Murata, N. (2008) How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends Plant Sci.* 13, 178–182.
- Aro, E.M., Virgin, I. and Andersson B. (1993) Photoinhibition of Photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochim. Biophys. Acta* 1143, 113–134.
- Long, S.P., Humphries, S. and Falkowski, P.G. (1994) Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45: 633– 662.
- Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y. and Allakhverdiev, S.I. (2007) Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochim. Biophys. Acta* 1767, 414–421.
- Tyystjärvi, E. (2013) Photoinhibition of Photosystem II. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 300, 243–303.
- Hakala, M., Tuominen, I., Keranen, M., Tyystjärvi, T. and Tyystjärvi, E. (2005) Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of Photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1706, 68–80.
- Ohnishi, N., Allakhverdiev, S.I., Takahashi, S., Higashi, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y. and Murata, N. (2005) Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: step 1 occurs at the oxygenevolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. *Biochemistry* 44, 8494–8499.
- Tyystjärvi, T., Tuominen, I., Herranen, M., Aro, E.M. and Tyystjarvi, E. (2002) Action spectrum of psbA gene transcription is similar to that of photoinhibition

in Synechocystis sp. PCC 6803. FEBS Lett. 516, 167–171.

- Hakala, M., Rantamaki, S., Puputti, E.M., Tyystjärvi, T. and Tyystjärvi, E. (2006) Photoinhibition of manganese enzymes: insights into the mechanism of photosystem II photoinhibition. *J. Exp. Bot.* 57, 1809–1816.
- Sarvikas, P., Hakala, M., Patsikka, E., Tyystjärvi, T. and Tyystjärvi, E. (2006) Action spectrum of photoinhibition in leaves of wild type and *npq1-2* and *npq4-1* mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 47, 391–400.
- Jones, L.W. and Kok, B. (1966) Photoinhibition of chloroplast reactions. I. Kinetics and action spectra. *Plant Physiol.* 41, 1037–1043.
- Santabarbara, S., Neverov, K.V., Garlaschi, F.M., Zucchelli, G. and Jennings, R.C. (2001) Involvement of uncoupled antenna chlorophylls in photoinhibition in thylakoids. *FEBS Lett.* 491, 109–113
- Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 601–639.
- Bondarava, N., Gross, C.M., Mubarakshina, M., Golecki, J.R., Johnson, G.N. and Krieger-Liszkay, A. (2010) Putative function of cytochrome b₅₅₉ as a plastoquinol oxidase. *Physiol. Plant.* 138, 463–473.
- Zulfugarov, I.S., Tovuu, A., Eu, Y.J., Dogsom, B., Poudyal, R.S., Nath, K., Hall, M., Banerjee, M., Yoon, U.C., Moon, Y.H., An, G., Jansson, S. and Lee, C.H. (2014) Production of superoxide from Photosystem II in a rice (*Oryza sativa* L.) mutant lacking PsbS. *BMC Plant Biol.* 14, 242.
- Nishiyama, Y., Yamamoto, H., Allakhverdiev, S.I., Inaba, M., Yokota, A. and Murata, N. (2001) Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery. *EMBO J.* 20, 5587– 5594.
- Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S.I., Yamamoto, H., Hayashi, H. and Murata, N. (2004) Singlet oxygen inhibits the repair of photosystem II by suppressing the translation elongation of the D1 protein in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry* 43, 11321–1130.
- Allakhverdiev, S.I. and Murata, N. (2004) Environmental stress inhibits the synthesis de novo of proteins involved in the photodamage–repair cycle of Photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta* 1657, 23–32.
- 21. Takahashi, M. and Asada, K. (1988) Superoxide production in aprotic interior of chloroplast thylakoids. *Arch. Biochem. and Biophys.* 267, 714– 722
- Jung, J. and Kim H.S. (1990) The chromophores as endogenous sensitizers involved in the photogeneration of singlet oxygen in spinach thylakoids. *Photochem. Photobiol.* 52, 1003–1009.
- Terashima, I., Funayama, S. and Sonoike, K. (1994) The site of photoinhibition in leaves of *Cucumis* sativus L. at low temperatures is photosystem I, not photosystem II. *Planta* 193, 300–306.
- Sonoike, K. (2011) Photoinhibition of photosystem I. *Physiol. Plant.* 142, 56–64.
- Sonoike, K., Terashima, I., Iwaki, M. and Itoh, S. (1995) Destruction of photosystem I iron–sulfur centers in leaves of *Cucumis sativus* L. by weak illumination at chilling temperatures. *FEBS Lett.* 362, 235–238.
- Kudoh, H. and Sonoike, K. (2002) Irreversible damage to photosystem I by chilling in the light: cause of the degradation of chlorophyll after returning to normal growth temperature. *Planta* 215, 541–548
- Zhang, Z., Jia, Y., Gao, H., Zhang, L., Li, H. and Meng, Q. (2011) Characterization of PSI recovery after chilling-induced photoinhibition in cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves. *Planta* 234, 883–889
- Wünschmann, G. and Brand, J.J. (1992) Rapid turnover of a component required for photosynthesis explains temperature dependence and kinetics of photoinhibition in a cyanobacterium, *Synechococcus* 6301. *Planta* 186, 426–433
- Tyystjärvi, E., Mäenpää, P. and Aro, E.M. (1994) Mathematical modelling of photoinhibition and Photosystem II repair cycle. I. Photoinhibition and D1 protein degradation in vitro and in the absence of chloroplast protein synthesis in vivo. *Photosynth. Res.* 41, 439–449.
- Tyystjärvi, E. and Aro, E.M. (1996) The rate constant of photoinhibition, measured in lincomycin-treated leaves, is directly proportional to light intensity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 2213–2218.

- 31. Kosugi, M., Maruo, F., Inoue, T., Kurosawa, N., Kawamata, A., Koike, H., Kamei, Y., Kudoh, S. and Imura, S. (2018) A comparative study of wavelength-dependent photoinactivation in photosystem II of drought-tolerant photosynthetic organisms in Antarctica and the potential risks of photoinhibition in the habitat. *Ann. Bot.* 122,1263– 1278
- Kok, B., Gassner, E.B. and Rurainski, H.J. (1966) Photoinhibition of chloroplast reactions. *Photochem. Photobiol.* 4, 215–227.
- Durrant, J.R., Giorgi, L.B., Barber, J., Klug, D.R. and Porter, G. (1990) Characterisation of triplet states in isolated Photosystem II reaction centres: oxygen quenching as a mechanism for photodamage. *Biochim. Biophys. Acta* 1017, 167–175.
- Oguchi, R., Terashima, I. and Chow, W.S. (2009) The involvement of dual mechanisms of photoinactivation of photosystem II in *Capsicum annuum* L. plants. *Plant Cell Physiol.* 50, 1815–1825.
- Zavafer, A., Cheah, M.H., Hillier, W., Chow, W.S. and Takahashi, S. (2015) Photodamage to the oxygen evolving complex of photosystem II by visible light. *Sci. Rep.* 5, 16363.
- Havurinne, V. and Tyystjärvi, E. (2017) Action spectrum of photoinhibition in the diatom *Phaeodactylum tricornutum. Plant Cell Physiol.* 58, 2217–2225.
- Kosugi, M., Katashima. Y., Aikawa, S. Yanabe, Y., Kudoh, S., Kashino Y., Koike, H., and Satoh, K. (2010) Comparative study on the photosynthetic properties of *Prasiola* (chlorophyceae) and *Nostoc* (cyanophyceae) from Antarctic and non-Antarctic sites. *J. Phycol.* 46, 466–476.
- Heber, U., Lange, O.L. and Shuvalov, V.A. (2006) Conservation and dissipation of light energy as complementary processes: homoiohydric and poikilohydric autotrophs. *J. Exp. Bot.* 57, 1211–1223.
- 39. Komura, M., Yamagishi, A., Shibata, Y., Iwasaki, I. and Itoh, S. (2010) Mechanism of strong quenching of photosystem II chlorophyll fluorescence under drought stress in a lichen, *Physciella melanchla*, studied by subpicosecond fluorescence spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 1797, 331–338

Wavelength dependency of photoinactivation in photosystem II of photosynthetic organisms in Antarctica and the potential risks of photoinhibition in the habitat

Makiko Kosugi^{1,2}

¹Faculty of Science and Engineering, Chuo University,

²National Institute of Natural Sciences, Astrobiology Center

解説特集

光合成と窒素と作物生産

Editor: 牧野 周、宮尾光恵 (東北大学大学院農学研究科)

- 序文
 牧野 周(東北大)
 40
- 解説 作物の光合成速度の改良を目的とする自然変異アリルの特定と利用安達 俊輔、寺崎 千鶴(東京農工大) 41
- 解説 窒素利用の改変を目指す葉緑体オートファジー研究の進展 泉 正範(東北大) 54

解説特集

序文⁺

牧野 周¹、宮尾光恵 (東北大学大学院農学研究科)

緑の革命と呼ばれたイネとコムギの短稈育種は、人類の食糧の半分を占める穀類作物の飛躍的な 増収をもたらした。短稈育種の成功は、多量の窒素施肥に依存したソース能強化とシンク拡大の両者 によってもたされたものである。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 穂数や籾数をも増加させた。ハーバーボッシュ法の実用化普及により安価な窒素肥料が大量生産され るようになり、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。ポイントは、 いかに少ない施肥で高い光合成能を維持あるいは実現し、穀粒数を確保し、稔実させるかである。前 者(ソース)に関しては、種間の多様性と変異に留まらず、様々な自然生態系に適応した種の多様性 を理解し、有用な遺伝子資源を光合成の生理学から見出し、それを活用していくかであろう。単に個 葉レベルでの光合成機能の向上に留まらず、個体としてあるいは群落としての最大光合成をどのよう に発揮させるかも重要なポイントとなる。後者(シンク)に関しては、多くの有用形質がすでに多数 明らかにされている。それらの有用遺伝子をいかに有効に積み重ね、シンクの拡大を計るかであろう。 そして、拡大したシンクを支えるソース能の向上が実現できた時、飛躍的な増収が期待される。

このような背景に下、昨年5月、東北大学青葉山新キャンパスで第9回日本光合成学会のシンポジウム「光合成と窒素と作物生産」を開催した。本シンポジウムでは作物生産の窒素利用の最適化と さらなる増産の方向性について3人の研究者に話題提供頂いた。

まずは、東京農工大グローバルイノベーション研究院の安達俊輔氏から「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」というタイトルで、イネの光合成速度のDNAマーカー育種 の可能性について議論頂いた。とくに、光合成関連のQTLの利用と展望について紹介頂いた。続けて、 東北大学学際フロンティア研究院の泉正範氏より、「体内窒素利用と光合成活性のバランスは改変し 得るか?」というタイトルで、オートファジーによる葉緑体分解と光合成活性の衰退のメカニズムに ついて話題提供頂いた。登熟期の葉の光合成機能を如何に長い期間維持させるかが、収量確保のため にはきわめて重要な課題である。そして、最後に東北大学生命科学研究科の彦坂幸毅氏に、「植物葉 群における葉間窒素分配の最適性」というタイトルで、葉群内での光合成を最大限発揮させる窒素の 最適化理論と実証データを紹介頂いた。本解説特集では、それらの中から安達氏と泉氏に解説記事を 寄稿頂いた。

日本の高いレベルの光合成研究が単に光合成機能のメカニズムの解明に留まるのではなく、人類の 食糧増産につながる実用化研究へと応用発展することを期待したい。

^{*}解説特集「光合成と窒素と作物生産」

¹連絡先 E-mail: amanemakino@tohoku.ac.jp

作物の光合成速度の改良を目的とする自然変異アリルの特定と利用[‡]

東京農工大学大学院グローバルイノベーション研究院 安達俊輔*、寺崎千鶴

作物の生産性を高めるためには葉の光合成速度の改良が必要とされる。その方法として光合成システムの制御に関わる遺伝子の改変だけでなく、作物間の自然変異をもたらす遺伝要因の特定と利用が挙 げられる。遺伝解析によって見出された有用アリルは DNA マーカー選抜育種に用いられるとともに、 遺伝子操作の対象としても期待される。近年の分子生物学の発達に伴いゲノム情報の取得が容易に なったことに加え、蛍光解析、スペクトル解析などの表現型評価手法も大きく進歩し、光合成自然変 異をもたらす遺伝要因の解明が進みつつある。本稿では主に圃場における光合成評価手法について解 説し、さらに近年の遺伝解析の進展ならびにその課題を紹介する。

1. はじめに

作物の収量は未だ十分とは言えない。現在 75億人の世界の人口は2050年には95億人を超 えることから、主食用作物に対する需要は今後 いっそう高まると予想される¹⁾。また食習慣の変 化に伴って肉や乳製品の消費の増加が見込まれ るため、家畜の餌となる飼料用作物の需要もさら に高まる²⁾。代替エネルギーや工業繊維としての 作物の利用も主食用作物の需給の逼迫要因の一 つとなる³⁾。懸念される食糧不足を回避するため には、世界の作物の生産量を2050年までに現在 のおよそ倍に高める必要があると考えられてい る⁴⁾。一方耕地面積の拡大はほぼ望めないことか ら、求められる作物生産量増加のためには単位土 地面積あたり収量をさらに高めることが必要で ある⁵⁾。

対応策の一つとして挙げられるのは作物の収 量ポテンシャル (作物が最適に管理されたとき の最大収量)の向上である。作物の収量 (Y) は、 太陽エネルギーの変換効率に着目した Monthieth の式により^{6.7)}、 $Y = 0.473 \bullet S_t \bullet \varepsilon_i \bullet \varepsilon_c \bullet \varepsilon_p$

と表される。ここで St (GJ m⁻²) は栽培期間に照射 される単位面積あたり日射量である。全日射量の うち光合成有効放射 (波長 300~700 nm) の割合 が 47.3%と見積もられている⁸⁾。 *ε*_iは作物個体群 の受光率、Ecは吸収した光のバイオマス変換効率、 εn は収穫指数 (植物体全体のバイオマス当たり 収穫部位割合)である。Eiには個体群の葉面積の 拡大や葉による光の反射、老化に伴う葉面積の減 少、個体群の構造などが関わる。 ε.には吸光係数 に加えて葉面積あたり光合成速度が影響する。そ して ε_{p} にはシンクサイズやソースからシンクへ の転流能力が影響する。Stは栽培を行う場所や環 境に大きく依存するため、作物の生育期間の延長 を除けば人為的にその値を高めることは難しい。 したがって作物収量の増加のためには ε_i 、 ε_c 、 ε_p のいずれかの効率を高める必要がある。

ただし全ての効率を高めるのは難しいかもし れない。イネやコムギなどの主食作物の収量は過 去 60 年の間にすでに 2 倍以上に高められた $^{9,10)}$ 。 この主な理由は、半矮性遺伝子 *sd1* や *Rht1* など の利用によって倒伏を防ぎ、さらにシンクサイズ を拡大して ϵ_p を高めたことにあるとされる $^{9,10)}$ 。 半矮性品種の倒伏しにくい性質は、生育後半まで

^{*}解説特集「光合成と窒素と作物生産」

^{*}連絡先 E-mail: sadachi@cc.tuat.ac.jp

個々の葉の受光を高く維持 (ϵ_i の維持) すること にも貢献している⁷)。また現代の作物栽培では ϵ_i が最大になるように栽植密度を調整するので、品 種改良によって ϵ_i を一層高めてもバイオマス向 上への貢献は小さい⁷)。一方、現代の作物の ϵ_c は理論的には最大値に達してはおらず、改良の余 地が大きいとされる^{7,11})。特に ϵ_c の重要な決定要 因である葉面積あたり光合成速度は、これまでの イネやコムギの近代育種の過程においてほとん ど改良されていないことが示されている^{12,13})。 2050年までに収量を倍増するためには ϵ_c を少な くとも 50%高める必要があると考えられており、 光合成速度の改良は今後の重要な育種戦略の一 つとなりうる⁷)。

作物の葉の光合成速度を遺伝的に高める方法 は大きく2つに分類される。一つは遺伝子組換え による光合成関連タンパク質量の上昇・下方制御 や酵素特性の改変である。これについてはこれま で多くの試みがなされてきている¹⁴⁻¹⁶⁾。たとえば SBPase 含量増加によるカルビンサイクルの代謝 促進¹⁷⁾、複数遺伝子の同時導入による非光化学 的消光の光応答促進¹⁸⁾、光呼吸バイパス経路の 導入による光呼吸抑制¹⁹⁾などは作物生産向上に 直結するものとして有望視されている。もう一つ は植物間にみられる自然変異を利用した方法で ある。葉の光合成速度には幅広い種間差、品種間 差があり、適切に測定すれば異なる環境において も再現性が得られる、すなわち遺伝形質として取 り扱うことができる^{13,20,21)}。そして自然変異を用 いる利点として以下の3点が挙げられる。第1 に光合成速度の自然変異の生理的要因や遺伝的 要因を解明することで、未知の光合成制御因子を 特定することが可能となる。特に植物の光合成シ ステムそのものは植物間でかなり保存されてい る²²⁾。また栽培イネの品種間には Rubisco のキネ ティクスにあまり違いがない²³⁾。一方で品種間 に大きな光合成速度の変異があることから考え ると、これを決定する遺伝要因は光合成システム 自体の質的な変化ではなく、それを量的に制御す る因子である可能性が高い。第2に見出された自 然変異アリルは、人工交配に基づく DNA マー カー選抜育種を通じてただちに育種プログラム へ導入することが可能である。これは特に遺伝子 組み換えによる作物育種が困難な場面で威力を 発揮する。第3に見出された自然変異アリルは、 遺伝子組換えやゲノム編集などのターゲット遺 伝子としても利用することが可能である。このよ うに自然変異アリルの特定と利用は光合成シス テムの遺伝子改変とは異なる特徴を持ち、育種へ の応用が容易であることから期待される方法で ある。

光合成速度の自然変異を育種に利用する可能 性は Austin et al. (1980)²⁴⁾や Flood et al. (2011)²²⁾ などの総説で幾度も指摘されてきたが、技術的課 題によって研究は停滞してきた。しかしその状況 は過去10年ほどの間に大きく変わりつつある。 その理由には分子生物学の著しい発展によって 作物のゲノムデータを大量に取得可能になった こと、そして光合成に関わる表現型の評価手法が 進歩したことが挙げられる。実際に光合成に関わ る遺伝解析が広く行われるようになり、その遺伝 要因に関する知見が蓄積し始めている。本記事で は圃場環境における光合成評価の方法について 筆者らの工夫を交えて紹介し、さらに遺伝解析の 実際と得られた知見についてイネを中心に紹介 する。またこれらの研究による作物生産向上の見 通しとその課題について述べる。

2. 圃場における光合成評価

遺伝解析を実施するには一度に数千から場合 によっては数万の作物個体を取り扱う必要があ る。そのため多くの場合、栽培面積に余裕のある 圃場にて実験が行われる。しかし実験室内の安定 した環境とは対照的に、圃場は光、気温、湿度、 風速などが絶えず変化し、水分や養分の供給にム ラがある、病害虫や雑草の影響を受けるなど、非 常に不安定な環境である。光合成速度は他の農業 形質に比べてもとりわけ環境の影響を受けやす い形質であることに加え、生育に伴って変化する ことや、測定する葉位、葉内の場所によっても差 異がある。そのため光合成形質に対して精度の高 い遺伝解析を実施するためには、障害の多い実験 環境のなかでその影響を極力排除し、品種や系統 間の差異を浮かび上がらせるための工夫が重要 となる。

Flood et al. (2011) は遺伝解析を目的とする光 合成評価の条件として以下の 3 つを挙げた²²⁾。 すなわち 1) 再現性:環境による影響を排除し、 光合成速度の遺伝変異を精度良く検出できるこ と、2) 迅速性:多数の個体の形質評価を行うた めに1個体あたりの測定時間を短縮できること、 3) 非破壊性:同じ個体を繰り返し測定して再現 性の確認や時間変化を捉えるため、測定の際に植 物体を破壊しないこと。これらを満たす光合成評 価方法が現在までに複数提案されている。

ここで筆者らが普段行っている光合成測定の 手法について紹介したい(図1)。筆者らは主に圃 場で生育したイネを対象に葉のガス交換速度の 測定を行っている。実験圃場として周囲をコンク リートに囲われた面積約1aの水田を用い、土の 高低や肥料ムラを無くすよう念入りに整備する。 ここに各系統数個体ずつのイネを列植えし、根が 活着したのち圃場にビールケースを埋め込んで その上にアルミ製の足場板を渡す。後の測定実施 がスムーズになるよう、足場板上には系統の名称 を書き込んだラベルシールを貼り付けておく。足 場板付近は光や養分環境が個体群内とは異なる 上、人間による接触刺激の影響があるため、足場 板から数個体分個体群側に生育した植物個体を

測定に供する。植物側の条件にも気を使う。測定 対象とする葉は主茎の最上位展開完了葉に限定 している。晴天日には昼以降光合成速度が低下す るため、一日の間で最も高い値を示す 9 時から 12 時の間に集中的に測定を行う。当然雨などの 荒天日は測定ができず、日射量が十分ある天候の 良い日に限って測定を行うことになる。測定には LI-6400 携帯用光合成測定装置 (LI-COR 社) を 使用し、同化箱内環境は大気 CO₂、光飽和の条件 としている。この条件は葉の光合成能力を表すの に適しており、他の自然変異解析の研究において もしばしば用いられる。予め日光のよく当たって いる葉ならば同化箱に挟み込んで数分後に光合 成速度が安定するので、定常に達したときの値を 記録する。このような測定によって品種や系統の 光合成速度の差異を高精度に検出することが可 能となる。

それでもなお圃場におけるガス交換速度の測 定には課題がある。それは測定には多くの人員と 労力を要し、一日に測定できる枚数にも限りがあ る点である。したがって1回のシーズンに実施で きる実験規模に限界が生じる。この課題を克服す るためには葉のガス交換速度の代替指標を含む よりスループットの高い光合成評価法を用いる ことが役立つ。たとえば特定の波長域の吸収率か ら計算される SPAD 値はクロロフィル含量と密



図1. 水田に栽培したイネのガス交換測定の様子

左) LI-6400 (LI-COR 社) を用いた測定。右) MIC-100 (マサインタナショナル社) を用いた測定。どちらの場合 も 2 名1組となり、1名が同化箱を支え、もう1名が測定装置を操作する。予め対象とする植物体には印を 付けておく。1時間あたり約 20 枚 (左)、約 100 枚 (右) のサンプルを測定できる。 接な相関があり、1 サンプル数秒で測定が可能で ある。SPAD と同様の測定メカニズムで葉の窒素 含量を測定する装置も市販されている。パルス変 調クロロフィル蛍光装置であれば、太陽光が照射 されている野外環境下においても PSII 量子収率 を精度良く評価できる。ハンディ型の mini-PAM (Walz社) やFluorPen 110 series (PSI社) によって 多数のサンプル測定が可能なことに加え、 PAM-2500 や monitoring-PAM (いずれも Walz 社) は圃場に固定できるので、葉の蛍光強度の日変化 を捉えることも可能である²⁵⁾。葉面温度は気孔 伝導度を反映すると考えられており、その測定値 を用いて気孔伝導度を予測するモデルが複数作 成されている²⁶⁾。最近ではハイパースペクトル を利用した波長解析によって、炭酸固定速度 (V_{cmax}) や電子伝達速度 (J_{max}) を推定できるモデ ルが開発されている²⁷⁾。将来的には測定装置を 無人航空機 (UAV) に搭載して、リモートセンシ ングによる評価が可能になるであろう。2017 年 には安価で操作性のよいクロロフィル蛍光測定 装置 MultispeQ (PhotosynQ 社) が発売され話題と なった。また最近ではガス交換速度の迅速測定を 可能にした装置 MIC-100 (マサインタナショナル 社)が市販されている。このような代替手法に よって非常に多くのサンプルの測定が可能にな る一方、データの信頼性を担保するためには、得 られた値をLI-6400などの高精度なガス交換測定 装置による測定値と比較することも必要である。

圃場での測定の不安定性を取り除くために、実 験室内に植物体を持ち込んで測定する方法もあ る。最も一般的なものはポットや水耕栽培の植物 を用いる方法である。これらの利点は植物体の移 動と土壌養水分の制御が容易である点である。一 方根域が制限される、植物体が孤立個体になるな ど、圃場環境とは異なる点があることには注意が 必要である。圃場に生育する植物体を切り取って 実験室内で測定する方法もしばしば使われる。例 えば Driever et al. (2014)は圃場に育てた多数の コムギ品種に対し、地上部を夜明け前に切り取っ て暗室に静置し、その後光合成測定を行った¹³⁾。 この方法だと多数の植物に対し実験室環境にお いて光合成測定を行うことが可能であるが、根の 切除による水分動態の変化やシグナル物質の影響があることを考慮する必要がある。

植物体の運搬から表現型調査までをすべて自 動化したフェノタイピングプラットフォームの 開発が盛んに行われている²⁸⁾。可視画像に加え クロロフィル蛍光測定システムを設置すること によって、多数の個体の成長特性や光合成特性を 長期間に渡って計測できる。これまで主にシロイ ヌナズナのような小型の植物が対象であったが ²⁹⁾、最近では1.8 m までのサイズの植物体であれ ばクロロフィル蛍光測定が可能である計測装置 も開発されている³⁰⁾。ただしこれらのプラット フォームはコストがかかることや屋外での運用 は難しいなどのデメリットがある。

以上のように最近ではハイスループットな光 合成評価を可能にする手法が数多く開発されて いる。ただしこれらの手法にはそれぞれ利点と欠 点があるため、対象とする植物、測定個体数、測 定時期、測定環境、研究目的、予算などに応じて 評価手法を適切に選択することが遺伝解析成功 の鍵を握る。また予備試験によって各手法におけ る測定誤差を把握しておくことで、実験に必要と なる測定個体数を見積もることが可能になる。適 切な実験系の確立は、最終目的とする遺伝子単離 を確実に行うためにも非常に重要である。

3. 光合成に関わる遺伝解析

光合成は数多くの過程が関わる複雑なシステ ムである。植物の光合成では、1)太陽光エネル ギーが光化学系IIおよびIの光合成色素によって 吸収される、2)吸収した光エネルギーによって チラコイド膜電子伝達が駆動され、電子供与体で あるフェレドキシン、NADPH、ATPが生成され る、3)これらの物質によってカルビン回路が駆 動され、Rubiscoのカルボキシレーション反応と それに続く代謝系で最終的に糖リン酸が生成さ れる。光合成速度である CO₂同化速度はすなわ ち Rubiscoの活性や、電子伝達によって駆動され る RuBP 再生速度によって律速されることにな る³¹⁾。光呼吸速度や過剰な光エネルギーを除去 する光化学消光 (NPQ)もまた CO₂同化速度に影 響する。さらに気孔コンダクタンス、葉肉コンダ クタンス、クチクラコンダクタンスといった CO₂ 拡散に関わる過程も重要な律速要因となる。シロ イヌナズナにおいては全遺伝子のうち10~15%に 当たるおよそ 3000 の核コード遺伝子が光合成に 関与しているとされる^{32,33)}。これは葉緑体へ移行 するタンパク質数のみを示しており、そのタンパ ク質の制御に関与する遺伝子数はさらに多いと 予想される。光合成速度に関わる遺伝解析の実施 は、それら膨大な生化学的ネットワークの中から 光合成特性の差を決定する遺伝要素を見つけ出 す、いわば宝探しのような試みといえる。

量的形質遺伝子座 (QTL) 解析は、品種間の形 質値の差をもたらすゲノム上の遺伝領域を特定 する手法として広く用いられる。QTL 解析を実 施する流れとして、まず形質値の異なる2品種を 選び、交配と自殖を繰り返すことによって表現型 が分離する F₂、BC₁F₁, RIL、BILs 集団などの実験 系統群を育成する。そしてそれらの個体ごとある いは系統ごとの表現型データを取得する。さらに Indel、SNP などの品種間のゲノム変異を解析し て連鎖地図を作成し、遺伝子型と表現型との連関 を解析する³⁴⁾。Indel マーカーを用いて遺伝子型 解析を行うには個々のマーカーに対して PCR と 電気泳動を実施するため手間がかかるが、SNP タイピングアレイの利用や、次世代シーケンシン グに基づいた RAD-seq や genotype by sequence な どの方法を利用することで、ゲノム網羅的な遺伝 子型情報をより迅速に取得できる³⁵⁻³⁷⁾。

前述のように光合成速度には多数の遺伝子が 関与するため、個々の遺伝子変異が光合成速度に 与える影響はあまり大きくないことが予想され る。また光合成速度は非常に環境に影響されやす い形質であるため、注意深く表現型調査を行った としても遺伝子作用が隠れてしまうことがしば しばある。そのような不安定な形質の場合には、 高い QTL 検出精度を持つ実験系統群の利用が望 まれる。染色体断片置換系統 (CSSLs) は、一方 の親品種を遺伝背景として各系統がドナー親に 由来する染色体断片を 1 つのみ有する実験系統 群である³⁴⁾。系統間の開花時期の変異が小さく 抑えられることに加え、QTL を同定するには遺 伝背景親との形質値を比較すればよく、反復実験 が可能であることから遺伝率の小さい形質に関わる QTL 解析に威力を発揮する。一方で実験系統群の育成に時間がかかることや、遺伝子間相互作用を検出できないなどの欠点がある。

上記の実験材料を用いてイネのガス交換速度 に関わる OTL が複数報告されている。例えば Zhao et al. (2008) は水ストレス条件下において イネの CO2同化速度を高める QTL を特定し、同 じ領域に気孔コンダクタンス、蒸散速度、葉内 CO₂濃度に関わる QTL を検出した³⁸⁾。Gu et al. (2012) はイネ Shennong265/Shennong94 に由来す る Introgression line (=CSSLs と同様の系統群) を 用いて、湛水条件と水ストレス条件におけるガス 交換速度に関わる QTL を探索し、両水分環境に おいて共通して高い効果を示す光合成 QTL を見 出した³⁹⁾。この領域には CO₂ 同化速度に加え、 気孔コンダクタンス、蒸散速度、葉内 CO2濃度、 光合成量子収率に関わる QTL がクラスターに なって存在していた。 筆者らはイネ品種コシヒカ リ/ハバタキの CSSLs を用いて、圃場で育てたイ ネの止葉のガス交換速度に関わる QTL 解析を行 い、第4および第8染色体上の2箇所にQTLを 見出した⁴⁰⁾。これらQTLはいずれも葉身窒素含 量、気孔コンダクタンスの上昇効果を有していた。 さらに筆者らはより網羅的な光合成 QTL の検出 を目的とし、コシヒカリ/タカナリに由来する複 数の実験系統群 (正逆 BILs ならびに正逆 CSSLs) を用いて、合計4年間に渡って QTL 解析を行っ た (図 2)。そして、コシヒカリ/ハバタキで見出 された第4染色体 QTL が本実験においても最も 効果が大きいこと、他にも複数年次に渡って安定 して検出される QTL があることを示した。一方 用いた実験系統群ごとに検出される QTL は異 なっており、光合成 QTL は遺伝背景に存在する アリルの影響を強く受けることが示唆された。

QTLの原因遺伝子も複数特定されている。マッ プベースクローニングによって原因遺伝子を単 離するには、sub-CSSLs とよばれる実験系統群の 育成と表現型調査によって QTL 存在領域を絞り 込む。その結果上述の第4染色体の領域に存在す る遺伝子は Green for Photosynthesis (GPS) であり、 以前 mutant 解析で特定されていた Narrow Leaf 1



図2. 穂揃期イネ止葉のCO2同化速度に関わるQTL

染色体断片置換系統群 (CSSLs) および戻し交雑自殖系統群 (BILs) それぞれ各2年、合計4年間に渡って測定を実施。複数回検出されたQTLには名称を付けた。測定にはLI-6400を用いた。

と同じ遺伝子であることが明らかとなった⁴¹⁾。 GPS は葉のサイズを縮小させる一方で葉の厚さ と葉肉細胞数を増し、葉面積あたりの CO2 同化 速度を上昇させていた。なお GPS はオーキシン の極性輸送に関与する PIN タンパク量に影響す ると考えられている^{42,43)}。一方コシヒカリ/ハバ タキで見出された第8染色体上の遺伝子は Carbon Assimilation Rate 8 (CAR8) として同定さ れ、これは開花期遺伝子として知られる DTH8/Ghd8/LHD1 と同じ遺伝子であった⁴⁴⁾。 CAR8 は葉身窒素含量、気孔コンダクタンスや根 の通水コンダクティビティに関係していた。以上 のようなマップベースクローニング実験から示 唆されることは、QTL の原因遺伝子が必ずしも 光合成システムに直接作用するような因子では なく、一見すると関係の薄そうな遺伝子が多面的 な作用を通じて光合成速度に影響しているとい うことである。

ガス交換速度の直接測定のみならず、代替手法 によって見出された QTL もこれまで多数報告さ れている。Takai et al. (2009) は葉内 CO₂ 濃度の指 標となる安定同位体分別 (\triangle ¹³C) の QTL を複数

同定し、さらに一部の QTL が気孔コンダクタン スを高めることを報告した⁴⁵⁾。Fukuda et al. (2018) は個体群上部の温度をサーモカメラを用 いて評価し、気孔コンダクタンスと CO,同化速 度を高める QTL を特定した⁴⁶⁾。Kasajima et al. (2011) は多数のイネ品種の NPQ を蛍光イメージ ング解析によって比較し、品種間差に関わる原因 遺伝子 OsPsbS1 を同定した⁴⁷⁾。そして多くの indica 品種は japonica 品種に比較して OsPsbS1 遺 伝子の上流 0.4 kb 付近に大きな欠損領域を有し、 このことが indica 品種群の低い NPQ 活性に関 わっていたことを考察した。以上のように作物の 光合成速度の遺伝要因が少しずつ明らかにされ、 情報が蓄積してきている。参考までにイネに限定 して過去に報告された光合成関連 QTL のリスト を表1に示した。他の植物種に関わる報告は総説 等をご参照いただきたい^{22,33,48,49)}。

ゲノムワイドアソシエーション解析 (GWAS) は光合成速度に関わる遺伝子単離をより加速さ せると期待される。GWAS は多数の品種パネル のゲノムシークエンスデータから数十万から数 百万の SNP 多型を検出し、表現型との連関を調

Traits	Methods	Growth conditions	References
Gas exchange rate	QTL	Field	21,38-41,44,60,61)
Stomatal conductance	QTL	Field	62)
Nitrogen content	QTL	Field	63,64)
Rubisco content	QTL	Field	63,65,66)
$\triangle^{13}C$	QTL	Field	45,66-69)
Canopy temperature	QTL	Field	46)
Stomatal density	QTL	Field	70)
Chlorophyll content (leaf extracts)	QTL	Field	60,66)
Chlorophyll content (SPAD)	QTL	pot	71)
Chlorophyll content (SPAD)	QTL	Field	61,72,73)
Chlorophyll fluorescence	QTL	Field	39)
NPQ (Closed FluorCam)	QTL	Greenhouse	47)
Chlorophyll content	GWAS	Field	74)
(SPAD and leaf extracts)			
Chlorophyll content (SPAD)	GWAS	Climate chamber	75)
NPQ (PAM derived)	GWAS	Field	50)

表1. イネの葉の光合成関連形質の遺伝解析報告の一覧

査する手法である。QTL 解析は GWAS に比べる と QTL の検出感度が高いものの、2 品種の交配 に由来する実験系統群の育成が必要であること に加え、検出される QTL 信頼区間が広いため遺 伝子単離にはさらなる領域の絞り込み (ファイ ンマッピング)が要求される。一方 GWAS は多 様な品種パネルの表現型データを直接連関解析 に用いるため、実験系統群の育成が不要である。 また GWAS は連鎖不平衡ブロックと言われるア リル頻度に偏りのある領域を連関解析に用いる ことで、候補となるゲノム領域を数百 kbp 以下に 絞り込むことができる。その絞り込み精度は通常 のQTL解析 (通常数Mb) に比較して著しく高い。 Wang et al. (2017) は 529 のイネ品種パネルを用 いて NPQ に関わる GWAS を実施し、OsPsbS1 の 同定に成功している⁵⁰⁾。現在のところ光合成関 連形質に関わる GWAS の報告は少ないが、今後 飛躍的に増えていくものと思われる。

4. 作物の多収化に向けた展望と課題

葉の光合成速度の向上は、吸収した光エネル ギーのバイオマスへの変換効率(ε_c)の上昇を通 じて作物生産性を向上させると期待される。開放 系大気 CO₂増加上昇(FACE)実験では、光合成 速度上昇とともにバイオマス量および収量が増 加することがイネ、ダイズ、コムギ、オオムギな ど複数の作物種において認められている⁵¹⁾。ま た大規模な品種パネルを用いた網羅解析によっ て、葉の光合成速度とバイオマス量や子実収量と の正の相関関係がしばしば認められている^{52,53)}。 さらに Yin and Struik (2017) は作物モデル GECROS を用いて、複数の光合成過程の改変が バイオマス生産を上昇させること⁵⁴⁾、Gu et al. (2014) は同モデルをイネ品種間差に適用して、 光合成速度を計 25%上昇させる複数アリルの活 用によりバイオマス生産を 22-29%高められるこ とを示した⁵⁵⁾。これらの研究結果は、葉の光合 成速度改良によるバイオマス生産向上の可能性 を裏付けるものである。

見出された光合成関連 QTL の個々の効果は小 さいことがしばしば認められるが、複数の QTL の集積によって大きな上昇効果を得ることが期 待される。筆者らは DNA マーカー選抜によって コシヒカリにハバタキの光合成 QTL (GPS 領域 および CAR8 領域)を集積した⁵⁶⁾。その結果集積 系統の光合成速度は単一 QTL 系統に比較して大 きく、光合成速度の高い親であるハバタキとほぼ 等しい値となった (図 3)。さらにハバタキ同様高 い光合成速度を有するタカナリの光合成速度の さらなる向上を期して、コシヒカリに由来する 1 ~5 の QTL セットを順次積み上げた集積系統を 育成した。この場合にも QTL 集積数が増えるに



図3.CO2同化速度に関わるQTLの集積効果

(a) インド型品種ハバタキがコシヒカリに対して光合成速度を高める QTL 領域。(b) QTL の集積効果。DNA マーカー選抜により、コシヒカリにハバタキ型アリルを複数集積させた。NIL は準同質遺伝子系統の略。CO₂ 同化速度は穂揃期の止葉を対象として測定した。N=4. Adachi et al. J. Exp. Bot. 65, 2049-2056 (2014) より転載。

つれ光合成速度は上昇し、最大でタカナリより約 20%高い光合成速度を示した。以上の結果は光合 成速度の QTL は相加的に作用し、集積によって いっそうの向上が可能であることを示している。 一方、光合成 QTL の集積には課題も認められ た。それは光合成速度と葉のサイズとの間に強い トレードオフが存在したことである。すなわちタ カナリにコシヒカリアリルを集積した系統にお いて、QTL 集積数が増えるほど葉のサイズの縮 小がみられた (図 4a)。そして QTL 集積系統は成 熟期バイオマス生産が増加しなかった (図 4b)。 またコシヒカリにハバタキ型 GPS、CAR8 を挿入 した集積系統においても、コシヒカリに比較して 葉面積の減少と地上部バイオマス生産の減少が 認められた (未発表)。このことは、葉面積の減 少による ε_i の減少が、光合成速度の上昇による ε_c の上昇効果を打ち消したと解釈される。光合成速 度の高い葉ほどサイズが縮小し厚みが増すこと は以前より様々な植物種の比較から指摘されて いる⁵⁷⁾。一方上述した GECROS モデルではこの 点を考慮していない 54,55)。筆者らの結果は、葉面 積あたり光合成速度に基づく QTL 解析が葉面積 の縮小をもたらす因子を検出する可能性が高い こと、光合成速度とバイオマス生産の両方を高め るためには、形質間のトレードオフを打破する育 種システムの検討が必要であることを示唆して いる。

5. 今後の展望

遺伝子型調査ならびに表現型評価手法の進歩 により作物光合成速度に関わる遺伝解析が実施 可能となり、多くのQTLが特定されてきた。現 在でも様々な表現型評価手法が新たに開発され ており、これらを用いることで光合成QTLの特 定はさらに進展すると期待される。一方原因遺伝 子の特定のためにはなお多大な時間と労力を要 することも事実である。この課題には、GWAS によるマッピングやゲノム編集技術の利用、さら にトランスクリプトーム、メタボロームなどのオ ミクス解析の利用が役立つと期待される。たとえ ば de Oliveira Silva et al. (2018)はトマトの大規模 なガス交換測定を実施し、さらにQTL 解析とト



図4. QTL集積系統におけるCO₂同化速度と棄幅 (a) ならびに地上部バイオマス (b) との関係 インド型品種タカナリにコシヒカリ型アリルを複数集積させた系統群を用いた。CO₂同化速度と葉幅には負の 関係が見られる。また CO₂同化速度と地上部バイオマスの関係にも負の傾向が認められる。N=3.r は pearson の相関係数を示す。

ランスクリプトームデータを融合して複数の原 因候補遺伝子を抽出した⁵⁸⁾。トランスクリプ トーム解析のコストは年々低下しており⁵⁹⁾、今 後同様の手法による遺伝子特定が加速していく だろう。一方形質間のトレードオフを打破し、光 合成 QTL を利用して作物生産性の向上につなげ るためには、実態に即した作物モデルの作成が威 力を発揮する。モデル作成に求められる様々な品 種パネル、実験系統群を用いた光合成速度、生産 に関わる大規模な表現型データの取得が今後 益々重要となるであろう。

Received Mar 1, 2019; Accepted Mar 16, 2019; Published Apr 30, 2019.

参考文献

- US Census Bureau (2005) Total midyear population for the world: 1950–2050, US Census Bureau International Database, Washington, DC (http://www.census.gov/ipc/www/worldpop. html).
- Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S.M. and Toulmin, C. (2010) Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science* 327, 812–818.

- Cole, M.B., Augustin, M.A., Robertson, M.J. and Manners, J.M. (2018) The science of food security. *npj Sci. Food* 2, 14.
- Ray, D.K., Mueller, N.D., West, P.C. and Foley, J.A. (2013) Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. *PloS ONE* 8, e66428.
- Long, S.P., Marshall-Colon, A. and Zhu, X.G. (2015) Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential. *Cell* 161, 56–66.
- Monteith, J.L. and Moss, C. (1977) Climate and the efficiency of crop production in Britain. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 281, 277–294.
- Zhu, X.G., Long, S.P. and Ort, D.R. (2010) Improving photosynthetic efficiency for greater yield. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61, 235–261.
- Papaioannou, G., Papanikolaou, N. and Retalis, D. (1993) Relationships of photosynthetically active radiation and shortwave irradiance. *Theor. Appl. Climato.* 48, 23–27.
- 9. Khush, G.S. (1999) Green revolution: preparing for the 21st century. *Genome* 42, 646–655.
- Fischer, R.A. (2011) Wheat physiology: a review of recent developments. *Crop Pasture Sci.* 62, 95–114.
- Long, S.P., Zhu, X.G., Naidu, S.L. and Ort, D.R. (2006) Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant Cell Environ.* 29, 315–330.
- 12. Hubbart, S., Peng, S., Horton, P., Chen, Y. and Murchie, E.H. (2007) Trends in leaf photosynthesis

in historical rice varieties developed in the Philippines since 1966. *J. Exp. Bot.* 58, 3429–3438.

- Driever, S.M., Lawson, T., Andralojc, P.J., Raines, C.A. and Parry, M.A. (2014) Natural variation in photosynthetic capacity, growth, and yield in 64 field-grown wheat genotypes. *J. Exp. Bot.* 65, 4959– 4973.
- Furbank, R.T., Quick, W.P. and Sirault, X.R.R. (2015) Improving photosynthesis and yield potential in cereal crops by targeted genetic manipulation: Prospects, progress and challenges. *Field Crops Res.* 182, 19–29.
- Yamori, W., Louis, J.I., Adachi, S. and Busch F.A. (2016) Strategies for optimizing photosynthesis with biotechnology to improve crop yield. *Handbook of Photosynthesis, Third Edition* 741–759.
- Sage, R.F., Adachi, S. and Hirasawa, T. (2017) Improving photosynthesis in rice: from small steps to giant leaps, in *Achieving sustainable cultivation of rice Volume 1* (T. Sasaki, ed) pp 99–130, Burleigh Dodds Science Publishing, Canbridge.
- Raines, C.A. (2011) Increasing photosynthetic carbon assimilation in C₃ plants to improve crop yield: current and future strategies. *Plant Physiol.* 155, 36– 42.
- Kromdijk, J., Głowacka, K., Leonelli, L., Gabilly, S.T., Iwai, M., Niyogi, K.K. and Long, S.P. (2016) Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection. *Science* 354, 857–861.
- South, P.F., Cavanagh, A.P., Liu, H.W. and Ort, D.R. (2019) Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field. *Science* 363, eaat9077.
- Kanemura, T., Homma, K., Ohsumi, A., Shiraiwa, T. and Horie, T. (2007) Evaluation of genotypic variation in leaf photosynthetic rate and its associated factors by using rice diversity research set of germplasm. *Photosynth. Res.* 94, 23–30.
- 21. Adachi, S., Nito, N., Kondo, M., Yamamoto, T., Arai-Sanoh, Y., Ando, T., Ookawa, T., Yano, M. and Hirasawa, T. (2011) Identification of chromosomal regions controlling the leaf photosynthetic rate in rice by using a progeny from *japonica* and high-yielding *indica* varieties. *Plant Prod. Sci.* 14, 118–127.
- Flood, P.J., Harbinson, J. and Aarts, M.G. (2011) Natural genetic variation in plant photosynthesis. *Trends Plant Sci.* 16, 327–335.

- Makino, A., Mae, T. and Ohira, K. (1987) Variations in the contents and kinetic properties of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylases among rice species. *Plant Cell Physiol.* 28, 799–804.
- Austin, R., Bingham, J., Blackwell, R., Evans, L., Ford, M., Morgan, C. and Taylor, M. (1980) Genetic improvements in winter wheat yields since 1900 and associated physiological changes. *J. Agric. Sci.* 94, 675–689.
- Ishida, S., Uebayashi, N., Tazoe, Y., Ikeuchi, M., Homma, K., Sato, F. and Endo, T. (2014) Diurnal and developmental changes in energy allocation of absorbed light at PSII in field-grown rice. *Plant Cell Physiol.* 55, 171–182.
- Leinonen, I., Grant, O.M., Tagliavia, C.P., Chaves, M.M. and Jones, H.G. (2006) Estimating stomatal conductance with thermal imagery. *Plant Cell Environ.* 29, 1508–1518.
- Silva-Perez, V., Molero, G., Serbin, S.P., Condon, A.G., Reynolds, M.P., Furbank, R.T. and Evans, J.R. (2017) Hyperspectral reflectance as a tool to measure biochemical and physiological traits in wheat. *J. Exp. Bot.* 69, 483–496.
- Tardieu, F., Cabrera-Bosquet, L., Pridmore, T. and Bennett, M. (2017) Plant phenomics, from sensors to knowledge. *Curr. Biol.* 27, R770–R783.
- Flood, P.J., Kruijer, W., Schnabel, S.K., van der Schoor, R., Jalink, H., Snel, J.F., Harbinson, J. and Aarts, M.G. (2016) Phenomics for photosynthesis, growth and reflectance in *Arabidopsis thaliana* reveals circadian and long-term fluctuations in heritability. *Plant Methods* 12, 14.
- Tschiersch, H., Junker, A., Meyer, R.C. and Altmann, T. (2017) Establishment of integrated protocols for automated high throughput kinetic chlorophyll fluorescence analyses. *Plant Methods* 13, 54.
- Farquhar, G.D., Caemmerer, S.V. and Berry, J.A. (1980) A biochemical-model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149, 78– 90.
- 32. Leister, D. (2003) Chloroplast research in the genomic age. *Trends Genet.* 19, 47-56.
- van Bezouw, R.F., Keurentjes, J.J., Harbinson, J. and Aarts, M.G. (2019) Converging phenomics and genomics to study natural variation in plant photosynthesis efficiency. *Plant J.* 97, 112–133.
- 34. Yamamoto, T., Uga, Y. and Yano, M. (2014) Genomics-assisted allele mining and its integration into rice breeding. in *Genomics of Plant Genetic*

Resources (Tuberosa R., Graner A. and Frison E., Eds) pp 251–265, Springer, Dordrecht.

- 35. Wang, J., Lin, M., Crenshaw, A., Hutchinson, A., Hicks, B., Yeager, M., Berndt, S., Huang, W.Y., Hayes, R.B. and Chanock, S.J. (2009) High-throughput single nucleotide polymorphism genotyping using nanofluidic Dynamic Arrays. *BMC genomics* 10, 561.
- 36. Baird, N.A., Etter, P.D., Atwood, T.S., Currey, M.C., Shiver, A.L., Lewis, Z.A., Selker, E.U., Cresko, W.A. and Johnson, E.A. (2008) Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS ONE* 3, e3376.
- Poland, J.A., Brown, P.J., Sorrells, M.E. and Jannink, J.-L. (2012) Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PLoS ONE* 7, e32253.
- Zhao, X.Q., Xu, J.L., Zhao, M., Lafitte, R., Zhu, L.H., Fu, B.Y., Gao, Y.M. and Li, Z.K. (2008) QTLs affecting morph-physiological traits related to drought tolerance detected in overlapping introgression lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Sci.* 174, 618–625.
- Gu, J., Yin, X., Struik, P.C., Stomph, T.J. and Wang, H. (2012) Using chromosome introgression lines to map quantitative trait loci for photosynthesis parameters in rice (*Oryza sativa* L.) leaves under drought and well-watered field conditions. *J. Exp. Bot.* 63, 455–469.
- Adachi, S., Tsuru, Y., Nito, N., Murata, K., Yamamoto, T., Ebitani, T., Ookawa, T. and Hirasawa, T. (2011) Identification and characterization of genomic regions on chromosomes 4 and 8 that control the rate of photosynthesis in rice leaves. *J. Exp. Bot.* 62, 1927–1938.
- Takai, T., Adachi, S., Taguchi-Shiobara, F., Sanoh-Arai, Y., Iwasawa, N., Yoshinaga, S., Hirose, S., Taniguchi, Y., Yamanouchi, U., Wu, J., Matsumoto, T., Sugimoto, K., Kondo, K., Ikka, T., Ando, T., Kono, I., Ito, S., Shomura, A., Ookawa, T., Hirasawa, T., Yano, M., Kondo, M. and Yamamoto, T. (2013) A natural variant of *NAL1*, selected in high-yield rice breeding programs, pleiotropically increases photosynthesis rate. *Sci. Rep.* 3, 2149.
- Qi, J., Qian, Q., Bu, Q., Li, S., Chen, Q., Sun, J., Liang, W., Zhou, Y., Chu, C., Li, X., Ren, F., Palme, K., Zhao, B., Chen, J., Chen, M. and Li, C. (2008) Mutation of the rice *Narrow leaf 1* gene, which

encodes a novel protein, affects vein patterning and polar auxin transport. *Plant Physiol.* 147, 1947–1959.

- Jiang, D., Fang, J., Lou, L., Zhao, J., Yuan, S., Yin, L., Sun, W., Peng, L., Guo, B. and Li, X. (2015) Characterization of a null allelic mutant of the rice *NAL1* gene reveals its role in regulating cell division. *PLoS ONE* 10, e0118169.
- 44. Adachi, S., Yoshikawa, K., Yamanouchi, U., Tanabata, T., Sun, J., Ookawa, T., Yamamoto, T., Sage, R.F., Hirasawa, T. and Yonemaru, J. (2017) Fine mapping of *carbon assimilation rate 8*, a quantitative trait locus for flag leaf nitrogen content, stomatal conductance and photosynthesis in rice. *Front. Plant Sci.* 8, 60.
- 45. Takai, T., Ohsumi, A., San-oh, Y., Laza, M.R., Kondo, M., Yamamoto, T. and Yano, M. (2009) Detection of a quantitative trait locus controlling carbon isotope discrimination and its contribution to stomatal conductance in japonica rice. *Theor. Appl. Genet.* 118, 1401–1410.
- Fukuda, A., Kondo, K., Ikka, T., Takai, T., Tanabata, T. and Yamamoto, T. (2018) A novel QTL associated with rice canopy temperature difference affects stomatal conductance and leaf photosynthesis. *Breed. Sci.* 68, 305–315.
- Kasajima, I., Ebana, K., Yamamoto, T., Takahara, K., Yano, M., Kawai-Yamada, M. and Uchimiya, H. (2011) Molecular distinction in genetic regulation of nonphotochemical quenching in rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 13835–13840.
- Lawson, T., Kramer, D.M. and Raines, C.A. (2012) Improving yield by exploiting mechanisms underlying natural variation of photosynthesis. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23, 215–220.
- van Rooijen, R., Aarts, M.G. and Harbinson, J. (2015) Natural genetic variation for acclimation of photosynthetic light use efficiency to growth irradiance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 167, 1412–1429.
- Wang, Q., Zhao, H., Jiang, J., Xu, J., Xie, W., Fu, X., Liu, C., He, Y. and Wang, G. (2017) Genetic architecture of natural variation in rice nonphotochemical quenching capacity revealed by genome-wide association study. *Front. Plant Sci.* 8, 1773.
- Sun, J., Yang, L., Wang, Y. and Ort, D.R. (2009) FACE-ing the global change: Opportunities for improvement in photosynthetic radiation use efficiency and crop yield. *Plant Sci.* 177, 511–522.

- Qu, M., Zheng, G., Hamdani, S., Essemine, J., Song, Q., Wang, H., Chu, C., Sirault, X. and Zhu, X.G. (2017) Leaf photosynthetic parameters related to biomass accumulation in a global rice diversity survey. *Plant Physiol.* 175, 248–258.
- Carmo-Silva, E., Andralojc, P.J., Scales, J.C., Driever, S.M., Mead, A., Lawson, T., Raines, C.A. and Parry, M.A.J. (2017) Phenotyping of field-grown wheat in the UK highlights contribution of light response of photosynthesis and flag leaf longevity to grain yield. *J. Exp. Bot.* 68, 3473–3486.
- Yin, X. and Struik, P.C. (2017) Can increased leaf photosynthesis be converted into higher crop mass production? A simulation study for rice using the crop model GECROS. *J. Exp. Bot.* 68, 2345–2360.
- 55. Gu, J., Yin, X., Stomph, T.J. and Struik, P.C. (2014) Can exploiting natural genetic variation in leaf photosynthesis contribute to increasing rice productivity? A simulation analysis. *Plant Cell Environ.* 37, 22–34.
- Adachi, S., Baptista, L.Z., Sueyoshi, T., Murata, K., Yamamoto, T., Ebitani, T., Ookawa, T. and Hirasawa, T. (2014) Introgression of two chromosome regions for leaf photosynthesis from an indica rice into the genetic background of a *japonica* rice. *J. Exp. Bot.* 65, 2049–2056.
- Gifford, R.M. and Evans, L. (1981) Photosynthesis, carbon partitioning, and yield. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 32, 485–509.
- de Oliveira Silva, F.M., Lichtenstein, G., Alseekh, S., Rosado-Souza, L., Conte, M., Suguiyama, V.F., Lira, B.S., Fanourakis, D., Usadel, B., Bhering, L.L., DaMatta, F.M., Sulpice, R., Araujo, W.L., Rossi, M., de Setta, N., Fernie, A.R., Carrari, F. and Nunes-Nesi, A. (2018) The genetic architecture of photosynthesis and plant growth-related traits in tomato. *Plant Cell Environ.* 41, 327–341.
- 59. 永野 惇. (2018) 屋外トランスクリプトームの定 量生物学. *定量生物学 生命現象を定量的に理 解するために* (小林徹 編) pp 210-224, 化学同人, 京都.
- Teng, S., Qian, Q., Zeng, D., Kunihiro, Y., Fujimoto, K., Huang, D. and Zhu, L. (2004) QTL analysis of leaf photosynthetic rate and related physiological traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 135, 1–7.
- Hu, S.P., Zhou, Y., Zhang, L., Zhu, X.D., Li, L., Luo, L.J., Liu, G.L. and Zhou, Q.M. (2009) Correlation and quantitative trait loci analyses of total chlorophyll content and photosynthetic rate of rice

(*Oryza sativa*) under water stress and well-watered conditions. *J. Integr. Plant Biol.* 51, 879–888.

- Price, A.H., Young, E.M. and Tomos, A.D. (1997) Quantitative trait loci associated with stomatal conductance, leaf rolling and heading date mapped in upland rice (*Oryza sativa*). *New Phytol.* 137, 83-91.
- Ishimaru, K., Kobayashi, N., Ono, K., Yano, M. and Ohsugi, R. (2001) Are contents of Rubisco, soluble protein and nitrogen in flag leaves of rice controlled by the same genetics? *J. Exp. Bot.* 52, 1827–1833.
- Hirotsu, N., Ujiie, K., Perera, I., Iri, A., Kashiwagi, T. and Ishimaru, K. (2017) Partial loss-of-function of *NAL1* alters canopy photosynthesis by changing the contribution of upper and lower canopy leaves in rice. *Sci. Rep.* 7, 15958.
- 65. Kanbe, T., Sasaki, H., Aoki, N., Yamagishi, T. and Ohsugi, R. (2009) The QTL analysis of RuBisCO in flag leaves and non-structural carbohydrates in leaf sheaths of rice using chromosome segment substitution lines and backcross progeny F₂ populations. *Plant Prod. Sci.* 12, 224–232.
- Ishimaru, K., Yano, M., Aoki, N., Ono, K., Hirose, T., Lin, S.Y., Monna, L., Sasaki, T. and Ohsugi, R. (2001) Toward the mapping of physiological and agronomic characters on a rice function map: QTL analysis and comparison between QTLs and expressed sequence tags. *Theor. Appl. Genet.* 102, 793–800.
- 67. Takai, T., Fukuta, Y., Sugimoto, A., Shiraiwa, T. and Horie, T. (2006) Mapping of QTLs controlling carbon isotope discrimination in the photosynthetic system using recombinant inbred lines derived from a cross between two different rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Plant Prod. Sci.* 9, 271–280.
- 68. Laza, M.R., Kondo, M., Ideta, O., Barlaan, E. and Imbe, T. (2006) Identification of quantitative trait loci for δ^{13} C and productivity in irrigated lowland rice. *Crop Sci.* 46, 763–773.
- Kanbe, T., Sasaki, H., Aoki, N., Yamagishi, T., Ebitani, T., Yano, M. and Ohsugi, R. (2008) Identification of QTLs for improvement of plant type in rice (*Oryza sativa* L.) using Koshihikari/Kasalath chromosome segment substitution lines and backcross progeny F₂ population. *Plant Prod. Sci.* 11, 447–456.
- Ishimaru, K., Shirota, K., Higa, M. and Kawamitsu, Y. (2001) Identification of quantitative trait loci for adaxial and abaxial stomatal frequencies in *Oryza sativa*. *Plant Physiol. Biochem.* 39, 173–177.

- Abdelkhalik, A.F., Shishido, R., Nomura, K. and Ikehashi, H. (2005) QTL-based analysis of leaf senescence in an indica/japonica hybrid in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 110, 1226– 1235.
- Yamamoto, T., Suzuki, T., Suzuki, K., Adachi, S., Sun, J., Yano, M., Ookawa, T. and Hirasawa, T. (2017) Characterization of a genomic region that maintains chlorophyll and nitrogen contents during ripening in a high-yielding stay-green rice cultivar. *Field Crops Res.* 206, 54–64.
- Ye, W.J., Hu, S.K., Wu, L.W., Ge, C.W., Cui, Y.T., Chen, P., Xu, J., Dong, G.J., Guo, L.B. and Qian, Q. (2017) Fine mapping a major QTL *qFCC7_L* for

chlorophyll content in rice (*Oryza sativa* L.) cv. PA64s. *Plant Growth Regul.* 81, 81–90.

- 74. Wang, Q., Xie, W., Xing, H., Yan, J., Meng, X., Li, X., Fu, X., Xu, J., Lian, X., Yu, S., Xing, Y. and Wang, G. (2015) Genetic architecture of natural variation in rice chlorophyll content revealed by a genome-wide association study. *Mol. Plant* 8, 946-957.
- Lin, P.-C., Tsai, Y.-C., Hsu, S.-K., Ou, J.H., Liao, C.T. and Tung, C.W. (2018) Identification of natural variants affecting chlorophyll content dynamics during rice seedling development. *Plant Breed.* 137, 355–363.

Natural genetic resources for improving leaf photosynthetic capacity in crops

Shunsuke Adachi, Chizuru Terasaki

Institute of Global Innovation Research, Tokyo University of Agriculture and Technology

解説

窒素利用の改変を目指す葉緑体オートファジー研究の進展[‡]

¹東北大学 学際科学フロンティア研究所 ²東北大学 大学院生命科学研究科 ³JST さきがけ 泉正範^{1,2,3}*

第9回日本光合成学会のシンポジウム 1「光合成と窒素と作物生産」においては、「体内窒素利用と 光合成活性のバランスは改変し得るか?」と題して、葉の光合成活性の時間推移と植物個体の窒素転 流、の両者に強く作用する機構である葉緑体タンパク質の分解機構についての研究成果を示すと共に、 その改変から作物の生産性を向上させるための方策について講演した。後者については大部分が未発 表のデータによる議論だったため、本記事においては、出芽酵母を中心に解明された細胞内分解シス テム・オートファジーの基礎的メカニズムと、植物オートファジーによる葉緑体分解機構の理解の進 展を中心に解説したい。

1. はじめに

葉緑体は、植物や藻類といった光独立栄養生物に特 徴的な細胞内小器官(オルガネラ)である。その代表 的な役割は、光エネルギーを利用して、二酸化炭素と 水から炭水化物と酸素を生成する光合成反応であり、 植物の成長効率は光合成反応の効率に直接規定され ていると言える。

植物の最大光合成活性と密接にかかわる現象 の一つが、植物が最も多量に必要とする無機栄養 素である窒素(N)の吸収と体内利用である。例 えば、現大気 CO₂、光飽和条件においては CO₂ 固定酵素 Rubisco が最大光合成速度の律速段階と なっていると考えられているが、Rubisco 合成量 は葉の窒素含量の増加に応じて上昇する¹⁾。ゆえ に葉における正味の光合成活性と窒素含量は高 い正の相関関係を示す²⁾。

植物は、新たな葉を繰り返し展開して成長する 拡大再生産の過程で、古くなった葉を老化させ、 その構成成分を分解し、派生する窒素成分を新器 官形成のために再利用する³⁾。このような体内窒 素利用戦略は、光が当たりにくくなった下位の古 い葉の窒素成分を回収して、上位の新葉に転流・ 再利用し、その光合成活性を発揮させるために重 要な役割を果たしている。イネにおいては、新た に展開する葉を構成する窒素の約半分が転流窒 素でまかなわれることが知られている⁴⁾。葉の窒 素の大部分は、光合成に必要なタンパク質を作る ために葉緑体に分配されている。例えば、C3 植 物の葉では葉の全窒素の約 7-8 割もが葉緑体に 存在する^{5,6)}。ゆえに植物の体内窒素転流の初発 反応として葉緑体タンパク質分解は最も重要な 機構であると言える。

以上のように、植物の光合成活性と体内窒素利 用における高い重要性から、複数の研究グループ が葉緑体分解機構に着目した研究を推進してき た。私は、幸運にもその発展期に研究者としての キャリアを開始することができ、真核生物に進化 的に保存される細胞内分解系である「オートファ ジー」が葉緑体分解に関わることを明らかにする 研究に多く関わることができた。本解説記事では、 オートファジーによる葉緑体分解経路の概要を 紹介するとともに、その人為制御から植物の体内

^{*}解説特集「光合成と窒素と作物生産」

^{*}連絡先 E-mail: masanori.izumi@riken.jp

現所属:理化学研究所 環境資源科学研究センター

窒素利用の改変を目指す今後の研究の発展性に ついて議論したい。

2. オートファジーの概要

オートファジーという現象は、極めてシンプル には「細胞質成分の一部を隔離し、酸性オルガネ ラ(液胞、あるいはリソソーム)に運び消化する 過程」と説明することができる。2016年の大隅 良典教授のノーベル医学・生理学賞受賞により、 オートファジーという現象は広く知られるもの となり、現在も様々な生物種でその詳細な分子機 構の解明が盛んに進められている。その主な機能 は、飢餓に応じてオルガネラを含む細胞質成分を 非選択的に分解し、派生する栄養成分(アミノ酸 など)の再利用を促進し、飢餓への適応をサポー トすることである。また、近年では、特異的な分 解ターゲットを取り除く「選択的オートファジー」 の存在が広く知られるようになった。選択的オー トファジーは、タンパク質の凝集体や、あるオル ガネラの中でも機能を失ったオルガネラだけを 除去するなど高度な基質認識機構を有しており、 不要な細胞内成分を除去することで細胞内品質 管理に寄与していると考えられる⁷⁾。非選択的な オートファジーがバルクオートファジーなどと 呼ばれるのに対し、選択的オートファジーは分解 対象に応じた名前で呼ばれることが多い。例えば、 ミトコンドリアを選択的に分解する経路はマイ トファジー、ペルオキシソームを分解する経路は ペキソファジー、などと言われている。

また膜動態の違いに応じた分類として、オー トファジー経路は、マクロオートファジー、ミク ロオートファジー、シャペロン介在型オートファ ジーに分けられる。最も主要なオートファジー経 路はマクロオートファジーであり⁸⁾、一般的に 「オートファジー」と言った場合にはマクロオー トファジーのことを指す場合が多い。出芽酵母に おけるその経路の概要は図 IAに示した通りであ る。飢餓等のシグナルに応答して、新生の隔離膜 が細胞質に形成され始め、それが伸長、最終的に は両端が融合することで直径 1 µm 程度の二重膜 小胞オートファゴソームが形成される。オート ファゴソーム内に隔離された細胞質成分は、液胞 に輸送され、オートファゴソーム外膜が液胞膜に 融合することで、内膜に囲まれた一重膜小胞 (オートファジックボディ)が液胞内に放出、消 化される。植物では、多くの細胞で巨大な中心液 胞が大部分を占めているが、動物細胞の場合、通 常リソソームはオートファゴソームより小さい。 よって複数のリソソームがオートファゴソーム に融合することで内膜構造が消化されると考え られている⁹。

ミクロオートファジーでは、液胞膜、あるいは リソソーム膜が直接分解対象の隔離に関わる¹⁰⁾。 その詳細は後述する。シャペロン介在型オート ファジーは、シャペロンの関与により特定のタン パク質がリソソーム膜を透過し分解される経路 である¹¹⁾。この経路は主に哺乳類細胞で研究さ れている機構であるため、本解説記事ではその詳 細は割愛する。

オートファジー研究発展の契機の一つとして、 大隅教授らのグループが 1992 年、1993 年に報告 した成果を挙げることができる^{12,13)}。本成果では、 ある種の液胞内プロテアーゼを欠損させた出芽 酵母(Saccharomyces cerevisiae)を栄養飢餓にさ らすと、液胞内に多数のオートファジー小胞、す なわちオートファジックボディが蓄積すること を発見した¹²⁾。この観察系を利用し、液胞内に オートファジックボディが蓄積しない変異株を 順遺伝学スクリーニングで単離し、その変異株が 栄養飢餓時の生存率が低下する表現型を示すこ とを明らかにした¹⁰⁾。この飢餓感受性の表現型 を指標とし遺伝学スクリーニングをさらに拡充 することで、計15種の独立したオートファジー 変異株の単離に成功、それら原因遺伝子の同定か ら多くのオートファジー関連遺伝子群 (Autophagy-related genes; ATGs) が同定された。

酵母では、オートファジー関連遺伝子は報告され た順に *ATG1、ATG2* と名前が付けられており、 現在 *ATG41* までが同定されている¹⁴⁾。

3. コア ATG 遺伝子の機能

出芽酵母 ATGs のうち、オートファゴソームの 形成過程に必須な 15 遺伝子(ATG1-10、ATG12-14、ATG16、ATG18)は、コア ATGs とも呼ばれ

Α	マクロオートファジー			
	①誘導 (2 隔離膜の伸長	③輸送体の形成 ④液胞への放出	
	● PAS		+ 80 + 80 分解 オートファゴソーム 液胞	
В	Atg1 kinase complex			
	S. cerevisiae	A. thaliana	特徴(yeast)	
	Atg1	AtATG1a–1c, 1t	プロテインキナーゼ	
	Atg13	AtATG13a, 13b	リン酸化(飢餓時に脱リン酸化)	
	Atg9 complex			
	S. cerevisiae	A. thaliana	特徴(yeast)	
	Atg2	AtATG2	ATG18と複合体	
	Atg9	AtATG9	腹タンパク質	
	Atg18	AtAIG18a–18h	PISP結合タンパク員	
	Class III PI3K complex			
	S. cerevisiae	A. thaliana	符徴 (yeast)	
	Atg6	AtATG6	PI3キナーセ構成因子	
	Atg14	Not identified	PI3キノーで構成因士	
	Atg8-lipidation system			
	S. cerevisiae	A. thaliana	行倒(yeast)	
	Atg3	AtATG3	E2体野系 Atao C主逆のプロセミング	
	Atg4	AtA1G4a, 4b	Algo C木姉のクロビシンク F1 样酵素	
	Atg7 Atg8	AtATG8a–8i	Ubiquitin様タンパク質、PEと結合	
	Ata12-coni	ugation system		
	S cerevisiae A thaliana特徴(特徴(yeast)	
	Atg5	AtATG5	Atg12と共有結合	
	Atg7	AtATG7	E1様酵素	
	Atg10	AtATG10	E2様酵素	
	Atg12	AtATG12a, 12b	Ubiquitin様タンパク質	
	Atg16	AtAIG16L	AIG12-Atg5と小七クイマーを形成	

図1. 出芽酵母におけるマクロオートファジーのモデル図と、コアATG遺伝子群

- (A) マクロオートファジーの簡易なモデル図。飢餓等のシグナルに応じて、オートファゴソームの前駆構造(酵母では Pre-autophagosomal structure; PAS と呼ばれる)が形成され、そこから隔離膜が伸長し、細胞質の一部、あるいは特異的な分解ターゲットを隔離する二重膜小胞オートファゴソームが形成される。その外膜が液胞膜と融合することで、内膜構造オートファジックボディが液胞内部に放出され、分解される。
- (B) 出芽酵母で同定されたコア ATG 遺伝子群の分類と特徴、およびシロイヌナズナで同定されているオーソ ログ遺伝子群。シロイヌナズナを含む複数の植物種において、いくつかのコア ATGs (ATG1、ATG4、ATG8、 ATG12、ATG13 など) が遺伝子ファミリーを形成することが知られている。

ている¹⁵⁾。その簡単な機能分けを図 1Bに示した。 まず ATG1、ATG13 は、オートファジー誘導の 上流因子である ATG1 キナーゼ複合体の構成因 子である。富栄養時には、ATG13 は Target of rapamycin (TOR) キナーゼによるリン酸化を受 けているが、栄養飢餓時にその脱リン酸化が起こ ることで ATG1 のキナーゼ活性が上昇し、オート ファゴソーム形成が活性化する。ATG2、ATG9、 ATG18 の機能は酵母においても未だはっきりし ない点だが、オートファゴソームを構成する脂質 成分の小胞体からの供給に関わることが近年示 されている¹⁶⁾。ATG6、ATG14は、オートファゴ ソーム形成に必要なリン脂質の一種、フォスファ チジルイノシトール 3 リン酸(PI3)を産生する III 型 PI3 キナーゼの構成因子である。

その他のコア ATGs (ATG3-5, ATG7-8, ATG10, ATG12, ATG16) は、二つのユビキチン様タンパ ク質 ATG8、ATG12 の活性化反応系に関わる^{17,18}。 ATG8 はオートファゴソーム膜を構成するタン パク質であり、まずプロテアーゼ ATG4 によるプ ロセシングを受け、露出した C 末端のグリシン 残基に ATG7 が結合することで活性化し、その後 ATG3 への受け渡しを経てリン脂質フォスファ チジルエタノールアミン (PE) との結合体 (ATG8-PE)となりオートファゴソームに局在す る。もう一つのユビキチン様タンパク質 ATG12 は、ATG7 による活性化を受けた後、ATG10 と の結合を経由して、ATG5-ATG12 共有結合体を 形成する。ATG5-ATG12 は ATG16 と大きなタン パク質複合体を形成し、ATG8-PE 結合系の活性 化に寄与する。

興味深いことにこれらの反応系は、オートファ ジーとは別の主要な細胞内分解系であるユビキ チン・プロテアソーム系におけるユビキチン活性 化反応に似ている。ユビキチンは、活性化酵素 E1、結合酵素 E2 を経て、転移酵素 E3 によって ターゲットタンパク質に共有結合する¹⁹⁾。ユビ キチン化(多くの場合ポリユビキチン化)された タンパク質は、細胞質に存在するプロテアソーム 複合体により分解される。ATG8、ATG12 結合反 応系においては、ATG7 が E1 様、ATG3 及び ATG10 が E2 様 の 働 き を す る 。 ATG5-ATG12-ATG16 複合体は、あたかも E3 の 様に ATG8-PE 結合系を活性化し、オートファゴ ソーム膜の形成を促進する。ATG8 はオートファ ゴソーム膜の構成因子となるため、その一部はそ



図2. イネ葉において可視化されたオートファジー構造

- (A) マクロオートファジーの過程では、ATG8-PE 結合体はオートファゴソーム膜の構成因子となるため、そのまま液胞内部へ運ばれ分解される。そのため ATG8 はマクロオートファジーのマーカーとして広く受け入れられている。
- (B) イネの葉で可視化されたオートファジックボディ。イネは少なくとも4種のATG8遺伝子(ATG8a-d)を 持ち、その一つATG8dに RFPを融合させたコンストラクトを35Sプロモーター制御下で発現するイネの 幼植物、第一葉の観察画像。緑が RFP-ATG8d シグナル、マゼンタが葉緑体クロロフィル蛍光、DIC は明 視野画像を示す。通常 RFP-ATG8d のシグナルの大部分は細胞質および核に検出されるが(control)、液 胞分解活性の阻害剤 concanamycin A (ConA)存在下、暗所で葉をインキュベートすると、多数のオートファ ジックボディが液胞内部に蓄積する。実験に用いた植物は、蒸留水を含ませた濾紙上で給水させ、24時間 明期、光強度 40 μmol m⁻² s⁻¹の条件で栽培した。スケールバー=10 μm。

のまま液胞内部まで運ばれ内容物とともに分解 される(図2A)。ゆえに、蛍光タンパク質とATG8 の融合タンパク質は様々な生物種におけるマク ロオートファジーのマーカーとして広く使用さ れている。

これら酵母コア ATGs のオーソログ遺伝子は植 物や動物においても広く保存されていることが 知られている²⁰⁾。モデル植物シロイヌナズナに おいても、コア ATGs オーソログの大部分が同定 され(図 1B)、さらにそれら遺伝子の欠損変異 株を用いた解析から、ATG8、ATG12 結合反応系 を中心に、出芽酵母と同様のオートファゴソーム 形成機構が機能していることが示されている ^{21,22)}。図 2B は実際にイネの葉の細胞において可 視化されたオートファジックボディを示してい る。緑が赤色蛍光タンパク質 RFP と ATG8 の一 遺伝子(ATG8d)の融合タンパク質のシグナルで、 マゼンタが葉緑体のクロロフィル蛍光である。カ リフラワーモザイクウイルス 35S プロモーター により過剰発現した RFP-ATG8d のシグナルは、 通常その大部分が細胞質や核に局在しているが

(図 2B 上)、液胞内分解活性の阻害剤である
 concanamycin A を添加しインキュベートすると、
 直径 1 µm 程度の小胞オートファジックボディが
 液胞内に多数蓄積する様子を見ることができる
 (図 2B 下)。

マクロオートファジーの膜動態と区別される オートファジー経路としてミクロオートファ ジーがある(図3)。この経路の特徴は、オート ファゴソームによる分解基質の隔離を介さず、液 胞膜そのものが陥入、あるいは伸長し分解基質の 隔離に関わることである¹⁰⁾。最もよく研究が進 められてきたミクロオートファジー経路は、メタ ノール資化性酵母(Komagataella phaffii)におい てペルオキシソーム分解を担うミクロペキソ ファジーである。その名の通りメタノール資化性 酵母はメタノールを単一エネルギー源として成 長することができ、その代謝に必要なペルオキシ ソームを多量に細胞内に発達させる。生育炭素源 をメタノールからグルコースなどに変換すると、 要求性が低下したペルオキシソームを分解する ためにペキソファジーが誘導される。このミクロ



図3. ミクロオートファジーのモデル図

- (A) ミクロオートファジーでは、液胞(あるいはリソソーム)の膜が直接基質の取り込みに関わる。その経路 としては、液胞膜が伸長し突出構造を形成する過程と、液胞膜が陥入して基質を取り込む過程があること が、形態観察により示唆されている。
- (B) ミクロペキソファジーのモデル図。メタノール資化性酵母 Komagataella phaffii の生育炭素源を、メタノー ルからグルコースなどに変換すると、オートファジーによるペルオキシソーム分解、ペキソファジーが誘 導される。液胞膜の一部が突出し複数のペルオキシソームを取り囲み、最終的にはコア ATGs の機能によ り形成される ATG8 含有膜構造 MIPA (Micropexophagy-specific membrane apparatus) により液胞膜同士が つなぎ合わされることで分解基質が隔離され、液胞内部に取り込まれる。

ペキソファジーの過程では、伸長した液胞膜が複数のペルオキシソームを隔離するが、その最終過程で液胞膜同士をつなぎ合わせ蓋をするために ATG8 を含む新生膜 Micropexophagy-specific membrane apparatus (MIPA) が形成され、MIPA 形成過程に多くのコア ATGs が必要とされる(図 3B)^{23,24}。

特に植物科学の研究者にとっては、マクロオー トファジーとミクロオートファジーという表現 は混乱を生みやすいようである。ミクロオート ファジーでは巨大な液胞が直接分解基質を取り 囲むのだから、こちらに「マクロ」の語が当てら れていたほうが直感的には理解しやすい、と私自 身感じることがあり、そのような指摘を受けるこ ともある。ただし前述のように動物細胞の場合、 リソソームはオートファゴソームより小さいた め、リソソームがミクロオートファジーにより直 接分解物を取り込む場合、分解物は、オートファ ゴソームを介するマクロオートファジーに比べ 必然的に微小になる。事実、ミクロオートファ ジーという現象が初めて定義されたのは動物細 胞においてである²⁵⁾。

4. 葉緑体を部分分解するオートファジー: Rubisco-containing body 経路

話を植物、葉緑体に戻したい。複数の植物種に おいて、葉の老化時には、葉緑体の数の減少に先 立って Rubisco に代表されるストロマタンパク質 量が減少することが知られており^{26,27)}、老化中に 葉緑体を丸ごと分解せずに中身だけを特異的に 分解する経路が存在することが示唆されていた。 そして、抗 Rubisco 抗体を用いたコムギ葉の免疫 電子顕微鏡観察から、チラコイド構造を含まず、 ストロマ成分だけを含む直径1µm 程度の小胞が 老化葉の細胞質に頻繁に観察されることが見い 出された (Rubisco を含む小胞 -Rubisco-containing body; RCB と命名)²⁸⁾。RCB は、 オートファゴソームに類似した二重膜に取り囲 まれているように観察されたことから、RCB が 一種のオートファジー小胞として、葉緑体ストロ マ成分を部分的に液胞に輸送、分解している可能 性がこのとき初めて提唱された。

このようなオートファジー経路の存在を実証す るために、コア ATGs 遺伝子の T-DNA 挿入欠損 株の整備が進んでいたシロイヌナズナを用いて、 in vivo での RCB 可視化が試みられた²⁹⁾。葉緑体 ストロマに移行するトランジットペプチドを付 与した緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現するシ ロイヌナズナ形質転換体、あるいは Rubisco その ものを GFP でラベルした形質転換体の葉を、暗 所、液胞分解活性の阻害剤である concanamycin A 存在下でインキュベートしたところ、GFP 蛍光を 含む小胞、すなわち RCB が液胞内に多数蓄積す る様子が観察された。葉緑体ストロマ移行 RFP で可視化された RCB は、オートファゴソームの マーカーである GFP-ATG8 と液胞内で共局在し た。RCBの形成は、ATG4やATG5といったコア ATG を欠損したシロイヌナズナ (atg4ab、atg5) では見られなかった^{29,30)}。以上の事実から、RCB が一種のオートファジー小胞であり、葉緑体スト ロマ成分を分解していることが直接証明された。 観察される RCB のサイズは直径 1 µm 程度と典 型的なオートファゴソームと同等であること、 RCB がオートファゴソームマーカーと共局在す ること、電子顕微鏡観察において RCB が隔離二 重膜に囲まれているように観察されていること ^{28,29)}、等の知見から、RCB 経路はマクロオート ファジーであると考えられている(図4A)。

RCB が形成されない atg5 などの変異株では、 葉緑体の一部がチューブ状に伸長する構造体「ス トロミュール」が多く形成される様子が観察され ている²⁹⁾。このような観察結果から、RCB 経路 には図4Aのようなモデルが受け入れられている。 まず、飢餓や老化等のシグナルに応じて、葉緑体 が伸長構造を形成する。その構造がオートファゴ ソーム膜と相互作用し、何らかの機構で葉緑体本 体から切り離されることで RCB を含有するオー トファゴソームとなる。これは液胞に運ばれた後、 RCB を含むオートファジックボディが液胞内部 に放出され、分解される。図 4B はカリフラワー モザイクウイルス 35S プロモーター制御下でス トロマ移行 GFP を発現するシロイヌナズナ³¹⁾、 において実際に RCB を可視化した画像である。 葉を、concanamycin A 存在下、暗所でインキュ



図4. RCB経路のモデル図と実際の観察画像

- (A) 飢餓や老化のシグナルに応じて葉緑体がストロミュール様の突出構造を形成する。その一部がオートファ ゴソーム膜と相互作用し、切り離されオートファゴソームとなり、液胞内部へ運ばれ分解される。RCB は ストロマ、および包膜成分のみを液胞に運び、チラコイド膜成分は含有しない。
- (B) RCB 経路の観察画像。葉緑体ストロマに移行するトランジットペプチドだけを付与した GFP を 35S プロ モーターの制御下で発現するシロイヌナズナの葉(播種後 21 日の第 2 ロゼット葉)を暗処理し、共焦点 レーザー顕微鏡で観察した画像。通常の無処理区(control)ではストロマ GFP(緑)はクロロフィル蛍光 (マゼンタ)と共局在するが、切離葉を、暗所、concanamycin A (ConA)存在下で約 20 時間インキュベー トすると、ストロマ GFP のみを持つ小胞 RCB が液胞内部に蓄積する。コア ATGs の一つ ATG5 欠損株(atg5) ではその形成は見られない。実験に用いた植物は、明期 12 時間、暗期 12 時間、光強度 140 µmol m⁻² s⁻¹の 条件で栽培した。DIC は明視野画像を示す。スケールバー=10 µm。

ベートすることで RCB が液胞内に蓄積するが
 (図 4B 中段)、これは atg5 変異株では起こらな
 い(図 4C 下段)。

ただし現状では、RCB 観察の大部分が図4のように液胞に輸送された後の構造体や蛍光タンパク質を検出する観察によって行われており、その

輸送過程を直接、詳細に観察した解析はほとんど ない。ゆえにその明確な輸送モデル確立のために は更なるイメージング解析が必要と考えられる。 RCB 経路が、主要な葉緑体タンパク質の分解系 の一つであり、タンパク質分解により生じるアミ ノ酸のリサイクルに大きく貢献していることは 複数の研究によって支持されている³²⁻³⁵⁾。

なお、葉肉細胞の大部分は液胞なのだから、

「オートファゴソームが液胞に運ばれる」必要は ないのでは(形成されればすぐそこに液胞があ る)、という指摘を頂戴することがしばしばある。 しかしながら、エンドソーム膜のリモデリングな ど多様な機能を持つ ESCRT (Endosomal Sorting Complex Required for Transport) タンパク質複合 体の一種、ESCRT-IIIの植物ホモログ CHARGED MULTIVESICULAR BODY PROTEIN1a (CHMP1a)、CHMP1b 二重変異株の幼植物の観 察では、RCB 構造が液胞に運ばれず細胞質に蓄 積することが報告されている³⁶⁾。ゆえに、たと え細胞の大部分が液胞であったとしても、オート ファゴソームは制御された仕組みによって液胞 にソーティングされている可能性が高い。

5. 葉緑体を丸ごと分解するクロロファジー

RCB 経路は、ストロマと包膜成分は包含する が、クロロフィルや集光タンパク質などのチラコ イド膜成分は含まない²⁸⁾。しかし特に葉の老化 の後期には、クロロフィル蛍光を有する葉緑体丸 ごとも液胞内に運ばれている様子が観察されて いた。このような現象も *atg4ab* 変異株では観察 されなかったことから、葉緑体を丸ごと液胞に運 ぶ「クロロファジー」経路もコア ATGs に依存し たオートファジー経路であることが明らかにさ れた³⁰⁾。時間軸を追って現象を考察すると、葉 の老化の初期には RCB 経路が活性化し、クロロ ファジーが起こる老化後期には葉緑体のサイズ が縮小していたため、活発な RCB 形成により小 さくなった葉緑体がクロロファジーの分解ター ゲットとなるモデルが提唱された³⁷⁾。

前述したように、オートファジー、特に選択的 オートファジーは障害オルガネラの除去による 細胞内品質管理に寄与する。ゆえに我々の研究グ ループは、葉緑体が光による障害を受ける条件で オートファジーが機能するかに着目した解析を 行った。そして、紫外線照射により強い酸化障害 が生じる条件、あるいは 1,200-2,000 µmol m⁻² s⁻¹ 程度の可視光により強い光阻害が生じる条件で は、クロロファジーが高頻度に誘導されることを 発見した³⁸⁾。自然界の太陽光は、強い可視光と 有害な紫外線成分の両者を含んでおり、クロロ ファジー様の現象は、グロースチャンバーの人工 光下で栽培した野生型シロイヌナズナを自然太 陽光にさらした際にも誘導された³⁸⁾。よって少 なくとも、自然光はクロロファジーを誘導しうる 障害を引き起こすようである。光障害でクロロ ファジーが誘導される際には、RCB 経路の活性 化、葉緑体サイズの縮小は必要ない³⁸⁾。ゆえに クロロファジーは、小さくなった葉緑体を分解す るというよりは、光阻害や老化の過程で不要に なった葉緑体を積極的に取り除くための機構で あると考えられる。

さらに我々は、強い光阻害を引き起こした際の 葉肉細胞の様子を詳細に観察し、強光照射直後に は、膨張した異常形態を示す葉緑体が生じること、 その数はクロロファジーの進行に伴い減少する こと、atg5 や atg7 変異株では膨張葉緑体が細胞 質に留まること、を見出した³⁹⁾。さらに GFP-ATG8 で可視化されるオートファジー構造 が、膨張葉緑体の一部に特異的に蓄積する様子を 捉えた。これらの成果から、クロロファジーは、 異常葉緑体(強い光阻害の場合、膨張葉緑体)だ けを選び取って除去する選択的オートファジー 経路であると考えられる。図5にクロロファジー のモデル図と実際の観察画像を示した。ストロマ 移行 GFP 発現シロイヌナズナに強い光阻害(キ セノン光源による2,000 µmol m⁻² s⁻¹の強光照射を 2時間)を付与すると、1から2日後にはクロロ フィル蛍光を呈する葉緑体が液胞内部に移行し ている様子が観察される(図 5B 中段)。この現 象は atg5 変異株では起こらない(図 5B 下段)。 この時液胞内の葉緑体がクロロフィル蛍光のみ を示すのは、葉緑体包膜が速やかに分解されるこ とでストロマ成分が拡散するのに対し、チラコイ ド膜は液胞内部でも一定程度その構造を保つた めであることが、電子顕微鏡観察から示唆されて いる 38,39)

クロロファジーの過程で、GFP-ATG8 で可視化 される構造体は膨張葉緑体上に局在するが、膨張 葉緑体を完全に取り囲むというよりはその一部



図5. 光障害時のクロロファジーのモデル図と実際の観察画像

- (A) 強い光阻害時には、一部の葉緑体が膨張した形態を示す。そのような葉緑体はATG8を含む構造体により認識され、ミクロオートファジーにより液胞内部へ運ばれ、分解される。ATG8を含む構造体が、オートファゴソーム膜と同様の隔離二重膜なのか、あるいは別の構造体なのかは不明である。
- (B) クロロファジーの観察画像。葉緑体ストロマに移行するトランジットペプチドだけを付与した GFP を 35S プロモーターの制御下で発現するシロイヌナズナの葉(播種後 14 日の第 2 ロゼット葉)に強光処理を施 し、その後共焦点レーザー顕微鏡で観察した画像。通常の無処理区(control)では、ストロマ GFP(緑) はクロロフィル蛍光(マゼンタ)と共局在するが、キセノン光源による強光処理(2,000 µmol m⁻² s⁻¹の光 を 2 時間照射)後 2 日目には、クロロフィル蛍光を呈する葉緑体が液胞内部に蓄積する(矢じり)。コア ATGs の一つ ATG5 欠損株(atg5)ではこの現象は起きない。実験に用いた植物は、明期 12 時間、暗期 12 時間、光強度 140 µmol m⁻² s⁻¹の条件で栽培した。DIC は明視野画像を示す。スケールバー=10 µm。

にコンタクトするように観察された³⁹⁾。ゆえに クロロファジーはマクロオートファジーとは異 なる膜動態を示す可能性が考えられ、液胞膜を蛍 光タンパク質で可視化した系統で観察を行った 結果、膨張葉緑体が液胞膜に取り囲まれている様 子が観察された³⁹⁾。つまりクロロファジーは一 種のミクロオートファジー経路であると考えら れる。前述したように、メタノール資化性酵母の ミクロペキソファジーでは、ATG8 を含む構造体 MIPA が液胞膜同士をつなぎ合わせる役割を担 うが、クロロファジーにおける ATG8 含有構造体 の正確な構造や役割は不明である。

選択的オートファジー経路、特にその過程で分 解ターゲットを認識する仕組みは、現在様々な生 物種で盛んに解析が行われている隆盛な研究分 野である。特に有名なのは、哺乳類細胞において

脱分極したミトコンドリアを除去するマイト ファジー経路である⁴⁰⁾。その認識機構は、 PTEN-induced kinase 1 (PINK1) というタンパク 質と、ミトコンドリアのユビキチン化によって制 御されている。PINK1は恒常的に発現しているが、 健常なミトコンドリアにおいては膜電位依存的 にミトコンドリアマトリックスに取り込まれ、ミ トコンドリア内部のプロテアーゼにより切断、分 解される⁴¹⁾。一方、脱分極した(膜電位を失っ た) ミトコンドリアではタンパク質移行が阻害さ れるため、PINK1 が外膜に蓄積する⁴²⁻⁴⁴⁾。この PINK1 は、細胞質に存在する E3 である Parkin、 およびユビキチンそのものをリン酸化すること で、Parkin によるミトコンドリア外膜タンパク質 のユビキチン化を促進する⁴⁵⁾。ユビキチンが蓄 積したミトコンドリアは、ユビキチン鎖とATG8 (哺乳類細胞ではLC3、GABARAP と呼ばれる) の懸け橋となる複数のオートファジーレセプ ターの介在を受け、オートファゴソームの分解基 質となる⁴⁶⁾。ゆえにクロロファジーにおいても 膨張葉緑体を識別・認識する仕組みが存在するは ずであり、我々は現在その解明に取り組んでいる。

6. 作物の窒素利用におけるオートファジーの役 割

前述したとおり、葉緑体分解は作物の窒素利用 を強く規定し得る、農業生産に深く関わる重要な 現象である。オートファジー研究の進展、様々な 植物種におけるゲノム情報の整備から、近年は作 物を用いたオートファジー研究も盛んになりつ つある。

2014年に、初めてイネのコア ATG 欠損変異株 としてレトロトランスポゾン Tos17 挿入により ATG7 が欠損したイネ osatg7-1 が単離された⁴⁷⁾。 この変異株は、シロイヌナズナ atg7 変異株とは 異なり、種子が全く実らない雄性不稔の表現型を 示した。その正確な原因はまだ解明されていない が、花粉形成時の脂質代謝やタペート層の崩壊に 異常が生じていることが示されている⁴⁷⁾。

我々はイネにおいてもオートファジーが葉緑 体分解を担うことを実証するため、オートファゴ ソームマーカーRFP-ATG8 や、葉緑体ストロマ マーカーRubisco-GFP を発現するイネを作出し、 生きたイネの細胞でオートファジックボディと RCB を可視化することに成功した⁴⁸⁾。これらは osatg7変異株では見られなかったことから、RCB 経路がイネ葉緑体の分解を担うことが証明され た。そこで osatg7 変異株の栄養成長期の成長を 詳細に評価したところ、オートファジー欠損によ り老化葉でのストロマタンパク質分解が抑えら れ、上位葉への窒素転流が抑えられること、そし てバイオマスが野生株に比べ約3割減少するこ とが明らかとなった⁴⁹⁾。以上の研究から、オー トファジー、及びそれによる葉緑体分解がイネの 窒素転流に実質的に貢献していることが証明さ れたと言える。葉緑体分解を抑えることで窒素転 流が抑えられた、ということは、言い換えれば、 葉緑体分解の活性を人為的に変動(活性化あるい は抑制) させることができれば、作物の窒素利用 を狙ったように改変できる可能性があることを 意味している。

7. 今後の研究展開

では具体的にどのような戦略が考えられるか。 例えば老化葉特異的に葉緑体オートファジーを 活性化できれば、新葉への窒素転流を効率化でき、 作物全体の窒素利用効率を向上させられるかも しれない。一方で、葉緑体分解は光合成活性を低 下させるため、光合成産物をより稼ぎたい葉位や 時期においては、葉緑体オートファジーを抑制す ることで、光合成活性の低下を抑え炭水化物獲得 効率を上昇させる戦略も想定できる。例えば、葉 の老化の初期に機能する RCB 経路を抑制するこ とで一時的に光合成活性を高く推移させ、老化後 期に機能するクロロファジーの活性は高めるこ とで窒素の転流は阻害しない、といった戦略も成 り立つかもしれない。あるいはイネの場合、もみ に詰まる炭水化物は、登熟期間中の葉の光合成に よってまかなわれることが知られている。よって 登熟期の葉緑体分解を遅らせ光合成を高く推移 させることができれば、中身がよりよく詰まった 高品質なコメを増やせる可能性がある。イネでは 玄米窒素含量の増加は食味の低下につながるた

め、コメへの窒素転流が抑制されることで食味向 上の効果も期待できる。

このような戦略を具体化するためにはまだま だ明らかにしなければならない課題が多いのが 現実である。まず、コア ATGs 以外に葉緑体オー トファジーに必須となる遺伝子が分かっていな い。前述のようにコア ATG が欠損したイネは雄 性不稔などの強いマイナスの表現型を示すため、 作物の機能改変の方策としては不適である。ゲノ ム編集などの技術でオートファジー活性を抑制 するためには、葉緑体オートファジーだけに必要 な遺伝子を同定し、その遺伝子を欠損させた場合 の影響を正確に評価する必要がある。また植物に おいてオートファジーを活性化するためのター ゲット遺伝子も未だはっきりしていない。近年、 シロイヌナズナにおいて ATG8 を過剰発現させ ると他のコア ATGs 遺伝子の発現も上昇し、結果 的に種子への窒素転流効率が上昇することが示 された⁵⁰⁾。ただし、この解析ではカリフラワー モザイクウイルス 35S プロモーターやユビキチ ンプロモーターといった多くの組織でユビキタ スに発現するプロモーターを使用している。この ように、常にオートファジー活性を上げるような 戦略では、コントロールされていないタンパク質 分解が起き、作物生産に望ましくない影響が出る 可能性も十分に考えられる。老化組織など、ある 特定の組織を狙ってオートファジー活性を制御 するような技術こそが、応用展開に直結しうる有 効な戦略になるかもしれない。

これは私個人の考えだが、生物の多くの能力は トレードオフの関係(ある能力を上げればある能 力が下がる)に縛られているため、今の作物より も成長能力が優れた、いわばスーパー作物のよう なものを作るのは容易ではない、と感じている。 ゆえに私は「植物が持っている性質を、農業生産 に都合がいいように細かく改変する」という戦略 に着目したい。例えば、ジベレリン感受性を低下 させ短稈となったイネが、多施肥型の灌漑農業と 適合した緑の革命も、そのような一例といえるの ではないか。私はそのような視点から、「植物の 葉の老化、葉緑体タンパク質の分解」を作物生産 環境によりフィットするように改変することは、 一つの有効な戦略になりうるのでは、と考えている。もちろん自身の今後の研究や、関連する研究分野がより発展していく中で、その実効性をより深く、正確に検証していく必要がある。

謝辞

本記事に関連する研究の一部は、JSPS 科学研 究費補助金(17H05050, 18H04852), JST さき がけ(課題番号: JPMJPR16Q1)の支援を得て行 われた。また葉緑体オートファジーに関する研究 は、東北大学大学院農学研究科・石田宏幸博士の 多大な貢献により発展してきている。この場を借 りて厚く御礼申し上げます。

Received Feb 27, 2019; Accepted Mar 11, 2019; Published Apr 30, 2019.

参考文献

- Makino, A. (2003) Rubisco and nitrogen relationships in rice: Leaf photosynthesis and plant growth. *Soil Sci. Plant Nutr.* 49, 319–327.
- Makino, A., Nakano, H. and Mae, T. (1994) Responses of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, cytochrome f, and sucrose synthesis enzymes in rice leaves to leaf nitrogen and their relationships to photosynthesis. *Plant Physiol.* 105, 173–179.
- Mae, T. (1997) Physiological nitrogen efficiency in rice: Nitrogen utilization, photosynthesis, and yield potential. *Plant Soil* 196, 201–210.
- Mae, T. and Ohira, K. (1981) The Remobilization of nitrogen related to leaf growth and senescence in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol.* 22, 1067–1074.
- Makino, A., Sakuma, H., Sudo, E. and Mae, T. (2003) Differences between maize and rice in N-use efficiency for photosynthesis and protein allocation. *Plant Cell Physiol.* 44, 952–956.
- Makino, A. and Osmond, B. (1991) Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat. *Plant Physiol.* 96, 355–362.
- Anding, A.L. and Bachrecke, E.H. (2017) Cleaning house: selective autophagy of organelles. *Dev. Cell* 41, 10–22.

- Feng, Y.C., He, D., Yao, Z.Y. and Klionsky, D.J. (2014) The machinery of macroautophagy. *Cell Res.* 24, 24–41.
- Itakura, E., Kishi-Itakura, C. and Mizushima, N. (2012) The hairpin-type tail-anchored SNARE syntaxin 17 targets to autophagosomes for fusion with endosomes/lysosomes. *Cell* 151, 1256–1269.
- Oku, M. and Sakai, Y. (2018) Three distinct types of microautophagy based on membrane dynamics and molecular machineries. *Bioessays* 40, 1800008.
- Kaushik, S. and Cuervo, A.M. (2018) The coming of age of chaperone-mediated autophagy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 19, 365–381.
- Takeshige, K., Baba, M., Tsuboi, S., Noda, T. and Ohsumi, Y. (1992) Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J. Cell Biol.* 119, 301–311.
- Tsukada, M. and Ohsumi, Y. (1993) Isolation and characterization of autophagy-defective mutants of *Saccharomyces cerevisiae. FEBS Lett.* 333, 169–174.
- Yao, Z.Y., Delorme-Axford, E., Backues, S.K. and Klionsky, D.J. (2015) Atg41/Icy2 regulates autophagosome formation. *Autophagy* 11, 2288– 2299.
- Nakatogawa, H., Suzuki, K., Kamada, Y. and Ohsumi, Y. (2009) Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10, 458–467.
- Gomez-Sanchez, R., Rose, J., Guimaraes, R., Mari, M., Papinski, D., Rieter, E., Geerts, W.J., Hardenberg, R., Kraft, C., Ungermann, C. and Reggiori, F. (2018) Atg9 establishes Atg2-dependent contact sites between the endoplasmic reticulum and phagophores. *J. Cell Biol.* 217, 2743–2763.
- Ichimura, Y., Kirisako, T., Takao, T., Satomi, Y., Shimonishi, Y., Ishihara, N., Mizushima, N., Tanida, I., Kominami, E., Ohsumi, M., Noda, T. and Ohsumi, Y. (2000) A ubiquitin-like system mediates protein lipidation. *Nature* 408, 488–492.
- Mizushima, N., Noda, T., Yoshimori, T., Tanaka, Y., Ishii, T., George, M.D., Klionsky, D.J., Ohsumi, M. and Ohsumi, Y. (1998) A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature* 395, 395–398.
- Finley, D. (2009) Recognition and processing of ubiquitin-protein conjugates by the proteasome. *Annu. Rev. Biochem.* 78, 477–513.
- Meijer, W.H., van der Klei, I.J., Veenhuis, M. and Kiel, J.A.K.W. (2007) *ATG* genes involved in non-selective autophagy are conserved from yeast to

man, but the selective Cvt and pexophagy pathways also require organism-specific genes. *Autophagy* 3, 106–116.

- 21. Yoshimoto, K. and Ohsumi, Y. (2018) Unveiling the molecular mechanisms of plant autophagy–from autophagosomes to vacuoles in plants. *Plant Cell Physiol.* 59, 1337–1344.
- 22. Marshall, R.S. and Vierstra, R.D. (2018) Autophagy: The master of bulk and selective recycling. *Annu. Rev. Plant Biol.* 69, 173–208.
- 23. Oku, M. and Sakai, Y. (2016) Pexophagy in yeasts. *Biochim. Biophys. Acta* 1863, 992–998.
- Mukaiyama, H., Baba, M., Osumi, M., Aoyagi, S., Kato, N., Ohsumi, Y. and Sakai, Y. (2004) Modification of a ubiquitin-like protein Paz2 conducted micropexophagy through formation of a novel membrane structure. *Mol. Biol. Cell* 15, 58–70.
- Deduve, C. and Wattiaux, R. (1966) Functions of lysosomes. *Annu. Rev. Physiol.* 28, 435–492.
- Mae, T., Kai, N., Makino, A. and Ohira, K. (1984) Relation between ribulose bisphosphate carboxylase content and chloroplast number in naturally senescing primary leaves of wheat. *Plant Cell Physiol.* 25, 333– 336.
- Ono, K., Hashimoto, H. and Katoh, S. (1995) Changes in the number and size of chloroplasts during senescence of primary leaves of wheat grown under different conditions. *Plant Cell Physiol.* 36, 9– 17.
- Chiba, A., Ishida, H., Nishizawa, N.K., Makino, A. and Mae, T. (2003) Exclusion of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from chloroplasts by specific bodies in naturally senescing leaves of wheat. *Plant Cell Physiol.* 44, 914–921.
- 29. Ishida, H., Yoshimoto, K., Izumi, M., Reisen, D., Yano, Y., Makino, A., Ohsumi, Y., Hanson, M.R. and Mae, T. (2008) Mobilization of rubisco and stroma-localized fluorescent proteins of chloroplasts to the vacuole by an *ATG* gene-dependent autophagic process. *Plant Physiol.* 148, 142–155.
- Wada, S., Ishida, H., Izumi, M., Yoshimoto, K., Ohsumi, Y., Mae, T. and Makino, A. (2009) Autophagy plays a role in chloroplast degradation during senescence in individually darkened leaves. *Plant Physiol.* 149, 885–893.
- 31. Köhler R.H., Cao J., Zipfel W.R., Webb W.W. and Hanson M.R. (1997) Exchange of protein molecules

through connections between higher plant plastids. *Science* 276, 2039–2042

- 32. Hirota, T., Izumi, M., Wada, S., Makino, A. and Ishida, H. (2018) Vacuolar protein degradation via autophagy provides substrates to amino acid catabolic pathways as an adaptive response to sugar starvation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 59, 1363–1376.
- Ono, Y., Wada, S., Izumi, M., Makino, A. and Ishida, H. (2013) Evidence for contribution of autophagy to rubisco degradation during leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 36, 1147– 1159.
- Izumi, M., Hidema, J., Makino, A. and Ishida, H. (2013) Autophagy contributes to nighttime energy availability for growth in *Arabidopsis. Plant Physiol.* 161, 1682–1693.
- Izumi, M., Wada, S., Makino, A. and Ishida, H. (2010) The autophagic degradation of chloroplasts via rubisco-containing bodies is specifically linked to leaf carbon status but not nitrogen status in *Arabidopsis. Plant Physiol.* 154, 1196–1209.
- Spitzer, C., Li, F.Q., Buono, R., Roschzttardtz, H., Chung, T.J., Zhang, M., Osteryoung, K.W., Vierstra, R.D. and Otegui, M.S. (2015) The endosomal protein CHARGED MULTIVESICULAR BODY PROTEIN1 regulates the autophagic turnover of plastids in *Arabidopsis. Plant Cell* 27, 391–402.
- Ishida, H., Izumi, M., Wada, S. and Makino, A. (2014) Roles of autophagy in chloroplast recycling. *Biochim. Biophys. Acta* 1837, 512–521.
- Izumi, M., Ishida, H., Nakamura, S. and Hidema, J. (2017) Entire photodamaged chloroplasts are transported to the central vacuole by autophagy. *Plant Cell* 29, 377–394.
- Nakamura, S., Hidema, J., Sakamoto, W., Ishida, H. and Izumi, M. (2018) Selective elimination of membrane-damaged chloroplasts via microautophagy. *Plant Physiol.* 177, 1007–1026.
- Pickles, S., Vigie, P. and Youle, R.J. (2018) Mitophagy and quality control mechanisms in mitochondrial maintenance. *Curr. Biol.* 28, R170– R185.
- Jin, S.M., Lazarou, M., Wang, C., Kane, L.A., Narendra, D.P. and Youle, R.J. (2010) Mitochondrial membrane potential regulates PINK1 import and proteolytic destabilization by PARL. *J. Cell Biol.* 191, 933–942.

- Vives-Bauza, C., Zhou, C., Huang, Y., Cui, M., de Vries, R.L., Kim, J., May, J., Tocilescu, M.A., Liu, W., Ko, H.S., Magrane, J., Moore, D.J., Dawson, V.L., Grailhe, R., Dawson, T.M., Li, C., Tieu, K. and Przedborski, S. (2010) PINK1-dependent recruitment of Parkin to mitochondria in mitophagy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 378–383.
- Narendra, D.P., Jin, S.M., Tanaka, A., Suen, D.F., Gautier, C.A., Shen, J., Cookson, M.R. and Youle, R.J. (2010) PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. *PLoS Biol.* 8, e1000298.
- 44. Matsuda, N., Sato, S., Shiba, K., Okatsu, K., Saisho, K., Gautier, C.A., Sou, Y.S., Saiki, S., Kawajiri, S., Sato, F., Kimura, M., Komatsu, M., Hattori, N. and Tanaka, K. (2010) PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits parkin to damaged mitochondria and activates latent parkin for mitophagy. J. Cell Biol. 189, 211–221.
- Koyano, F., Okatsu, K., Kosako, H., Tamura, Y., Go, E., Kimura, M., Kimura, Y., Tsuchiya, H., Yoshihara, H., Hirokawa, T., Endo, T., Fon, E.A., Trempe, J.F., Saeki, Y., Tanaka, K. and Matsuda, N. (2014) Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate parkin. *Nature* 510, 162–166.
- 46. Lazarou, M., Sliter, D.A., Kane, L.A., Sarraf, S.A., Wang, C.X., Burman, J.L., Sideris, D.P., Fogel, A.I. and Youle, R.J. (2015) The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. *Nature* 524, 309–314.
- 47. Kurusu, T., Koyano, T., Hanamata, S., Kubo, T., Noguchi, Y., Yagi, C., Nagata, N., Yamamoto, T., Ohnishi, T., Okazaki, Y., Kitahata, N., Ando, D., Ishikawa, M., Wada, S., Miyao, A., Hirochika, H., Shimada, H., Makino, A., Saito, K., Ishida, H., Kinoshita, T., Kurata, N. and Kuchitsu, K. (2014) OsATG7 is required for autophagy-dependent lipid metabolism in rice postmeiotic anther development. *Autophagy* 10, 878–888.
- Izumi, M., Hidema, J., Wada, S., Kondo, E., Kurusu, T., Kuchitsu, K., Makino, A. and Ishida, H. (2015) Establishment of monitoring methods for autophagy in rice reveals autophagic recycling of chloroplasts and root plastids during energy limitation. *Plant Physiol.* 167, 1307–1320.
- Wada, S., Hayashida, Y., Izumi, M., Kurusu, T., Hanamata, S., Kanno, K., Kojima, S., Yamaya, T., Kuchitsu, K., Makino, A. and Ishida, H. (2015) Autophagy supports biomass production and nitrogen

use efficiency at the vegetative stage in rice. *Plant Physiol.* 168, 60–73.

50. Chen, Q., Soulay, F., Saudemont, B., Elmayan, T., Marmagne, A. and Masclaux-Daubresse, C. (2019) Overexpression of *ATG8* in *Arabidopsis* stimulates autophagic activity and increases nitrogen remobilization efficiency and grain filling. *Plant Cell Physiol.* 60, 343–352

Towards the manipulation of plant nitrogen usage: recent advances in the study of chloroplast-targeting autophagy

Masanori Izumi^{1,2,3}

¹Frontier Research Institute for Interdisciplinary Sciences, Tohoku University, ²Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, ³PRESTO, JST

表紙の紹介

サンゴの蛍光タンパク質は共生藻類の誘引に働く

¹名古屋大学(現所属) ²基礎生物学研究所

相原悠介 1,2

表紙は日本の造礁サンゴとして広く分布するコユビミドリイシ(Acropora digitifera)である。 撮影は青色光源とカラーフィルターを組み合わせ、サンゴの緑色蛍光を浮かび上がらせている。 このような鮮やかな体色はサンゴが緑色蛍光タンパク質(GFP)やその類縁の蛍光タンパク質を 大量に産生していることに由来する。これらの蛍光タンパク質は生体内タンパク質を可視化する 技術に応用され、その影響は今や生命科学全般に及ぶ。

では、蛍光タンパク質はそもそもサンゴにとってどのような役割を持つのだろうか?これまで 「サンゴ体内に共生する褐虫藻の"日除け"として働く¹⁾」とする説が研究者たちに広く受け入 れられてきたが、この説では薄暗い深場(50 m)のサンゴであっても強い蛍光を発する²⁾という 事実を説明できない。そこで我々は、「サンゴの緑色蛍光は共生藻類(褐虫藻)の誘引する」の ではないかと仮説を立て、これを検証した。大型スペクトログラフを用いて自由遊泳状態の褐虫 藻の走光性作用スペクトルを詳細に解析したところ、褐虫藻は強い青色光から逃避する一方、弱 い緑色光に集合するという性質を示すということが明らかとなった。さらに、褐虫藻が青色光環 境下で、緑色蛍光性サンゴおよび人工の緑色蛍光ペイントに誘引される現象を確かめた。最後に、 沖縄のサンゴ礁海域において、緑色蛍光ペイントを塗布したトラップが自色の対照トラップより 多くの褐虫藻を誘引することを確かめた。以上により、宿主(サンゴ)が共生相手(褐虫藻)を 呼び寄せる生物間シグナルとしての「緑色蛍光」の働きが初めて明らかとなった³。

この詳細について、2019年8月号の解説記事にて紹介する予定である。

参考文献

- 1. Salih, A., Larkum, A., Cox, G., Kühl, M. & Hoegh-Guldberg, O. Fluorescent pigments in corals are photoprotective. *Nature* 408, 850 (2000).
- Eyal, G., Wiedenmann, J., Grinblat, M., D'Angel, C., Kramarsky-Winter, E., Treibitz, T., Ben-Zvi, O., Shaked, Y., Smith, TB., Harii, S., Denis, V., Noyes, T., Tamir, R., & Loya, Y. Spectral Diversity and Regulation of Coral Fluorescence in a Mesophotic Reef Habitat in the Red Sea. *PLoS ONE* 10, e0128697 (2015).
- 3. Aihara, Y., Maruyama, S., Baired, AH., Iguchi, A., Takahashi, S. & Minagawa, J. Green fluorescence from cnidarian hosts attracts symbiotic algae. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 2118–2123 (2019).

特別企画:若手研究者の海外留学レポート!

第6回「海外での研究経験、フランスとアメリカ」

埼玉大学大学院 理工学研究科 生命科学部門

高橋 拓子

私は岡山大学で学位取得後、フランス・パリにある CNRS 研究機関の一つ Institut de Biologie Physico-Chimique (IBPC) でポスドクとして 2010 年から 2014 年まで勤務したのち、京都大学でのポ スドクを経て、現在は埼玉大学で勤務している。2018 年度には、埼玉大学が採択された日本学術振興 会「頭脳循環を加速する戦略的国際研究ネットワーク推進プログラム」(頭脳循環プログラム)の一 環で、アメリカ・バークレーにて一年間の研究活動をさせてもらった。フランスとアメリカでの研究 経験を単純に比較することはできないが、一つの情報として私の経験談が若い方の役に立てばと思い 本件をお受けした次第である。私がパリのラボとバークレーのラボに滞在して感じた印象的な事柄と ポスドク後の職探しについて記述した。

フランスへ行くことになった経緯と行先

私は岡山大学自然科学研究科の高橋裕一郎研で研究を行い、博士の学位を取得した。裕一郎研で英 語文献の輪読、英語での発表、海外の研究者とのディスカッション、国際学会でのポスター発表など を経験し、海外で研究活動をしてみたいと思ったことが海外でのポスドクを志した動機だった。学位 取得を控え進路を考えている時期に、フランス・パリにある CNRS 研究所の Institut de Biologie Physico-Chimique (IBPC) 内にある Francis-André Wollman 博士の研究室(UMC7141)における公募があ り、これまでにクラミドモナス会議で公募先の研究者のことは知っていたこと、当時の研究内容と関 連があったことから応募した。CV 等の送付後、上司となる Olivier Vallon 博士との電話面接を経て着 任となった。UMC7141 の前任ディレクターである Pierre Joliot は光合成における「酸素発生の 4 周期 振動」を発見した一人であり、現在 87 歳であるが現役で研究を続けている。このように、UMC7141 は光合成研究のラボとして古い歴史を持っており、主にクラミドモナスを用い、分光学法による光合 成活性の解析、葉緑体遺伝子発現制御、チラコイド膜タンパク質複合体の分子集合について様々な解 析方法を用いて研究を行っているラボである。

アメリカへ行くことになった経緯と行先

アメリカ行きは、日本学術振興会の頭脳循環プログラムにより可能となった。本プログラムは、埼 玉大学の分子生物学科の教授陣が中心となって申請し採択されたプログラムで、プログラムには世界 各国の研究者との共同研究を行う一貫として若手研究者の海外派遣も含まれる。このプログラムの海 外派遣者として私を指名してもらうという幸運な機会を得てアメリカへ行くことができた。派遣先は、 光合成の光環境順化の一種である Non photochemical quenching (NPQ)研究で有名な Krishna Niyogi 教 授 (University of California, Berkeley)の研究室であった。Niyogi 研は 2017年で 20周年を迎えたラボで、 UMR7141に比べれば若いラボであるが、植物、藻類における NPQ研究を始め、主にクラミドモナス でのシグナルトランスダクション、藻類を用いた有用物質生産、作物植物における NPQ 改変と扱う材 料、研究内容共にこちらも多岐にわたる。また、Niyogi 研のある Department of Plant and Microbial Biology (PMB)は、光リン酸化の発見者である Arnon 教授をはじめとして光合成研究では古い歴史を 誇る。このような機関で研究を行えたことは大変貴重な経験となった。

UMC7141 ラボ

UMC7141 に在籍する複数の PI クラスの研究員や数名の技官は任期の定めがないためか、のんびり とした雰囲気のラボだった。テニュアの彼らに加えてポスドク数名、博士課程の学生数名、ときどき 修士課程や学部生レベルの学生がインターンシップにやってくる、という構成であった。テニュアの 研究員はカフェを飲みながら議論(研究だけでなく政治の話なども)しゆっくり昼食を取り帰宅も早 い一方、博士課程の学生やポスドク(特に外国人)は皆朝から晩まで実験していたのが印象的である。 夏のバカンスもフランス人のテニュア研究者はひと月近く休む一方、外国人留学生やポスドクは短 かった。当時同時期にラボに在籍していた小澤博士(現・岡山大学)は休みを取らなかったため、Wollman 氏から休むように命じられたほどである。

固定メンバーが多いため、ラボ内の役割分担が明確であり、クラミドモナスの株の管理、試薬の管理、機器の管理が明確である一方、解析技術が 70-90 年代で止まっているような印象もあった。こちらでは、クラシックな方法を学びつつ、自分の持っていた解析技術を併用して研究を遂行することができた。

ラボの大多数はフランス人であるため、基本的にはフ ランス語で会話し、外国人と研究の話をするときは英語で 行うという環境であった。このような環境であるため、着 任直後はフランス語学校に行かせてもらいフランス語を 学習した。生活するうえでフランス語は必須だったため、 学習の機会を与えてくれたことは大変ありがたかった。

議論好きの国民性なのか、UMC7141の研究者は何事 においても熱い議論になった。彼らの自己主張は強いもの の、自己の正当性を主張するというよりは議論そのものを 楽しむという印象を受けた。またラボ内でのフランス人 vs 外国人という構図は多少なりともあり、普段はフランス 語でのアナウンスなのに問題が起きたときは英語でアナ ウンスされ、外国人ポスドク同士で愚痴を言ったことが懐 かしい。このようなことはあったものの、PI研究者らが私 をラボメンバーとして尊重してくれたことはありがた かった。加えて雇われポスドクとして、「職務を果たさね ば」という責任感を感じながら仕事したことが、上司との 信頼関係構築につながったと思う。



Olivier Vallon 博士と(2014年5月)

Niyogi ラボ

Niyogi 研のメンバーは、一人の PI (Niyogi 教授) とラボマネージャー、ポスドク(ボ スに雇われるポスドクと「国立研究所の研 究員(給与はボスのグラントから)」の両 方が存在)、大学院生がおよそ半々で、テ クニシャンが数名と私のような訪問研究者 が 1,2 名いるという構成である。こちらの ラボは、皆アクティブに実験を行っており バカンスもさほど長くは休まない(最大で 2 週間ほど)。日本よりはリラックスした 雰囲気だが常に皆が実験などに取り組んで いるという印象を受けた。

研究内容が多岐にわたり、大学院生や ポスドクなど人の出入りが多いため、バク テリアのストックやクラミドモナスの株、



2018 年 Niyogi ラボの集合写真ランニングバージョン

試薬、機器の管理はラボマネージャー担っており、彼女なしではラボは運営できないと感じた。人の 出入りが多いため、最新の解析方法などの情報が入る点は Niyogi 研の長所の一つである。加えて Niyogi 教授は、研究の遂行に際し研究者の裁量に任せる姿勢であること、研究資金が充実していることから、 新たな解析方法をすぐに試せるという環境であった。実際に最新のクローニング技術を習得できた点 は今回の滞在の大きな収穫であったと思う。

渡米直後ネイティブスピーカーの英語に慣れず苦労したが、発音のクラスを受講したり、人が話 すフレーズを真似することで段々とコミュニケーション能力を培うことができた。また英語に慣れる ことで発言等しやすくなり会話も上達するというポジティブフィードバックがあるため、英語に自信がなくてもどんどん話すことが大切であると改めて感じた。

アメリカ(特にカリフォルニア)では、個人を尊重するという姿勢が幼少期からの教育で徹底して いるのか、どのような意見を述べても受け入れられ、フランスでのように議論が白熱するというシチュ エーションはあまり見かけなかった。またフランスで体験したような自国民 vs 外国人という構図もな く、私にとって居心地は大変良かった。また、Niyogi 教授は研究の遂行について各研究者の裁量に任 せてくれるため自分のアイディアを試せるという環境に身を置けたことは大変ありがたかった。

バークレー校で印象的だったのが、Assistant professor 候補者の選抜過程であるセミナーを見る機会 を得たことである。プレゼンテーションはもちろん、その後のチョークトーク(今後の研究方針につ いての議論を黒板とチョークを用いて行う)も公開で行われており、オープンな選抜が行われていた。 PMB でのテニュア獲得率は 90%ということで、最初の段階でハイレベルな選抜が行われていると感じ た一方、着任後の Assistant professor はリラックスして自身の研究に取り組んでいるのが印象的だった。

パリでポスドク後のポスト探し

私がパリでポスドクしていた時期には、フランスでも日本での雇用5年ルール(無期転換ルール) 同様の法律が施行されており、同じ所属機関に5年以上はいられない状況であった。私は、2年間勤務 した後も同じラボに在籍し別の研究課題にも取り組みたかったが、上述したように法律上の問題から 契約更新3年目には、CNRSから契約更新をしぶられた。しかし雇い元のグラントが変わったため更 新が可能となり、これ以上の更新はなしということで2014年の4月いっぱい雇ってもらえることに なった。

このような状況下だったため、フェローシップ獲得により研究続行を試みた。まずは、同じ研究機関で研究を続行するために、ヨーロッパのフェローシップと学振海外特別研究員へ申請、受け入れ先研究者を変えて研究続行も視野に入れてドイツのフェローシップに申請したもののいずれも不採択であった。学術振興会の海外特別研究員への申請は面接に呼ばれ、自費で渡航し面接を受けたが結果は補欠。不採択ならまだ諦めもついたものの、「補欠」である。繰り上がるタイミングをいつまで待つべきかなどの情報はなく、ただ途方に暮れていたことを覚えている(結局繰り上がらなかった)。もちろん途方に暮れている訳にはいかなかったので、ポスドクを雇える可能性のある5人のPI(1名日本人、他は海外)に、雇用の可能性を問うメール+CVを送った。2名からは「今は雇えるグラントがないので、あなた自身でグラントを持っていればぜひ」という返信、一名からは返信もなし、一件目のポジティブな返事をくれたのが京都大の鹿内先生であった。鹿内研への着任が決まった後、問い合わせをした別のPIから「1年であれば来てもらって構わない」という連絡ももらった。また、Wollman氏に「どうしても見つからなければ知り合いのラボでポスドクできるように頼むことは可能である(その場合絶対断れない)」と言ってもらったことが、自力で行先を探すモチベーションになった一方、万が一のときのセーフティラインがあるという安心感があった。

このポスト探しの際に、推薦者となってくれた海外の研究者はいずれも研究上でのつながりがあっ た。共同研究で一緒に解析を行ったり、彼らのラボでプレゼンテーションをさせてもらった経験があっ た。また、鹿内先生に自身の研究を紹介する機会を得たのも鹿内研でさせてもらったプレゼンテーショ ンがきっかけであった。これらの経験から感じたことは、言わずもがなではあるが、研究者は自分を 売り込むことがとにかく重要であるので、機会を見つけてディスカッション、プレゼンテーションさ せてもらうべきである。国際学会のポスター発表などは自分を知ってもらう恰好のチャンスであるし、 旅行ついでにラボのセミナーにお邪魔する感覚で自分の話を聞いてもらえるといいと思う。また PI は 忙しくてメールを見落としていることがあるため、ポストについて問い合わせる際に、返信がないか らとあきらめず何度かメールを出すことが重要であると思う。

海外での研究メリット・デメリット

海外で研究することのメリットは、多様な考え方、物事へのアプローチを学べることと、多くの研 究者と知り合いになり自身の研究について議論してもらえることだと思う。特に同世代の研究者と知 り合え、現在も交流が続いている点は研究を行ううえでの大きな刺激になっている。一方でデメリッ トは、海外学振研究員でない限り科研費の申請資格がないことである。一昨年度の応募から科研費の 制度が変更になり、若手研究の応募資格は学位取得後8年未満の研究者にしか与えられなくなった。 この制度は年齢で応募資格を区切る制度よりは平等性が高いと思うが、海外で研究した期間(科研費応募資格がない期間)に対する考慮がない点は、改善されることを願っている。

おわりに

2018 年度カリフォルニア大学での研究活動を可能にしてくださった埼玉大学の先生方、学術振興会 にこの場を借りてお礼申し上げます。また、本稿を書く機会を与えてくださった光合成学会・若手の 会の皆様にも併せてお礼申し上げます。
報告記事

生命科学系フロンティアミーティング 2018(第 17 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

「生命科学の新たな地平を切り拓こうとする若手研究者の議論と交流の推進」を目指し、生命情報科学若手の会の世話人である慶応大の河野暢明さんが発起人となって、生命情報科学若手の会、日本ゲノム微生物学会若手の会、日本光合成学会若手の会が合同で開催したのが今回のミーティングです。なるべく参加者全員と交流するために定員制をとり、参加者数は80数名に制限されました。光合成学会関係者として参加した菅波さんが臨場感あふれる報告をまとめてくれたので、本会の様子については、是非そちらをご覧ください。

今回のミーティングは、2017 年 8 月に立教大学で開催された第 0 回生命科学系フロンティアセミナーに、光 合成学会若手の会をお誘いいただいたのがきっかけとなり、共同開催させていただくことになりました。 第 0 回 セミナーでは、各若手の会の関係者による研究紹介に加えて、今回のミーティングの共同開催に向けての意 見交換が行われました。非常に魅力的な企画だったので、共同開催に迷いがなかったことを記憶しています。

本会では、菅波さんが紹介してくれているワールドポスターを含めて、いくつかのユニークな企画が行われま した。そのうちの1つが、パネルディスカッションです。各若手の会の代表3名と招待講演者3名が壇上で「面 白い研究はどうやって考えつくか」「若手研究者にどのように研究の面白さを伝えるか」という2つのテーマにつ いて意見を交わしました。

こうした企画はもちろん会を盛り上げていましたが、それ抜きにしても、全体を通して非常に活発な議論が行われていました。ワールドポスターで使用したポスターは、両面印刷の A3 用紙がラミネート加工されたもので、常に持ち歩いて議論することが出来ました。実際、懇親会中やバスでの会場移動中にも、ポスターを用いて議論している姿が確認されました。

私を含め参加者全員が非常に満足した会だったと思います。様々な理由から、今後の開催は未定ですが、

機会があれば絶対に開催いたします。本当に刺激 的な会でしたので、今回参加されなかった方々は (参加した方々も)、次の機会があれば参加すべき だと思います!

さて、次回の光合成学会若手の会セミナーですが、 5月26日の光合成学会年会終了後に光合成学会 若手の会10th Anniversary セミナーとして開催いた します。歴代の若手の会会長に、ご自身の研究内 容や若手の会への思いなどの話をして頂く予定で す。本会終わりに気軽に参加頂けたらと思います。



パネルディスカッションの様子

報告記事

生命科学系フロンティアミーティング 2018 参加報告

東北大学大学院農学研究科 植物栄養生理学分野 菅波 眞央

平成 30 年 10 月 5 日から 7 日にかけて、静岡県三島市国立遺伝学研究所で生命科学系フロンティ アミーティング 2018 が開催されました。本大会は、生命情報科学若手の会、日本ゲノム微生物学会 若手の会、日本光合成学会若手の会の三会が学際的な融合を目的に合同で開催する初めての ミーティングでした。私は所属する東北大学で学際高等研究教育院という研究科の枠を越えた異分 野融合研究を推進するプログラムに参加しており、異分野交流のための勉強会の企画、運営に携 わっています。今回は、異分野交流のノウハウを学びたいと考え、参加しました。

会議では、一般的な口頭発表に加えて、ワールドポスターという極めてユニークな形式でのポス ター発表が行われました。これは、参加者全員が A3 のポスターを持ち、自分の研究内容を少人数 のグループの中で発表し、グループを交換しながら何度も繰り返し発表する方式です。異分野の研 究発表にもまんべんなく触れ、わからない部分はその場ですぐに質問できるこの方式は、異分野交 流にとても効果的だと感じました。話が盛り上がると、食事の間や移動中にも、ポスターを持ちながら 議論をする姿があちこちで見られました。



全体集合写真

また、革新的な研究を最前線で進められている3名の先生の招待講演も行われました。ゲノム編 集技術の開発、さらに開発した技術の応用を目指したベンチャー企業を設立された神戸大学西田 敬二先生、生命現象を明らかにする新規技術の開発を進める東京大学谷内江望先生、変化し続け る自然環境での光合成に着目し、作物の光合成改良を目指す京都大学田中佑先生、どの講演も斬 新なアイディアが満載でとても刺激になりました。

私は、遺伝子組換えによって光合成機能を 改良したイネの遺伝子組換え作物専用隔 離ほ場での栽培試験について発表しまし た。光合成学会若手の会の方だけではなく、 様々な方に興味を持っていただき、普段の 学会とは別角度からの質問も多く受け、大 変勉強になりました。また、光栄なことに ジェンスクリプトジャパン特別賞をいただき ました。

最後になりますが、清水隆之先生を始め とする本大会の企画、運営をしてくださった 方々に厚く御礼申し上げます。



ジェンスクリプトジャパン特別賞受賞の様子

報告記事

第4回光合成細菌ワークショップ開催報告

¹久留米大学 医学部、²立命館大学 生命科学部 生命情報科学科、³海洋研究開発機構 ¹原田二朗、²浅井智広、³塚谷祐介

今年3月に名古屋大学で開催された第60回日本植物生理学会年会の関連集会として、光合成細菌ワークショップを開催した。今回で4回目と順調に回を重ねることができ、年会組織委員会の方、および、ご参加いただいた多くの方に感謝する。今年のプログラムでは、光合成細菌ならではの幅広い内容となり、例年通り本会では聞けない発表を演者の方々にして頂いた。最初の演者の山本治樹先生(名古屋大学)には、研究留学先のインディアナ大学での紅色光合成細菌の遺伝子制御についての研究を発表して頂いた。コバラミンを補因子とする青色光受容体AerRの2つのアイソフォームが、異なる生育段階でそれぞれ光合成遺伝子発現の活性化と抑制に働いてことを明らかとした内容であった。次演者の蘆田弘樹先生(神戸大学)には、RuBisCOの機能進化について講演して頂いた。RuBisCOが有するカルボキシラーゼ/オキシゲナーゼの反応性が生物間で異なることや、光合成を行わないアーキアや細菌のRuBisCO様タンパク質の機能解明まで、この酵素の幅広い多様性について議論されていた。本ワークショップでは毎年1名以上の学生の方に講演をお願いしており、今回は田中謙也さん(大阪大学)にお話いただいた。シアノバクテリアにおいて概日時計と細胞内レドックスの関連を研究対象とし、光合成への影響や自律振動子の介入機構について議論した。

後半では、最初に小澄大輔先生(熊本大学)に光合成細菌のカロテノイドの光捕集および光保 護について講演いただいた。紅色光合成細菌のアンテナ系LH2のフェムト秒からサブミリ秒をカ バーするレーザー分光解析から、カロテノイドの三重項状態の超高速生成過程について議論した。 次には、高部由季先生(首都大学東京)に、好気性光合成細菌の研究についてお話いただいた。 これらの細菌は、好気条件下で光合成を行うといった、酸素発生光合成では当たり前だが、光合成 細菌ではめずらしい特徴を持ち、その際生じる光酸化障害を防止するカロテノイドの分布について の内容であった。その次には、佐賀佳央先生(近畿大学)に紅色光合成細菌のLH2のB800バク テリオクロロフィル aを脱離させ、別の色素を再構成させる研究について発表していただいた。タン パク質構造は安定させたまま自在に色素を変えられることから、光合成の進化や人工光合成への応 用についてお話いただいた。そして最後は、野地智康先生(東京大学)に、人工光合成へのアプ ローチとして、紅色光合成細菌の光アンテナ・反応中心複合体を固定させた電極基板の性能につい ての研究発表をしていただいた。

本ワークショップをオーガナズするにあたって、そのモチベーションについて述べたいと思う。1 つ は我々が行っている光合成細菌の研究を盛り上げたいという気持ちである。ワークショップ開催前の 頃は、近い分野の研究者人口が減り、学会でも議論できる機会が少なくなりつつあった。そこで、世

76

話人の専門から離れた光合成細菌の研究へと視野を広げ、多くの分野の研究者が1か所に集まれ るワークショップを開催した。その結果、光合成細菌を使うことで様々な応用研究へ発展できる可能 性を感じることができた。そして、光合成の進化については、まだ何も解決してないことも再確認した。 もう1つのモチベーションは、光合成細菌の日本語での教科書となる本を作りたいという願望である。 代表的な教科書として北村博先生らが編集した「光合成細菌」(学会出版センター)があるが、1984 年出版と古く、既に絶版となっている。これに代わる新しい内容の教科書を手掛けたいと考えていた ところ、幸いにも本ワークショップを開催している関係で声を掛けていただき、世話人の3人とも新教 科書の執筆に加わっている。今回ワークショップの総合討論の場で、早ければ本年中にも「光合成 細菌」(裳華房)が出版される予定であることが報告された。

今後も光合成細菌ワークショップの開催を続けていきたいと思う。形態は、例年通りの関連集会での開催の他に、シンポジウムに応募することも検討したい。また、他学会でも開催企画することで、光 合成細菌の研究を今以上に発展させていきたいと考えている。

集会案内

第27回「光合成セミナー2019:反応中心と色素系の多様性」の開催案内

期日: 2019年7月13日(土)午後2時から14日(日)午後4時まで

- 場所:大阪大学理学研究科南部陽一郎ホール(https://www.sci.osaka-u.ac.jp/ja/nambu-hall/) (交通)阪急電車「石橋」駅から徒歩約 25 分、大阪モノレール「柴原」駅から徒歩約 7 分
- 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. 講演会近藤徹(東北大学、JST さきがけ)

「単一タンパク質分光で観る光合成光反応の動的制御機構」 長尾遼(岡山大学) 「光化学系膜タンパク質複合体のクライオ電顕構造解析」

- 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 2019年7月1日(月)
 参加申し込み締め切り 2019年7月1日(月)
- 参加費: (7月13日の懇親会費、7月14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:大阪大学大学院 理学研究科 大岡宏造 (E-mail: ohoka@bio.sci.osaka-u.ac.jp, Tel: 06-6850-5424)

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/index.html

宿泊:セミナー期間は三連休と重なります。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

第10回 International Meeting «Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability - 2019»の開催案内

期日: 2019年6月23日~6月28日

場所: サンクトペテルブルグ (ロシア) Website: https://prs.science/

本年 6 月 23 日~28 日に第 10 回 International Meeting «Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability – 2019»が光合成研究に多大な貢献をされた佐藤公行先生(岡山大学 名誉教授)の栄誉を記念(他 3 名を含む)してロシアのサンクトペテルブルグで行われます。

本国際会議は今回が10回目の開催になります。サンクトペテルブルグはロシアの北の首都と もよばれ、会議中は白夜の期間でもあります。また、エルミタージュ美術館があることでも 有名です。本会議の第1回目は2004年にカナダ、ケベック州 Trois-Rivières で"In honor of Norio Murata(村田先生の名誉を讃える記念)"として行われたのを原点とし、これまでに日本からの 参加者が Talent 賞・Poster 賞等を多く受賞しています。

今回も多くの方々に参加、御発表(ロ頭及びポスター発表)頂き、活発なディスカッション ができますようにお願い申し上げます。学生・ポスドクの参加者も大歓迎しています。 ロ頭発表の申し込み締め切りは4月30日、ポスター発表の締め切りは5月30日です。Early bird registrationの締め切りは5月10日で最終登録締め切りは5月30日です。

なお、ロシアへの渡航は Visa が必要になるので御留意ください。大会事務局からの VISA サポートのヘルプは 5月 20 日迄となっています。

本会の発表者は Photosynthesis Research (Springer)、 International Journal of Hydrogen Energy (Elsevier)、 Functional Plant Biology(CSIRO Publishing)の特集号に投稿可能です。

討論のセクションは大きく二つに分かれており 1. 光合成(基礎から応用まで人工光合成を含む光合成科学全ての領域) 2. 水素エネルギー(ヒドロゲナーゼ等による水素生産やバイオフュエル等) となっています。 詳しくはウエブサイトを御覧ください。

御不明な点がございましたら、御遠慮なくお問いあわせください。

東京理科大学 鞆 達也

集会案内

Walz 社 PAM を用いて、光合成電子伝達反応解析をはじめよう ~どのように始める? どのように解釈する? そこが知りたい~

- 期日: 2019年5月23日(木)
- 場所: 神戸大学・農学部 (B403 教室)
- 10:00 PAM を使いこなすための、クロロフィル蛍光解析の基本 (30 分)
 京都大学・伊福健太郎
- 10:30 PAM を使いこなすための、PSI-P700 解析の基本と実践 (60 分) 東京大学・河野 優
- 11:30 PAM を用いた光呼吸解析 (30分)
- (C3 作物の C4 化検証に最適なアッセイ・システム) (CO2 補償点でのエレクトロン・シンク能の最適評価システム) 神戸大学・三宅親弘
- 12:00~13:30 昼食 (90分)
- 13:30 DUAL/KLAS-NIR の紹介 (60分) Christof Klughammer 博士
- 14:30
 DUAL/KLAS-NIR を用いた、生葉でのフェレドキシン解析の実際 (30分)

 神戸大学・和田慎也
- 15:00~17:00 DUAL-PAM, DUAL/KLAS-NIR, Junior-PAM を触ってみよう (120分) 講師「敬称略」 Christof Klughammer 伊福健太郎 河野優 和田慎也 三宅親弘

◆注意事項:本セミナーに参加される方は事前申し込みが必要です。つきましては、神戸大学農 学部植物栄養学研究室・三宅親弘(cmiyake@hawk.kobe-u.ac.jp)まで、下記の内容を記したメールを 5月10までにお送りください。

(1)氏名、(2)所属、(3)メールアドレス、(4)PAM解析の経験の有無(初心者、これから始めたい方大歓迎です)

事務局からのお知らせ

★入会案内

本会へ入会を希望される方は、会費(個人会員年会費:¥1,500、賛助法人会員年会費: ¥50,000)を郵便振替(加入者名:日本光合成学会、口座番号:00140-3-730290)あるいは銀 行振込(ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290 名前:ニホンコ ウゴウセイガッカイ)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 Ŧ [] 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 1,500円 (会誌、研究会、ワークショップなどの案内を含む) 個人会員年会費 50,000円(上記と会誌への広告料を含む) 賛助法人会員年会費 (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 〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町 京都大学 理学部研究科 鹿内利治 研究室内 日本光合成学会

TEL:075-753-4247

FAX : 075-753-4257

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 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。

「光合成研究」

総則

- 1.「光合成研究」(本報)は光合成に関連する 諸分野における記事を掲載する。
- 1年に3回(4月、8月、12月号)冊子体として発行し、電子版を光合成学会のホームページ上に公開する。
- 3. 原稿が E-mail において受付処理をされた日 を以て受付日とし、編集委員が掲載可と判 断した日を採択日とする。ただし原稿が本 規定に合わない場合受け付けないことがあ る。
- 4. 編集委員は、原稿の審査に際し、原則的に適切な査読者を選んで査読を依頼し、掲載の可否を判断する。
- 5. 掲載論文の著作権(冊子体および電子版)は 日本光合成学会に属する。
- 図やそこで使われる写真が過去論文として 発表したものもしくは発表されたもので あった場合は、それらの著作権問題を著者 ら自身でクリアする必要がある。
- 7. 投稿に当たっては、全ての著者が投稿に同意 し、かつ原稿の内容について責任を持たな ければならない。また、全ての著者は代表 著者が全著者を代表して原稿の掲載に関す る事項を執り行うことに同意するものとす る。

一般的事項

- Microsoft Word ファイルを基本とする。字 数制限は設けないが、「解説」はA4 サイ ズ6~8ページ、「トピックス」、「研究 紹介」は4ページ程度を目安にする。1ペー ジ当りの文字数は、図表を含めて1800字 程度。日本語はMS明朝、英数字はTimes New Roman とする。
- (2) 本文の最初に、日本語および英語での論 文題名、著者所属機関名、氏名を記載する。
- (3) 句読点は「、」「。」に統一する。
- (4) 300 字程度の日本語要旨を作成すること。
- (5) 参考文献、表、図のキャプションは、本 文の後ろにつける。

投稿規定

(6) 本文中に図の大体の位置を指示する。(図 を貼り付けてもよい。)

参考文献

- (1) 参考文献は、本文中の該当箇所に、右上 付きで、1)、1,2)、1-3)のように示す。
- (2) 参考文献の表記は下記のとおりとする。雑誌例
 - 1. Berthold, D.A., Babcock, G.T. and Yocum, C.F. (1981) A highly resolved, oxygen-evolving photosystem II preparation from spinach thylakoid membranes. EPR and electron-transport properties. *FEBS Lett.* 134, 231–234.
 - 2. Nanba, O. and Satoh, K. (1987) Isolation of a photosystem II reaction center consisting of D-1 and D-2 polypeptides and cytochrome *b*-559. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84, 109–112.

書籍例

 Diner, B.A. and Babcock, G.T. (1996) Structure, dynamics, and energy conversion efficiency in photosystem II, in Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions (Ort, D.R. and Yocum, C.F., Eds.) pp 213–247, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.

図/写真

- (1)図、写真はグレースケールでも良い場合には、グレースケールで作成する。カラーの図や写真を希望する場合には、カラーの図や写真を送付すること。図や写真の枚数によっては、編集委員会との相談により、 PDF版ではカラーになるが、冊子体ではグレーになる場合がある。
- jpg あるいは tiff 形式等で本文とは別ファ イルとして送付すること。解像度は 300 dpi 程度とする。
 - 日本光合成学会「光合成研究」編集委員会 2017年12月23日改訂

幹事会名簿

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

編集後記

前任者の伊福健太郎さんから引き継ぎ、今号から編集長を務めることになりました。どうぞよろし くお願いいたします。私は2009年に日本光合成学会の若手の会を当時、代表として立ち上げました。 その活動は今もなお若手に引き継がれ、活発な研究交流が展開されています。光合成は、その素過程 を詳細に解析するには、生物物理学、有機化学、生化学などの知識・技術が必要となる一方、光合成 をマクロな視点で捉えようとすると、生化学、生理学、細胞生物学、生態学などの知識・技術が必要 です。しかしながら、1人の研究者がこれらの研究領域を全て把握することは非常に困難です。そのよ うな状況では、学会や若手の会での積極的な研究交流が有効な手段となりますし、日本語で執筆され た専門誌である「光合成研究」もまた、大きな一助となると考えています。その役割を果たすべく、 この雑誌をさらに素晴らしいものにするため努力する所存でおります。

さて、今号は、2018 年 5 月 26 日~27 日に東北大学で開催された第 9 回日本光合成学会・シン ポジウム「光合成と窒素と作物生産」でご講演していただいた方々、池内さん、山野さん、小杉さん に執筆していただきました。多様なラインナップであり、正に上記の役割を果たす内容と思いました が、いかがでしたでしょうか。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、ぜひ私 までご連絡ください。

また、研究紹介や解説を随時受け付けておりますので、奮ってご投稿ください。表紙に適した写真も よろしくお願いします。

編集長·成川 礼 (静岡大学)

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。

O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。

O 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、新編集長の成川 (narikawa.rei@shizuoka.ac.jp) までご連絡ください。

光合成研究 29 (1) 2019

「光合成研究」編集委員会

編集長	成川	礼(静岡大学)
編集委員	高林	厚史(北海道大学)
編集委員	宗景	ゆり (関西学院大学)
編集委員	矢守	航(東京大学)

日本光合成学会 2019年度役員

会長	鹿内 利治(京都大学)	
事務局長	園池 公毅(早稲田大学)	
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	石北 央(東京大学)	
常任幹事	伊福 健太郎(京都大学)	前編集長
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	本橋 健(京都産業大学)	年会 2019年
常任幹事	菓子野 康浩 (兵庫県立大学)	
常任幹事	熊崎 茂一(京都大学)	光生物学協会
常任幹事	成川 礼(静岡大学)	編集長
常任幹事	矢守 航(東京大学)	ホームページ

会計監査 高橋 裕一郎(岡山大学)選挙管理委員 西山 佳孝(埼玉大学)・日原 由香子(埼玉大学)

光合成研究 第 29 巻 第 1 号 (通巻 84 号) 2019 年 4 月 30 日発行

日本光合成学会

〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町
 京都大学 理学研究科 鹿内利治 研究室内
 TEL:075-753-4247
 FAX:075-753-4257
 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