

光合成研究

第 31 卷 第 1 号 (通巻 90 号) 2021 年 4 月

Vol. 31 NO. 1 April 2021

JOURNAL OF THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

新会長のご挨拶	久堀 徹 (東京工業大)	2
集会案内 第 12 回日本光合成学会年会およびシンポジウム		3
トピックス イネ葉肉細胞における葉緑体の細胞内配置と立体構造に塩ストレスが与える影響	大井 崇生 他 (名古屋大)	4
トピックス 変動光に対する光合成応答メカニズム—CO ₂ 拡散プロセスに焦点をあてて	迫田 和馬 他 (東京大)	14
解説特集 「諸刃の剣：光合成との付き合い方」		
序文	成川 礼 他 (都立大 他)	30
解説 脂質を介した光合成の機能制御	神保 晴彦 (東京大)	31
解説 非光合成性藻類の色素体進化	神川 龍馬 (京都大)	37
解説 テトラピロールおよび GUN1 プラスチドシグナルを介した葉緑体形成	清水 隆之 他 (東京大)	50
表紙の紹介 珪藻の光化学系-集光性色素タンパク質超複合体の分子基盤	長尾 遼 (岡山大)	63
若手の会特別企画 第 12 回「アメリカでの研究生生活を振り返って」	迫田 和馬 (東京大)	65
報告記事 若手の会の会長交代のご報告 他	清水 隆之 他 (東京大)	67
報告記事 第 6 回光成細菌ワークショップの開催報告	原田 二郎 他 (久留米大 他)	69
新刊紹介 『木本植物の生理生態』	寺島 一郎 (東京大)	71
集会案内 第 28 回「光合成セミナー2021：反応中心と色素系の多様性」の開催案内		73
事務局からのお知らせ		74
日本光合成学会会員入会申込書		75
日本光合成学会会則		76
「光合成研究」投稿規定		78
幹事会名簿		79
編集後記・記事募集		80
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2021 年度役員		81
賛助法人会員広告		

新会長のご挨拶

日本光合成学会会長

久堀 徹（東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所）

2021年より2年間、鹿内利治前会長の後任として、日本光合成学会の5代目の会長をお引き受けしました。何卒宜しくお願い致します。

日本光合成学会は、2009年5月30日の日本光合成研究会の総会の際に学会への組織替えが提案され、会員の投票で承認されて誕生しました。実は、この総会の議長を務めていたのは私です。当時、研究会のままで活動を続けるか、学会として体制を整えるか、熱い議論があったのを今でもよく覚えています。その後、歴代の4人の会長、初代の事務局長の鹿内利治さんと現在の事務局長の園池公毅さんのご尽力で立派な学会に成長しました。

毎年開催される年会では、その時々の特ピックスを集めたシンポジウムが開催されていますし、若手の会の活動も活発に行われています。また、和文機関誌「光合成研究」は、こちらも歴代の編集長の熱意で、毎号素晴らしい内容で提供されています。Web版光合成事典は、初学者の勉強、学生のレポート作成から論文執筆まで、さまざまところで重要な情報を提供しています。Wikipediaとは異なり、きちんと研究者同士の査読によって内容確認が行われていて、必要に応じて記載内容の更新も行われていますので、今後も安心してご利用ください。さらに、前々会長の高橋裕一郎さん、事務局長の園池公毅さん、常任幹事の古本強さんのご尽力で、日本光合成学会が編集する教科書「光合成（仮題）」も今年中に刊行の予定です。最近達成されたもう一つの大きな事業は、Webサーバーの更新です。こちらは、前の期の常任幹事の皆様と、特に現在、事務局（IT担当）をお引き受けいただいている北海道大学の高林厚史さんのお力によるものです。

このように、これまで4代の会長の下で学会としては十分な体制が整いました。私の役割は、このように順調に成長した光合成学会を間違いなく次世代に引き継ぐことだと思っておりました。ところが、全く予想していなかったのが、今、世界中で大混乱に陥れているCOVID-19です。この一年は、ほとんどの対外的な活動がオンライン実施を余儀なくされていますね。昨年度の年会は残念ながら中止せざるを得ず、シンポジウムだけ秋にオンライン開催となりました。2ヶ月続いた首都圏の緊急事態宣言がようやく解除されましたが、すでに変異株の拡大も予想されており、今後の推移も見通せない状況にあることから、今年の年会はオンライン開催することにいたしました。まさしく、学会の在り方を問われる難しい状況が続いていると言えます。会長としては、何とかこの大波を乗り越えていく舵取りができるよう知恵を絞ろうと考えているところです。例えば、年会ではZoom開催のメリットを生かして海外からの参加を可能にするなど、新しい開催方法を積極的に探ろうと考えています。この難局にあたり、会員の皆様のご理解となお一層のご協力を頂きますよう、宜しくお願い致します。

集会案内

第 11 回日本光合成学会年会およびシンポジウムの開催案内

- 期日: 2021年5月28日(金) 9:00~5月29日(土) 17:30(予定)
 開催形態: Zoomによるオンライン開催
 年会HP: <https://sites.google.com/view/11th-photosynthesis-symposium/>
 参加費: 2000円(学会口座に振込。振込手数料は本人負担。会員は学会費(1500円)も合わせて振込可能)
 参加・発表申込: 年会HPより参加申し込み(2021年5月7日(金)締切)
 参加資格: 非会員でも参加・発表可

全てオンラインで開催し、シンポジウムは例年通り二つ実施します。一般発表は、Zoomによる口頭発表のみ(質疑応答含め15分)とします。ポスター発表は行いません。Zoomのブレイクアウトルーム機能を利用し、2会場同時進行で、50演題ほどの発表とする予定です。プログラムの詳細は、年会HPをご参照ください。

シンポジウム1 「酸いも苦いも乗り越えて: 光合成と酸化還元」

趣旨: 酸化還元に焦点を当て、女性研究者の方々にご講演いただきます。

桶川 友季(岡山大学) 「チオレドキシシンによる多様な葉緑体機能の酸化還元制御(仮)」

高橋 拓子(埼玉大学) 「緑藻クラミドモナスにおけるPGRL1タンパク質の機能(仮)」

上妻 馨梨(東北大学) 「ほろ苦い夜の光合成 一根で働くATP合成酵素」

シンポジウム2 「光合成研究の最先端」

趣旨: オンライン開催を活かし、海外の最先端研究者の方々にもご講演いただきます。

David Kramer(ミシガン州立大学) 「TBA」

Andreas Weber(ハインリヒ・ハイネ大学 デュッセルドルフ) 「TBA」

John R Evans(オーストラリア国立大学) 「Two attempts to improve photosynthesis: mesophyll conductance and hyperspectral reflectance」

Benjamin D. Engel(ヘルムホルツセンター ミュンヘン) 「Exploring the molecular landscapes of photosynthetic organelles with cryo-electron tomography」

世話人

成川礼(東京都立大学): 年会準備委員

栗井光一郎(静岡大学)、本橋令子(静岡大学): 年会企画委員

トピックス

イネ葉肉細胞における葉緑体の細胞内配置と立体構造に塩ストレスが与える影響

¹名古屋大学 大学院生命農学研究科²近畿大学 大学院農学研究科大井 崇生^{1*}、山根 浩二²、谷口 光隆¹

イネは C₃ 植物としては比較的高い光合成能力を示し、その要因の一つに複雑に入り組んだ葉肉細胞の形状とその内部の葉緑体配置が挙げられる。また、葉緑体は塩ストレス下で形態が変化し、局所的に突出構造や陥入構造を形成することが知られている。このような内部微細構造の解析には、組織を薄切して断面を観察する必要があるが、複雑に入り組んだ形状の全容を捉えることは難しい。本稿では、我々がイネの葉肉細胞を対象に塩ストレス下での葉緑体の形態変化を二次元観察した際に犯した過ちと、試料を連続して薄切した平面像を積み上げて立体像を得る三次元再構築法によって初めて得られた知見を紹介したい。

1. はじめに

塩ストレス（塩害）は光合成を始めとする様々な生理代謝を阻害する環境要因の一つである。根圏の過剰な塩類は水ポテンシャルを低下させ、浸透圧ストレスを引き起こす¹。浸透圧ストレスによって根からの吸水が抑制されると、気孔の閉鎖に伴って二酸化炭素の取り込みが制限され²、光受容によって生産された還元力が過剰状態となり、酸化ストレスを生じて様々な障害を及ぼす³⁻⁵。一方で、根から水とともに吸収された塩類そのものも過剰に蓄積されることで電荷バランスを崩したり、正常な酵素活性を阻害したりするなどのイオンストレスとなる⁶。このように、塩ストレスとはイオン・浸透圧・酸化による複合ストレスである⁷。根から吸収された塩類は地上部に送られて蓄積するため、極端に高濃度な塩が与えられた直後でなければ組織としては根に比べて葉の方が塩ストレス障害を生じやすく、細胞内器官としては葉緑体においてまず顕著な傷害を受ける⁷。塩ストレス下では、葉緑体はチラコイド膜

の膨潤や崩壊を引き起こし^{4,8,9}、最終的には包膜の崩壊も伴って分解されていく。葉緑体が崩壊する前の中程度の塩ストレス下では *stromule*（ストロミュール）^{10,11} や *chloroplast protrusion*^{12,13} と呼ばれるチラコイド膜を含まないストロマ領域が突出した微細構造が形成されることも報告されている。両構造とも機能や生理的意義は解明されていないが、このような突出部分の形成に伴って葉緑体本体から切り離された *Rubisco containing body* (RCB) の放出が生じることが示唆されており¹³、RCB は葉緑体の分解過程の一つであると考えられている¹³⁻¹⁵。一方で、葉緑体本体も膨らんだように見えることが、中程度の塩ストレス下やストレス処理の早い段階で観察されている^{8,9,16}。このような微細構造変化が生じる際には、光化学系の活性の低下が確認されており¹⁶、塩ストレス下での光合成能を考える上で葉緑体の形態情報は重要な手がかりになると考えられる。

細胞内微細構造を詳細に捉えるには、試料を約 100 nm の厚さに薄切（ハクセツ）して透過型電

*連絡先 E-mail: oitaka@agr.nagoya-u.ac.jp

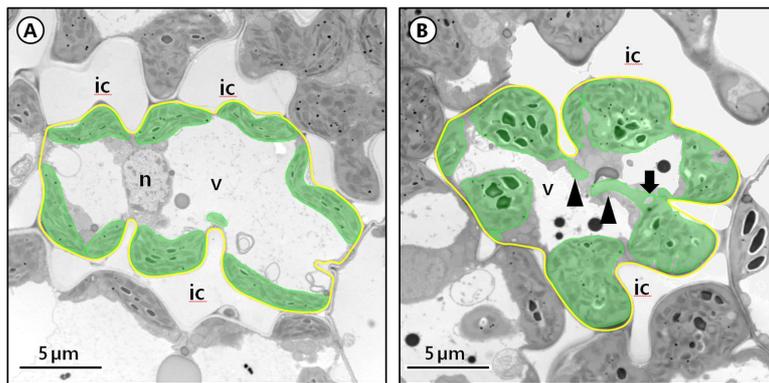


図1. イネ葉肉細胞のTEMによる断面観察像

A: 対照区 (非ストレス条件)、B: 塩ストレス処理区 (100 mM NaCl, 4日間)。葉身を維管束方向に対して垂直に薄切 (100 nm) した横断切片。葉肉細胞の細胞壁 (黄色) はいくつものくびれを有している (有腕構造)。対照区では葉緑体 (緑) が細胞壁の内側を覆い尽くすように扁平な断面を示すのに対し、塩ストレス区では丸く膨らんだ断面を示し、さらに局所的にはチラコイド膜を含まない突出構造 (矢尻) やポケット構造 (矢印) が観察される。ic: 細胞間隙、n: 核、v: 液胞。

子顕微鏡で観察するのが有効な手段の一つである。しかし、薄切された試料の観察像は二次元の断面であり、本来は三次元である全体像を理解するには研究者の想像力による補完を要し、しばしば誤解も招く。非ストレス条件下のイネ (*Oryza sativa* L. 品種: 日本晴) 葉身の葉肉細胞を観察すると葉緑体は被子植物で一般的な凸レンズ状の扁平な断面を示すが (図 1A)、塩処理によって葉身が黄変・枯死する手前の中程度のストレスを受けた細胞を観察すると、葉緑体は細胞内部にせり出すように“膨らんだ”断面を示す (図 1B)。細胞の中央付近で切られたであろう断面を比較すると、対照区より塩処理区の方が細胞に占める葉緑体の割合が明らかに大きく、浸透圧の影響による葉緑体体積の増加などの変化が連想される。また、前述のとおり、塩ストレス下の葉緑体にはストロミュール様の突出構造が局所的に現れるが (図 1B 矢尻)、併せてポケット状の構造も観察される (図 1B 矢印)。我々は断面像観察に基づき、両者には関連があることを見出し、葉緑体が形作る“細長いチューブ状の突出構造”がミトコンドリアなど他のオルガネラを取り囲み、最終的にはその先端が葉緑体本体とくっついてポケット構造が形成されるという仮説の提唱をかつて試みていた (図 2) 注1。結論から述べると、

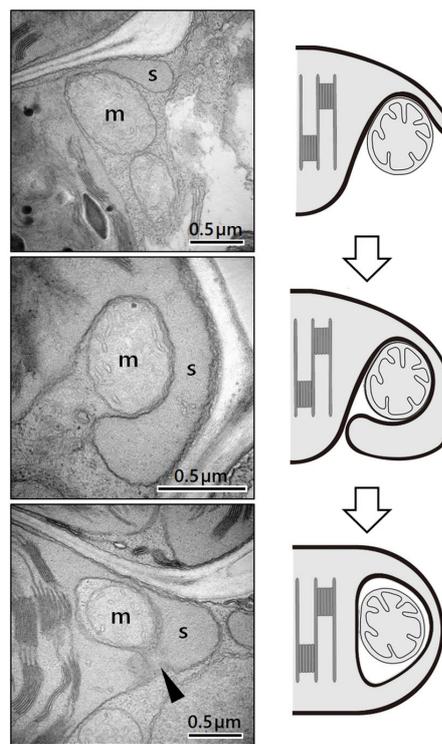


図2. 塩ストレス (100 mM NaCl, 4日間) 下で観察されたイネ葉緑体のTEMによる断面像と葉緑体ポケットへのオルガネラの取り込み過程を示す模式図 (旧仮説)

管状の葉緑体突出構造が他のオルガネラを取り囲むと推察していた。m: ミトコンドリア、s: ストロミュール、矢尻: 葉緑体本体とストロミュールが接合したと思われる箇所。

注1: この仮説を図2の模式図を添えて国際誌に投稿したが不採択となり、後に三次元解析を追加して採択された論文

ではこの内容を削除しており¹⁷、原著論文としては発表されていない。

これら二次元の断面像に基づく考察には三次元的な空間把握におけるいくつかの誤解があった。我々は、試料を一定間隔で薄切して得られた二次元断面像群を積み上げて立体像を得る「三次元再構築法」を用いることで、複雑な外形をしたイネ葉肉細胞における葉緑体の細胞内配置と形状の実像を示し、塩ストレスに伴う形態変化を捉え直すことができた¹⁷⁻²⁰。三次元再構築法のための連続画像の取得方法やそれに続く画像解析の手法など技術的な詳細については本稿では割愛する

が、すでに邦文の解説記事にまとめているため参照頂きたい^{21,22}。

2. イネ葉肉細胞の細胞内微細構造の Whole Cell Imaging

まず、イネの葉肉細胞を一断面ではなく、細胞の端から端までを連続して薄切し、細胞全体の微細構造を再構築した^{18,19}。葉組織を一般的な透過型電子顕微鏡 (transmission electron microscope: TEM) 法と同様に固定・脱水して樹脂に包埋した

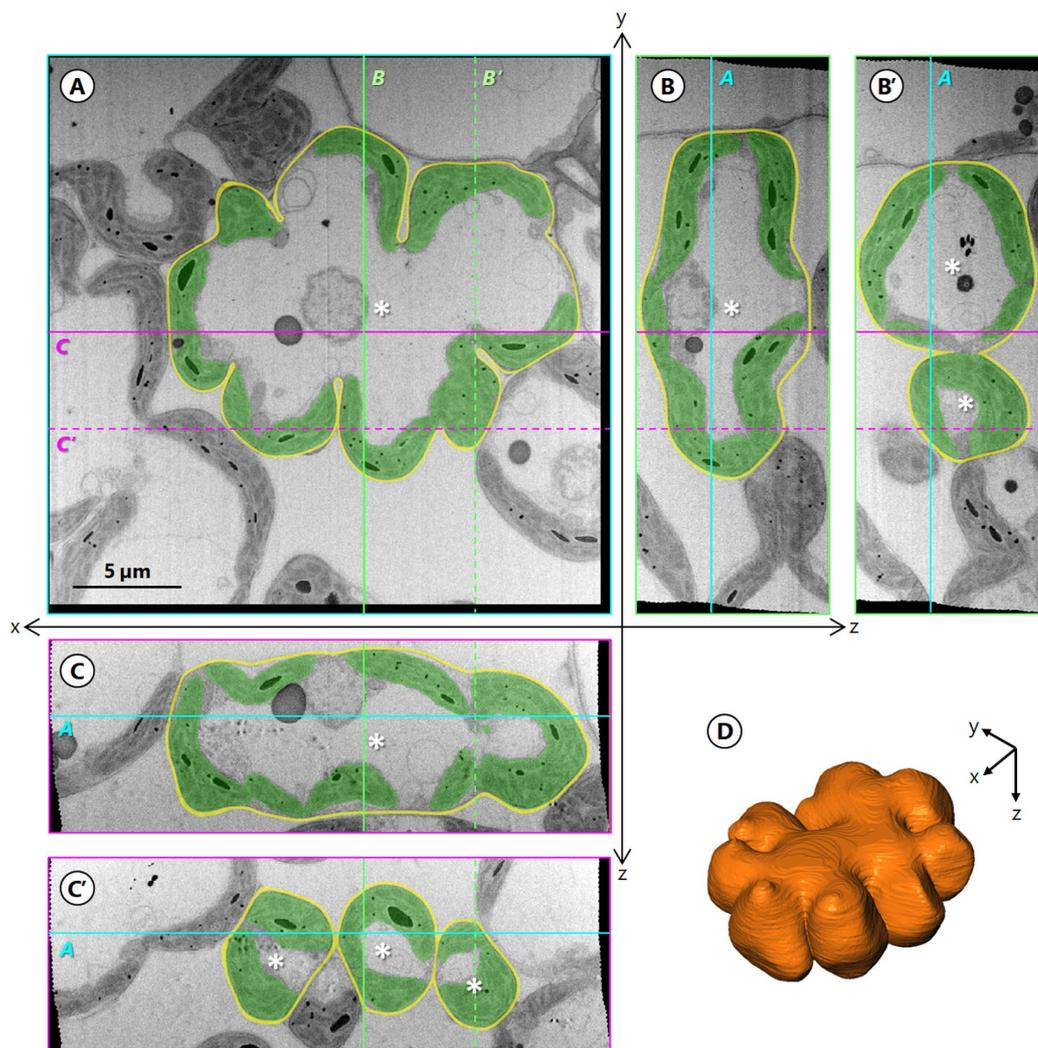


図3. FIB-SEMによるイネ葉肉細胞の断面観察像と三次元再構築像の例

A: 実際に撮影された横断面 (xy) 像の一枚。B, C: 画像解析ソフト上で再構築 (ボリュームレンダリング) された仮想断面像。B, B': 縦断面 (yz) 像。C, C': 並皮断面 (xz) 像。直線A, B, Cおよび破線B', C'は各断面A, B, C, B', C'の位置を示す。D: 各断面における*が示す細胞の細胞壁についての三次元再構築 (サーフェスマデリング) 像。細胞壁 (黄)、葉緑体 (緑) は手でセグメンテーションされた。撮影面 (xy) 25 μm × 25 μmに対し、切削方向 (z) は50 nm間隔で断層総数176枚を積み重ねた8.8 μmの厚さの空間領域を成す。Oi *et al.* 2020より改変。

試料を準備し、ナノメートル単位での微細切削が可能で集束イオンビーム (focused ion beam: FIB) 加工装置を内蔵した走査型電子顕微鏡 (scanning electron microscope: SEM) の複合装置 (FIB-SEM) を用いて観察した。FIB-SEM は装置内で切削と観察を自動で繰り返すため、切片のズレ・ブレ・ヤブレが少ない精細な画像群を得ることができる。詳細は割愛するが、イネ葉切片を葉脈に対して垂直な横断方向に 50 nm 厚で 150–300 枚 (全体で 7.5–15 μm の厚さ) を切削することで葉肉細胞を端から端まで横断面 (図 3A; xy) として撮影し、画像解析ソフト上で再構築することで実際には撮影していない縦断面 (図 3B, B'; yz) や並皮断面 (図 3C, C'; xz) も仮想断面像として再観察できるようになり、各画像中の構造を抽出すれば立体像を表示することもできる (図 3D; 細胞壁の例)。イネの葉肉細胞は横断面ではいくつものくびれをもった形状であったが (図 3A)、細胞中央付近で切られた縦断・並皮断面では長方形に近い楕円を示し (図 3B, C)、細胞の末端付近で切られた縦断・並皮断面では複数の分かれた円形を示した (図 3B', C')。このように、切断される方向や位置によって多様な断面を示す形状の場合、二次元像から一つの立体像を想像するのは大変困難である。一方で、全体の立体像 (図 3D) を一目すれば各断面像 (図 3A-C) を推定することは比較的容易となる。イネは重要な農作物であり、その葉肉細胞は光合成生産の現場となるため、これまでも多くの研究者によって細胞構造が観察されてきたが、一つの細胞の全体像を内部の微細構造の配置と併せて示した報告は我々の知る限り初めてである¹⁸⁾。

3. イネ葉肉細胞葉緑体の細胞内配置と塩ストレスによる形状変化

次に、葉肉細胞内の葉緑体の配置と形状について、塩処理の有無で比較した (図 4)¹⁹⁾。まず、一般的に葉肉細胞の葉緑体は弱光に集まる集合運動や強光を避ける逃避運動を行うことが知られ²³⁾、乾燥や塩などの環境ストレスによっても細胞内配置が偏る場合があることが報告されているが²⁴⁾、今回観察されたイネにおいては塩処理に

よって葉緑体が葉肉細胞内に偏って存在するような配置の変化は見られなかった (図 4A, B)。しかし、非ストレス区の葉緑体は葉肉細胞のくびれに沿って伸び広がり、隣接する葉緑体どうしが密接していたのに対し (図 4A)、塩処理区の葉緑体は細胞のくびれごとに存在するものの広がらずに丸くなっており、隣接する葉緑体との間の隙間が増えていた (図 4B)。このような立体像の差異が観察されたが、三次元再構築像は画像解析ソフト上で体積や表面積などの三次元情報を伴っており、各構造について形を記載する定性観察だけでなく、数値を比較する定量解析も行える。非ストレス区と塩処理区から各 3 細胞ずつを抽出して内部に含まれる葉緑体の定量値に基づいて比較すると、個々の体積値に有意な差はなかったが、体積と表面積の散布に基づく近似直線の傾きは塩処理区の方で低い値となった (図 4C)。塩ストレス区の葉緑体は体積あたりの表面積が小さくなるような形へと変化していたことが考えられ、形の“丸さ”を数値化した真球度を比較すると、塩処理区の方で有意に高い値を示していた (図 4D)。このように、細胞の中央付近の一断面で比べると葉緑体はあたかも膨らんだかのような印象を受けたが (図 1A, B)、細胞全体の三次元情報に基づいて比較すると、各葉緑体は伸び広がった形から丸まった形へと、体積の増減を伴わずに形状のみが変化していたことが新たに示された (図 4)¹⁹⁾。なお、観察した葉肉細胞については複雑にくびれていて形は多様であったものの、その体積や表面積の値に塩処理の有無で有意な差は見られなかった^{19,20)}。

葉緑体が塩ストレス下で丸い形状へと変化することが明らかになったが、その意義については不明である。丸くなることは光障害を避けるための積極的な回避機構として機能しているのか、それともストレスによる傷害の結果として丸くなってしまったのか、どちらかを明確に支持する根拠は見当たらず、さらなる調査が求められる。一方で、非ストレス条件下の葉緑体配置や形状については先行研究で示唆されてきたように、 C_3 植物としては比較的高いイネの光合成能力を裏付けるものであったと言える。まず、入れ物である

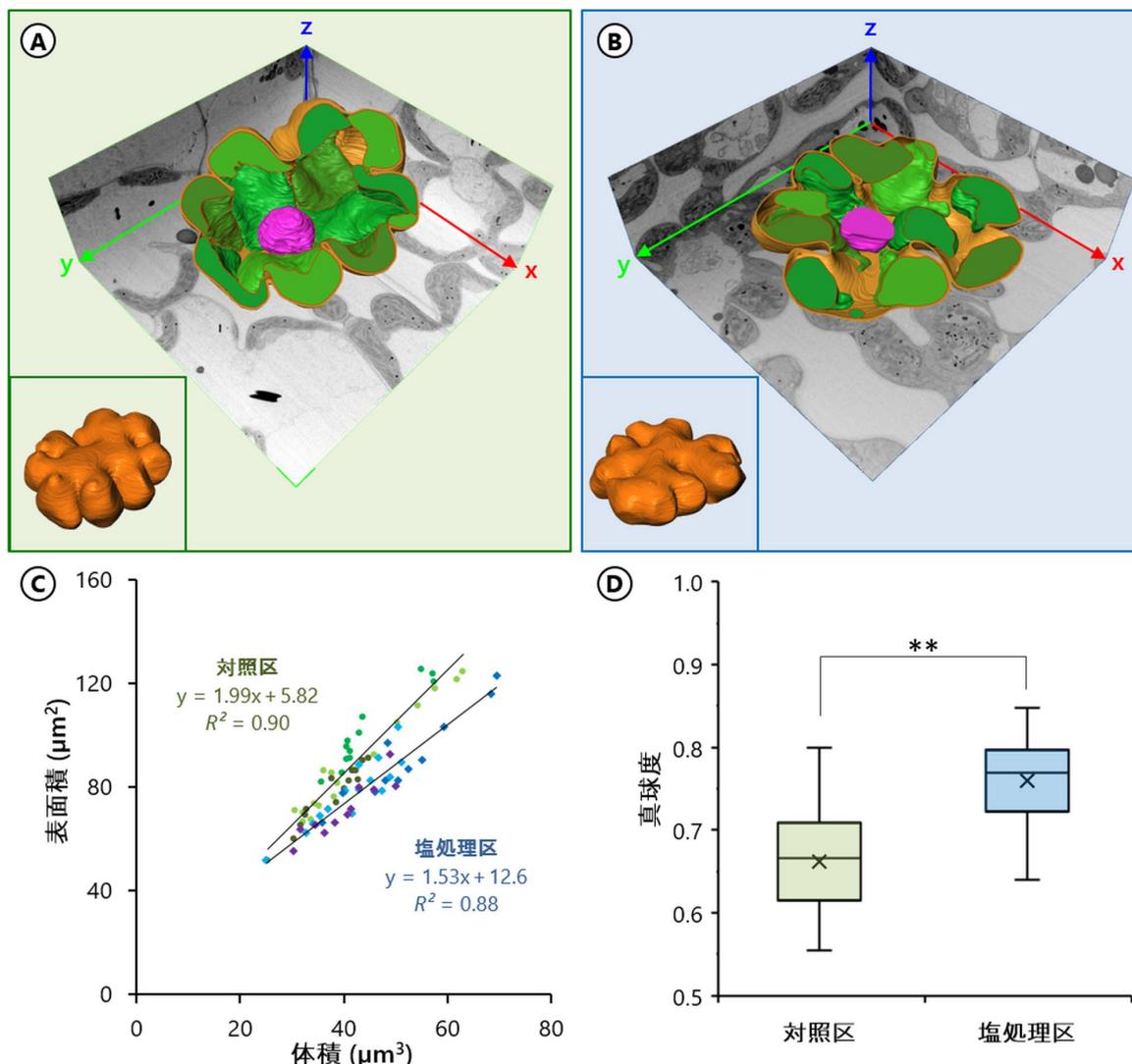


図4. 非ストレス条件（対照区）と塩ストレス条件（塩処理区）のイネ葉身の葉肉細胞の比較

A, B : 三次元再構築像（本誌30巻3号の表表紙を併せてご覧頂きたい）。対照区（A）および塩処理区（B）のイネ葉身をFIB-SEMによって50 nm 間隔で連続切削して撮影された断面の電子顕微鏡観察像（A : 176枚、B : 154枚）から再構築した。中央のカラー図は、1つの葉肉細胞における細胞壁（橙）、葉緑体（緑）、核（紫）を抽出した立体像であり、細胞の中央付近で傾斜切断して表示されている。左下のカラー図は切断前の外観（細胞壁）を示す。背景のモノクロ図は、実際に撮影した断面（xy）の1枚と、全撮影像を積み重ねて得られた仮想断面（xz, yz）を示す。なお、本実験で施した中程度の塩処理条件（100 mM NaCl、4日間）においては、チラコイド膜の膨潤や崩壊は見られなかった。C, D : 各処理区3細胞ずつに含まれる全葉緑体（対照区 n=44、塩処理区 n=37）の定量比較。C : 各葉緑体の体積と表面積の散布図。○は対照区を、◇は塩処理区を表し、同色の記号は同じ細胞に属していたことを示す。D : 各葉緑体の真球度の箱ひげ図。グラフ中の箱は中央値と第1および第3四分位点を、ひげは最小値と最大値を、×は平均値を示す。処理区間の中央値はMann-Whitney's U-test (** $P < 0.01$) で比較された。Oi *et al.* 2020より改変。

葉肉細胞そのものについて、同体積の真球や、xyz比の近似した周縁部にくびれない円柱を仮定して比較すると、単位体積あたりの表面積である比表面積が約2倍高い値となっており、細胞間隙との接触面積を拡張していることが確認された¹⁸。葉緑体は非ストレス条件では葉肉細胞の各く

びれに沿うように伸び広がっており、細胞間隙からの二酸化炭素の取り込みに適した配置になっていると言える。さらに、隣接する葉緑体どうしは密接しているため、それらの内側に位置することになるミトコンドリアから呼吸や光呼吸によって排出される二酸化炭素を捕捉していると

いう説²⁵を支持する配置であったとも言える。このように、イネの葉肉細胞の形状とその細胞内配置には光合成効率を高めるような特徴が見られ、塩ストレス条件下ではその利点を活かしていないように思われるが、推察の域を超えない。

4. 塩ストレス下で観察された葉緑体のポケット構造とシート構造

塩ストレスによって葉緑体本体は丸くなる形状変化が起きることが明らかになった一方で、葉緑体から局所的に突出した構造も形成されていた(図1B, 4B)。それらの断面はチラコイド膜を含まないストロマ領域を呈しており、先行研究において stromule (ストロミュール)^{10,11} や chloroplast protrusion^{12,13} と呼ばれる突出構造(図1B 矢尻)、あるいはストロマ領域が他の細胞内

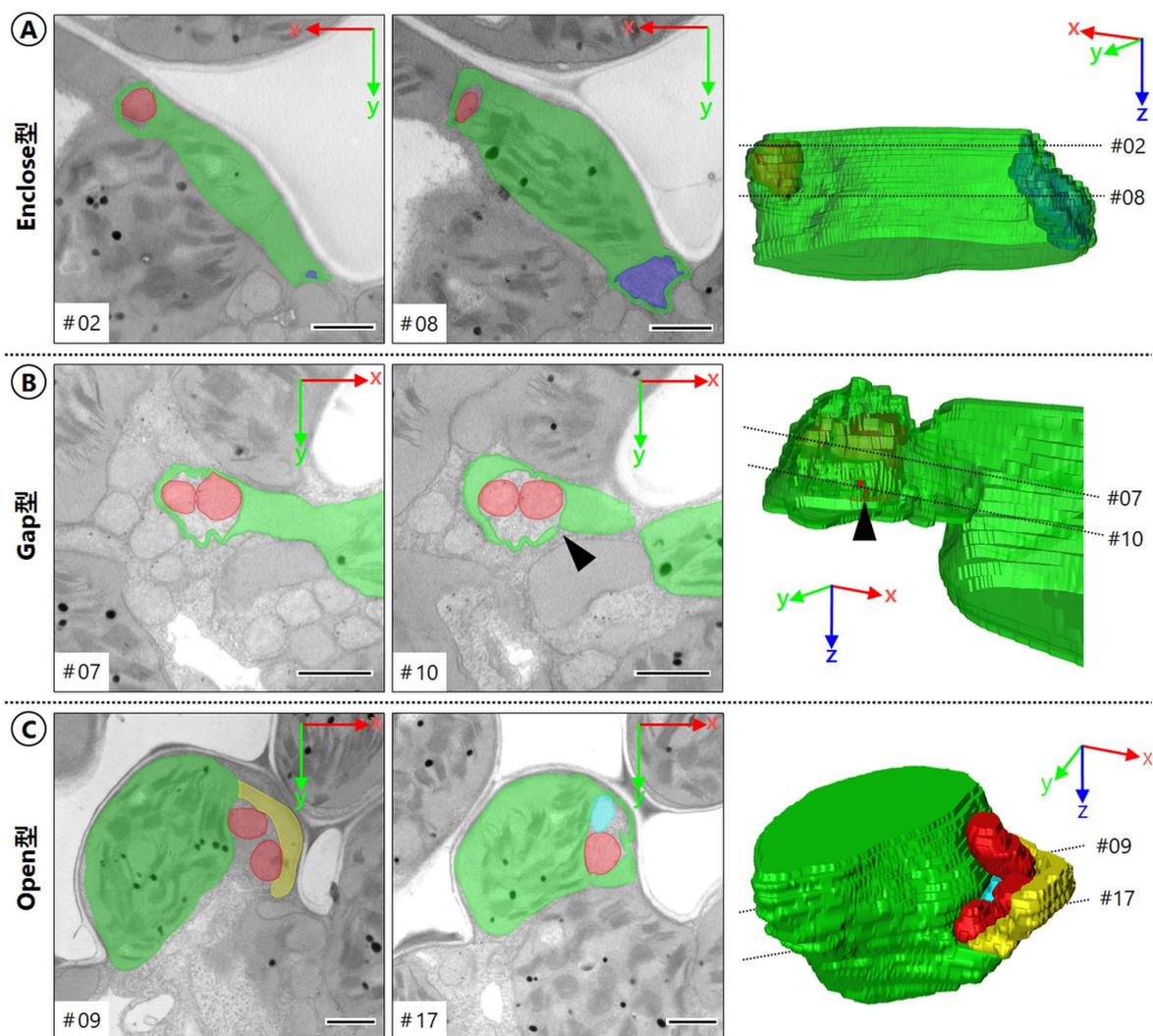


図5. 塩ストレス (100 mM NaCl, 4日間) 処理したイネ葉肉細胞で観察された3種類の葉緑体ポケット構造。TEMによる連続切片 (A : 20枚、B : 14枚、C : 27枚) の一部の断面像と三次元再構築像を示す。A: 「Enclose型」、葉緑体 (緑) にミトコンドリア (赤) と細胞質基質 (青) が完全に取り囲まれている。三次元再構築像を透過表示すると取り込まれた構造が内部に確認できる。B: 「Gap型」、2つのミトコンドリアが葉緑体に取り囲まれているが、一部に隙間 (矢尻) が生じている。C: 「Open型」、断面像ではミトコンドリアが葉緑体本体とそこから突出したストロミュール様の構造 (黄色) に挟まれているが (#09)、z軸方向に切り進めるとミトコンドリアとペルオキシソーム (水色) が葉緑体に四方を取り囲まれた構造として観察される (#17)。三次元像で把握すると、葉緑体からシート状の構造 (黄色) が突出し、それがミトコンドリアやペルオキシソームの一部を取り囲んでいる。TEM像のバーは1.0 μm 。

構造を取り囲むような chloroplast pocket (葉緑体ポケット)²⁶ と呼ばれる陥入構造であった (図 1B 矢印)。ストロミュールは包膜やストロマ領域を蛍光タンパク質で標識することによって光学顕微鏡でも観察されるため、近年は植物生理学の教科書にも掲載されるようになったが、葉緑体ポケットの報告例は電子顕微鏡による観察しかないためか知名度が低い。我々は電子顕微鏡観察の強みを活かし、特にポケット構造の方に注目して解析を進めた。まず、FIB-SEM による細胞全体の観察結果では、塩処理区から抽出された 3 つの葉肉細胞に含まれた計 37 (内訳: 11、15、11) 個の葉緑体のうち計 19 (内訳: 6、7、6) 個でポケットが確認され、その形成率は 51.9%±4.6 (平均値±標準偏差) であった¹⁷。一方、非ストレス区から抽出された 3 つの葉肉細胞に含まれた計 44 個の葉緑体には 1 つもポケットが確認されなかった (形成率 0%)¹⁷。このことから、葉緑体ポケット構造は塩ストレス環境下で多く形成されることが示された。

次に、FIB-SEM 観察時と同様に固定および樹脂包埋した塩処理区の葉片の試料ブロックを用い、TEM による高倍率観察で更なる調査を行った (図 5)¹⁷。計 10 個の葉片ブロックについて、ウルトラマイクロトームを用いて 100 nm 厚の連続切片をそれぞれ 50 枚程度作製して観察を行い、ポケット構造を有する計 70 個の葉緑体をランダムに選択して三次元再構築した。その結果、様々な葉緑体ポケットが観察されたが、立体形状に基づいて 3 つの型に分類した。1 つ目は、TEM で観察された各断面像においても、三次元再構築された立体像においても、葉緑体のストロマ領域が他のオルガネラを完全に取り囲む形状で、これを「Enclose 型」と名付けた (図 5A)。2 つ目は、大半の断面像においては Enclose 型と同様にストロマ領域が他のオルガネラを完全に囲んでいたが、部分的に途切れのある断面像が観察され、三次元再構築像においてもポケットの両端は閉じて他のオルガネラを完全に取り囲んでいたが、途中にわずかな隙間が生じており、この形状を「Gap 型」と名付けた (図 5B)。3 つ目は、細長い突出構造が葉緑体本体との間に他のオルガネ

ラを挟むように配置する断面が観察されるのに続き、Enclose 型のようにポケット構造がオルガネラ全体を取り囲んでいる断面が連続して観察され、三次元再構築すると Enclose 型や Gap 型とは異なってポケットの片側が開いている形状を現し、これを「Open 型」と名付けた (図 5C)。Enclose 型、Gap 型、Open 型ともに、突出部分にチラコイド膜は含まれずストロマで満たされている点がストロミュールと類似しており、断面は細い管状に見えるが、三次元像としては比較的広いシート状の構造がポケットを形成していることが示された。当初の仮説では、塩ストレス下においてストロミュールのような管状のものが他のオルガネラを取り囲む過程を想定していたが (図 2)、葉緑体はストロマに満たされたシート構造を形成して他のオルガネラを取り囲むという新しい仮説を提唱することとなった¹⁷。なお、葉緑体本体に密着していないミトコンドリアがポケット構造に取り囲まれていた場合も見られたことから (図 5B)、葉緑体は自身から離れた場所に位置するオルガネラも取り囲むことができるようであった。

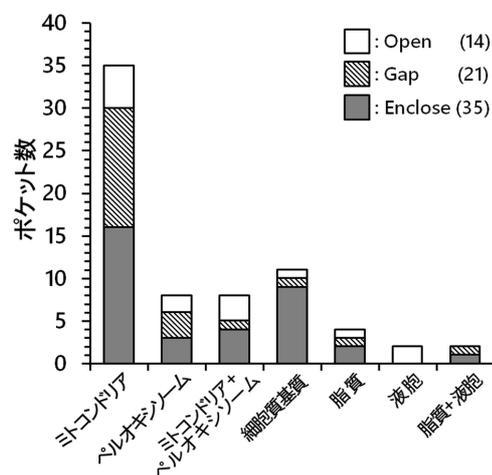


図6. 塩ストレス (100 mM NaCl, 4日間) 処理したイネ葉肉細胞で観察された葉緑体ポケットの内容物と種類

ポケットを形成していた葉緑体70個をランダムに選出し、連続切片画像を撮影して分類した。形状に基づく3つの型分けごとの総数は右上にまとめた。

Yamane *et al.* 2018の表より改変。

さらに、観察された計 70 個の葉緑体ポケット構造について、3 つの型それぞれの割合と、取り囲まれている内容物の種類も調べた (図 6)¹⁷。形状の型については、全 70 個のうち半数の 35 個が **Enclose** 型であり、**Gap** 型が 21 個、**Open** 型は 14 個であった。つまり、8 割 (35+21/70 個) のポケットは両端が閉じており、オルガネラがほぼ完全に葉緑体に取り囲まれていた。葉緑体に取り囲まれる内容物の種類で分類すると、最も多かったのはミトコンドリアのみが取り囲まれているものであり、全 70 個のうち半数の 35 個で観察された。また、ミトコンドリアとペルオキシソームの両方が 1 つのポケットに取り囲まれているものも 8 個あり、併せて約 6 割のポケットがミトコンドリアを取り囲んでいた。ペルオキシソームのみが取り囲まれているポケットは 8 個あり、併せて約 2 割のポケットがペルオキシソームを取り囲んでいた。ミトコンドリアやペルオキシソームなど明確な構造物を含まず細胞質基質のみを取り囲んでいる事例も全体の 16% におよぶ 11 個観察された。脂質や液胞を取り囲んでいるものも併せて全体の約 1 割ではあったが観察された。これらの結果から、塩ストレス下において、葉緑体はストロマに満たされたシート構造を形成することによって他のオルガネラや細胞質基質を取り囲んで接触面積を増加させ、両者の間で情報や代謝のやり取りを促進してストレスに対処している可能性が示唆された。

5. おわりに

試料の連続切削に基づく三次元再構築法により、主要穀物であるイネの光合成生産の場となる葉肉細胞とその内部の葉緑体の形状が実体像として示された。本研究は高等植物の光合成細胞の細胞全体を電子顕微鏡レベルで三次元再構築した初めての例であり¹⁸、また半世紀以上前から断面としては捉えられていた葉緑体ポケットの立体像を初めて明らかにした例でもある¹⁷。電子顕微鏡の断面像 (TEM の切片像) は解釈が難しく、専門家であっても立体的把握ができていない場合もあるが、三次元再構築を行えば視認性が各段

に高まる。得られた三次元情報から 3D プリンタで立体模型を作製すれば細胞構造を手にとって議論できるようにもなり^{注2}、専門外の人にも興味や関心を抱いてもらいやすくなった。イネの光合成特性や、葉緑体の塩ストレス応答などの研究を進める上で、細胞内の全体像や葉緑体の立体像を理解しやすくなった点で一定の貢献ができたと思われる。しかし、現時点では葉緑体の形態変化は捉えられたものの、その制御機構や生理的意義は解明できていない。今後、電子顕微鏡レベルでの **whole cell imaging** と蛍光顕微鏡を用いた **live cell imaging** による経時観察の結果を照らし合わせていくことや、三次元解析で得られる定量データを植物の生育時の様々な生理的データと比較していくことによってさらに理解が深まることを期待する。

謝辞

本総説で紹介した FIB-SEM 観察は、文部科学省委託事業ナノテクノロジープラットフォーム課題として名古屋大学微細構造解析プラットフォームの支援を受けて実施され、特に名古屋大学超高压電子顕微鏡施設の荒井重勇博士、榎本早希子氏、中尾知代氏に多大なるご助力を頂いた。また、延べ数千枚にも及ぶ画像のトレース作業に尽力頂いた谷澤翼氏にも御礼申し上げます。

Received Feb 28, 2021; Accepted Mar 9, 2021; Published Apr 30, 2021.

参考文献

1. Munns, R. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell Environ.* **25**, 239–250 (2002).
2. Chaves, M. M., Flexas, J. & Pinheiro, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* **103**, 551–560 (2009).
3. Mitsuya, S., Kawasaki, M., Taniguchi, M. & Miyake, H. Light dependency of salinity-induced chloroplast degradation. *Plant Prod. Sci.* **6**, 219–223 (2003).

注 2: 本誌 30 巻 3 号の裏表紙参照

4. Yamane, K., Rahman, M. S., Kawasaki, M., Taniguchi, M. & Miyake, H. Pretreatment with antioxidants decreases the effects of salt stress on chloroplast ultrastructure in rice leaf segments (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* **7**, 292–300 (2004).
5. Yamane, K., Rahman, M. S., Kawasaki, M., Taniguchi, M. & Miyake, H. Pretreatment with a low concentration of methyl viologen decreases the effects of salt stress on chloroplast ultrastructure in rice leaves (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* **7**, 435–441 (2004).
6. Flowers, T. J., Munns, R. & Colmer, T. D. Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Ann. Bot.* **115**, 419–431 (2015).
7. 三屋史朗 & 三宅博. 植物の塩ストレス障害はどのようにして起こるのか. *化学と生物* **42**, 309–312 (2004).
8. Rahman, S., Matsumuro, T., Miyake, H. & Takeoka, Y. Salinity-induced ultrastructural alterations in leaf cells of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* **3**, 422–429 (2000).
9. Yamane, K., Kawasaki, M., Taniguchi, M. & Miyake, H. Differential effect of NaCl and polyethylene glycol on the ultrastructure of chloroplasts in rice seedlings. *J. Plant Physiol.* **160**, 573–575 (2003).
10. Köhler, R. H. & Hanson, M. R. Plastid tubules of higher plants are tissue-specific and developmentally regulated. *J. Cell Sci.* **113**, 81–89 (2000).
11. Gray, J. C. *et al.* Plastid stromules are induced by stress treatments acting through abscisic acid. *Plant J.* **69**, 387–398 (2012).
12. Bourett, T. M., Czymmek, K. J. & Howard, R. J. Ultrastructure of chloroplast protuberances in rice leaves preserved by high-pressure freezing. *Planta* **208**, 472–479 (1999).
13. Yamane, K., Mitsuya, S., Taniguchi, M. & Miyake, H. Salt-induced chloroplast protrusion is the process of exclusion of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from chloroplasts into cytoplasm in leaves of rice. *Plant. Cell Environ.* **35**, 1663–1671 (2012).
14. Ishida, H., Izumi, M., Wada, S. & Makino, A. Roles of autophagy in chloroplast recycling. *Biochim. Biophys. Acta* **1837**, 512–521 (2014).
15. Yamane, K., Oi, T. & Taniguchi, M. Three-dimensional analysis of chloroplast protrusion formed under osmotic stress by polyethylene glycol in rice leaves. *Plant Prod. Sci.* **23**, 160–171 (2020).
16. Yamane, K., Kawasaki, M., Taniguchi, M. & Miyake, H. Correlation between chloroplast ultrastructure and chlorophyll fluorescence characteristics in the leaves of rice (*Oryza sativa* L.) grown under salinity. *Plant Prod. Sci.* **11**, 139–145 (2008).
17. Yamane, K. *et al.* Three-dimensional ultrastructure of chloroplast pockets formed under salinity stress. *Plant. Cell Environ.* **41**, 563–575 (2018).
18. Oi, T. *et al.* Three-dimensional intracellular structure of a whole rice mesophyll cell observed with FIB-SEM. *Ann. Bot.* **120**, 21–28 (2017).
19. Oi, T. *et al.* Three-dimensional ultrastructural change of chloroplasts in rice mesophyll cells responding to salt stress. *Ann. Bot.* **125**, 833–840 (2020).
20. Ouk, R., Oi, T. & Taniguchi, M. Three-dimensional anatomy of mesophyll cells in rice leaf tissue by serial section light microscopy. *Plant Prod. Sci.* **23**, 149–159 (2020).
21. 大井崇生, 山根浩二 & 谷口光隆. FIB-SEM を用いた三次元再構築法によるイネ葉肉細胞と葉緑体の形態解析. *Plant Morphol.* **32**, 19–25 (2020).
22. 大井崇生. 連続切片-光学顕微鏡法によるイネ葉肉細胞と葉緑体の三次元形態解析. *アグリバイオ* **4**, 564–568 (2020).
23. Wada, M. & Kong, S.-G. Actin-mediated movement of chloroplasts. *J. Cell Sci.* **131**, jcs210310 (2018).
24. Yamada, M., Kawasaki, M., Sugiyama, T., Miyake, H. & Taniguchi, M. Differential positioning of C₄ mesophyll and bundle sheath chloroplasts: aggregative movement of C₄ mesophyll chloroplasts in response to environmental stresses. *Plant Cell Physiol.* **50**, 1736–1749 (2009).
25. Sage, T. L. & Sage, R. F. The functional anatomy of rice leaves: implications for refixation of photorespiratory CO₂ and efforts to engineer C₄ photosynthesis into rice. *Plant Cell Physiol.* **50**, 756–772 (2009).
26. Gielwanowska, I. & Szczuka, E. New ultrastructural features of organelles in leaf cells of *Deschampsia antarctica* Desv. *Polar Biol.* **28**, 951–955 (2005).

Effects of salinity stress on the intracellular arrangement and three-dimensional structure of chloroplasts in the rice mesophyll cells

Takao Oi¹, Koji Yamane² and Mitsutaka Taniguchi¹

¹Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University

²Graduate School of Agriculture, Kindai University

トピックス

変動光に対する光合成応答メカニズム —CO₂ 拡散プロセスに焦点をあてて

¹ 東京大学 大学院農学生命科学研究科

² 日本学術振興会

迫田 和馬^{1,2*}、矢守 航¹

光合成は植物の物質生産の根幹となる生理的プロセスである。野外環境では光強度は短時間で大きく変動する。弱い光から強い光への変化に対して、光合成速度は鋭敏に応答できず、緩やかに上昇しながら最大値に達する。この応答は光合成誘導と呼ばれ、野外環境における植物成長を決定づける重要な要因の 1 つである。変動光環境における光合成の応答メカニズムを明らかにすることは、野外で生きる植物の物質生産プロセスを理解するうえで不可欠となる。本稿では、変動光に対する光合成応答メカニズムを CO₂ 拡散プロセスに焦点をあてて解説するとともに、その知見に基づく光合成改良に向けた取り組みについて最新の動向を紹介する。

1. はじめに

陸上植物が行う光合成は、表皮組織にある小さな穴-気孔-を介して大気中の CO₂ を葉内に取り込み、葉緑体において太陽光エネルギーを利用して CO₂ から糖やデンプンを合成するプロセスである。光合成は地球上の炭素循環の主要フローの一つであり、人類の営みに欠かすことのできない作物の物質生産の根幹となる反応系でもある¹。近年、世界人口は急速な増加をつづけ、2050 年には 95 億人に到達すると予想されている。これに伴い増加する食料需要を満たすためには、作物などの主食生産量を現在よりも 85% 増加させなければならないと試算されている²。個葉の光合成は、作物の収量を決定する要因の 1 つであり、光合成改良による作物の生産性向上を目指した研究が長年行われてきた³。光合成改良に向けた戦略を立てるうえで、光合成を制御するメカニズムの理解は必須となる。これはすなわち、ある環境下における光合成の実態を捉え、光合成を律速する要因をガス交換特性や酵素活性などの生化学的な

特性、ひいては遺伝子のレベルで明らかにすることを意味する。Farquhar et al., (1980)⁴ による光合成の生化学モデルの提唱を皮切りに、その理解は飛躍的に進んできた。CO₂ 固定に関わる光合成の律速要因は (1) 大気から葉緑体ストロマまでの CO₂ 拡散プロセスと (2) 葉緑体内での CO₂ 固定にかかわる生化学的プロセスに大別される。これまで、各プロセスに関わる因子、例えば気孔や Rubisco の特性を改変することで、光合成改良による植物の生産性向上の可能性が示されてきた⁵⁻¹⁰。

光合成は環境要因の変化に敏感に反応するため、その環境応答が詳細に解析されてきた。特に、光は光合成を駆動する最も重要な環境要因であり、光強度¹¹ や光質¹²⁻¹⁴ が光合成に与える影響について数多くの知見が蓄積されている。光合成研究の歴史からみると、一定の光強度を想定した定常状態にある光合成に着目した例が多い¹⁵。一方、野外では植物を取り巻く環境は刻々と変化しており、光強度は秒未満～数分のスケールで激し

*連絡先 E-mail: sakoda@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

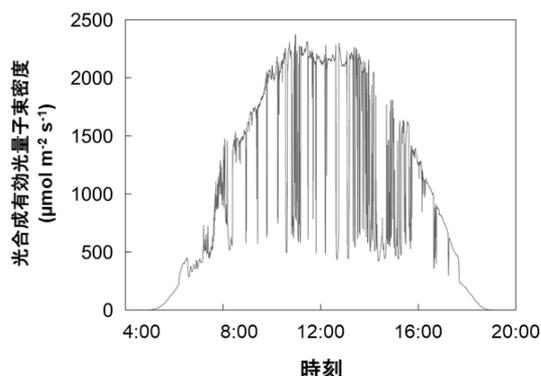


図1. 野外環境における光強度の日変動

京都大学大学院農学研究科附属京都農場において、2020年8月14日4:00~20:00間の光合成有効光子束密度 (PPFD) を10秒間隔で測定した。PPFDは短時間に大きく変動しながら、日中には2000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ もの強度まで到達することがわかる。

く変動する^{16,17} (図1)。変動光環境における光合成の応答メカニズムを明らかにすることは、野外で生きる植物の成長が決定されるプロセスを理解するうえで不可欠となる。1970年頃には、木本植物の林床や作物の群落内における“サンフレック”が注目されはじめ、野外における光の揺れとそれが引き起こす非定常な光合成の重要性が認識されるようになった¹⁸⁻²⁰。その後、木本植物に加えて、シロイヌナズナやタバコといったモデル植物、イネ、ダイズ、コムギやトマトなどの作物を対象に、変動光に対する光合成応答に関する研究が勢力的に行われてきた^{9,21-25}。

弱光から強光への変化に対し、光合成速度は鋭敏に応答できず、緩やかに上昇しながら最大値に達する。この応答は光合成誘導と呼ばれ、気孔を介した葉内への CO_2 拡散のしやすさ^{8,26,27}や、葉緑体における電子伝達^{28,29}またはカルボキシレーション反応³⁰⁻³²の活性状態に強く影響されることが明らかとなってきた。また筆者らの報告も含めて、近年には変動光環境における光合成改良を目指した研究例が増えつつある^{8,9,33}。本稿では、光合成誘導の制御メカニズムを、律速要因の1つである CO_2 拡散プロセスに焦点を当てて解説し、さらに変動光環境における光合成改良の成功例も交えながら最新の動向を紹介する。

2. 光合成誘導に対する気孔を介した CO_2 拡散の律速

光合成において、 CO_2 は大気から葉面境界層や気孔、葉内細胞間隙、葉肉細胞の細胞壁と細胞膜、葉緑体包膜を介して葉緑体ストロマへと拡散し、各抵抗の総和により拡散のしやすさ (コンダクタンス) が決定される³⁴ (図2)。植物は、気孔を介して CO_2 分子を葉内へ取り込むとともに、蒸散により H_2O 分子を大気へと放出する。つまり、気孔は光合成による炭素獲得と水利用のバランスを決定する重要な生理的機能を持つ³⁵。一定の光強度下で定常状態にある光合成速度は、気孔を介した CO_2 拡散のしやすさ (気孔コンダクタンス; g_s) と強い正の相関を示すことが多数の作物種で報告され³⁶⁻³⁹、特に土壌や大気的水分含量が低くなるような環境でその傾向は顕著となる⁴⁰⁻⁴²。また、変動光条件においても g_s が光合成速度を律速することは木本植物や作物など様々な植物種で報告されている⁴³⁻⁴⁵。光強度の変化に伴う g_s の応答は、一般に CO_2 固定に関わる生化学的プロセスの応答よりも遅く、誘導過程の全範囲にわたって光合成の律速要因となりうる²⁶。イネやキャッサバでは、光合成誘導の遅速は品種により異なり、この違いは g_s の誘導反応の遅速と対応することも報告されている^{21,46}。光合成誘導における気孔の律速性は、強光照射前の暗黒あるいは弱光条件における g_s の初期値や、誘導時の生化学的プロセスの活性状態、および最大光合成速度により影響を受ける⁴⁷。 g_s の初期値が低いほど気孔による律速性が高く、光合成誘導が鈍化する場合が多い^{8,32,48}。これは基質である CO_2 の供給量が制限されることに加えて、低い CO_2 供給量によって生化学的プロセスの活性化が制限されることに起因する^{43,49,50}。一方、生化学的プロセスの活性の鈍化や低下によって、光合成の誘導反応性の鈍化や最大速度低下が生じた場合、気孔による光合成への律速性は小さくなる。

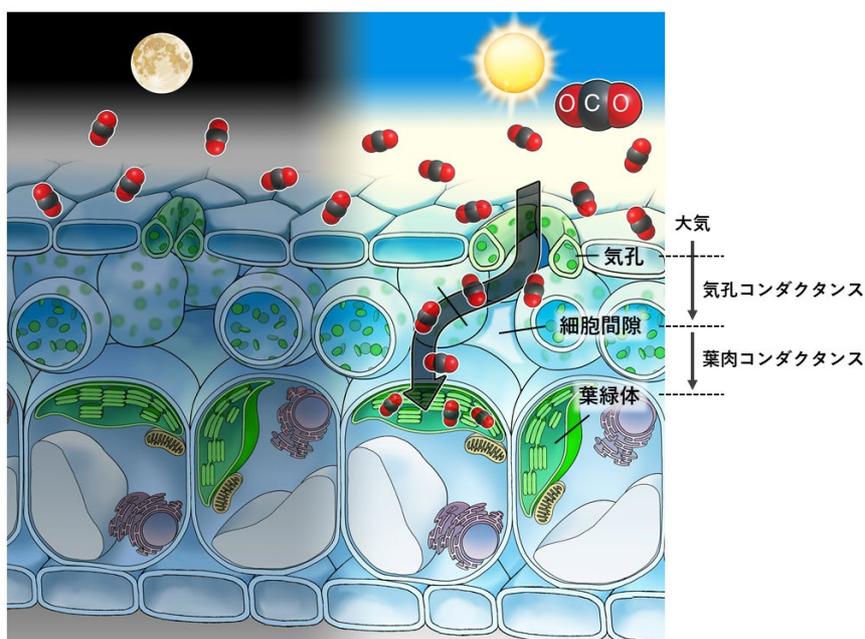
2-1. 気孔の形態と光合成誘導との関係

気孔を介した CO_2 拡散は、気孔の形態的特性、すなわち一つ一つの気孔の大きさや形状 (ダンベル型と腎臓型)、単位葉面積当たりの数 (気孔

密度) に強く影響される⁵¹。これまで複数の植物種において、気孔密度の増加により定常状態における g_s や光合成速度が増加し^{52,53}、反対に気孔密度の低下により両者が低下することが報告されている⁵⁴⁻⁵⁶。しかし、気孔密度の増加が必ずしも物質生産性の向上につながるわけではなく、むしろ気孔密度の低下により成長量やバイオマスが増加したと報告する例さえある⁵⁷。考慮すべきこととして、気孔の大きさと密度は一般にトレードオフの関係にあり、上述した結果は気孔の大きさの違いによる影響も含んでいると考えられる^{58,59}。このように、気孔密度や大きさと光合成や物質生産性との関係はいまだ議論の分かれるトピックである。加えて、気孔の配置が CO_2 拡散に与える影響も無視することはできない。多くの植物種では、気孔形成において気孔間に1つ以上の表皮細胞が形成される one-cell spacing ルールが成立す

るが、何らかの要因によりこれが崩れると複数の気孔が集合したクラスタリング現象が観察される⁶⁰。気孔クラスタリングが生じると、葉肉細胞と気孔の配置のミスマッチにより、 g_s および光合成速度が低下することが示唆されている^{61,62}。

気孔の形態的特性は、変動光環境における g_s 、光合成速度、そして物質生産性にどのような影響を及ぼすのか？バンクシア属の複数種間を比較すると、より小さい気孔を有する種で g_s の誘導反応性が速くなると報告されているが⁶³、イネ属の複数種間では反対の結果が報告されている⁶⁴。McAusland et al., 2016²⁷は、気孔の形状が異なる13の植物種を用いた解析により、ダンベル型気孔を有する植物種が腎臓型気孔を有する種と比較して g_s の誘導反応性が速い傾向にあることを示している。また、ベゴニア種の中で気孔クラスタリングが生じる系統は、生じない系統と比較し



CO₂分子は気孔を介して葉内に取り込まれ、さらに葉肉細胞の間隙から細胞壁、細胞膜、葉緑体包膜を通して葉緑体ストロマへと拡散する。

図2. 光合成における大気から葉緑体ストロマへのCO₂拡散プロセス

光合成において、CO₂は葉表面上の小さな穴である気孔を介して葉内に取り込まれ、さらに細胞間隙、葉肉細胞の細胞壁、細胞膜、葉緑体包膜を通り、最終的に葉緑体ストロマへと拡散する。気孔を介した大気から葉内へのCO₂拡散のしやすさを気孔コンダクタンス、葉内細胞間隙から葉緑体ストロマへのCO₂拡散のしやすさを葉肉コンダクタンスと呼ぶ。暗黒状態から葉に強光が照射されると気孔が開き、同時に葉肉細胞内の葉緑体の配置やタンパク質の活性化が起こると予想される。これにより、大気から葉緑体ストロマへのCO₂拡散コンダクタンスが時間の経過とともに緩やかに上昇していく。

て g_s の誘導反応性が鈍化することが報告されている⁶⁵。しかし、これらの先行研究では比較した対象間の遺伝的背景が大きく異なるため、気孔以外の生理的特性の違いが影響している可能性も考えられる。そこで、イネやシロイヌナズナの単一植物種において、気孔密度を改変した形質転換系統を用いた解析が行われた。これまでに、気孔密度は g_s や光合成の誘導反応性に影響を与えると報告された²⁶。一方で、影響を与えないと報告した例もある^{66,67}。筆者らは、シロイヌナズナにおいて気孔形成のポジティブレギュレーターである STOMAGEN を過剰発現した系統 (ST-OX) と気孔形成のネガティブレギュレーターである Epidermal patterning factor 1 (EPF1) をノックアウトした系統 (*epf1*) を用いた解析を行い、気孔の密度が g_s や光合成速度の誘導反応性に大きく影響し、気孔の大きさの影響は比較的小さいことを

明らかにした⁸。具体的には、野生型と比較して気孔密度が約 3.7 倍増加した ST-OX、約 1.5 倍増加した *epf1* では g_s と光合成速度の誘導反応が迅速化し、さらに *epf1* では変動光環境における地上部乾物重が有意に増加することが分かった (図 3)。ST-OX では気孔密度の増加に伴う大幅な蒸散量の増加により乾燥ストレスが生じ、地上部乾物重の増加にはつながらなかった可能性が考えられる。以上の結果は、過度な水損失を起こさない気孔密度の増加が野外環境における作物の生産性向上に寄与する可能性を示している。

2-2. 気孔の開閉と光合成誘導との関係

気孔の形態的特性に加えて、 g_s の決定に関わる重要な要因がその開度である。気孔は土壌や空気中の水分含量、光、CO₂ 濃度などを含む環境要因の変化に応答し、その開閉が制御される⁶⁸。光に

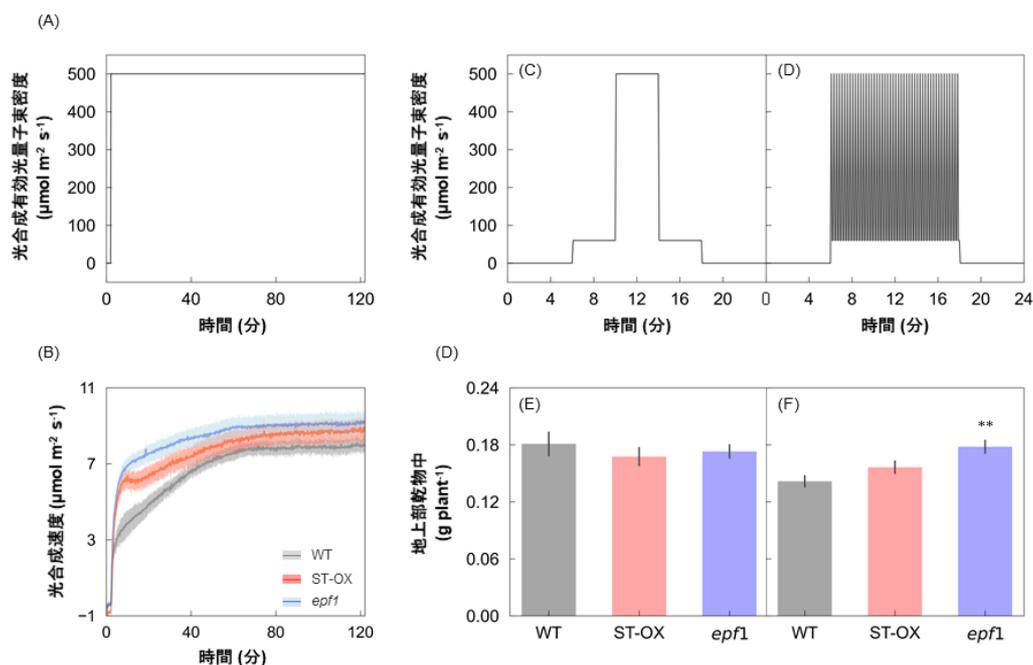


図3. 気孔密度の増加が変動光環境における植物の光合成と物質生産性に与える影響

シロイヌナズナのエコタイプ Col-0 の野生型系統 (WT; 灰色)、気孔形成のポジティブレギュレーター STOMAGEN の過剰発現系統 (ST-OX; 赤色)、および気孔形成のネガティブレギュレーター Epidermal patterning factor 1 (EPF1) のノックアウト系統 (*epf1*; 青色) を (A) 一晩暗黒条件に順化した後、光合成有効光子束密度 500 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光を照射した際の (B) 光合成速度の推移を示す ($n=3$)。また、これら 3 系統を (C, E) 定常光および (D, F) 変動光環境で栽培し、播種 44 日後の地上部乾物重を測定した ($n=4$)。WT と比較して、ST-OX と *epf1* の光合成誘導は迅速化し、さらに *epf1* の変動光条件における地上部乾物重は有意に増加した。図中の縦棒は標準誤差を表す。棒グラフ上部の**は、Dunnett's test による 1%水準での WT との有意差を示す。

より誘導される気孔開口では、まず青色光をフォトトロピンが受容すると自己リン酸化され、それをシグナルとした H^+ -ATPase の活性化により孔辺細胞膜の過分極が生じ、内向き整流性 K^+ チャネルを介して K^+ が孔辺細胞内に流入する。孔辺細胞の浸透ポテンシャルの低下により水が流入することで膨圧が上昇し、気孔が開口する⁶⁹。一方、乾燥ストレス条件下では、アブシジン酸などの生体内シグナル因子の作用により孔辺細胞の細胞膜にある S 型陰イオンチャネル SLAC1 (SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1) が活性化し、細胞膜の脱分極により外向き整流性 K^+ チャネルを介して K^+ が孔辺細胞外に流出し、気孔が閉鎖する⁷⁰。また、SLAC1 は SnRK2 型キナーゼである OST1 (OPEN STOMATA 1) によるリン酸化によって活性化される⁷¹。ARABIDOPSIS H^+ -ATPASE 2 (AHA2) を孔辺細胞特異的に過剰発現するシロイヌナズナ形質転換系統は、定常光条件における g_s 、光合成速度、およびバイオマスが野生型系統と比較して有意に増加することが報告されている⁷²。また最近、細胞膜局在性 H^+ -ATPase を過剰発現するイネ形質転換系統は、野生型品種と比較して g_s や光合成速度が増加し、圃場環境における収量が 33% 増加することが報告された¹⁰。 H^+ -ATPase の細胞膜局在に関わる PATROL1 (PROTON ATPASE TRANSLOCATION CONTROL 1) の過剰発現系統でも同様に、定常光条件における g_s 、光合成速度およびバイオマスが野生株系統よりも有意に増加し、さらに、 g_s の誘導反応が速くなることが明らかとなっている⁷³。SLAC1 を機能欠損するイネ変異体では気孔閉鎖が阻害されるため、定常光条件における g_s および光合成速度が野生型品種と比較して有意に増加することが報告されている⁷⁴。

上述した気孔開閉に関わる因子は、変動光に対する g_s や光合成誘導の制御においても重要な役割を担うことは想像に難くない。そこで、筆者らはシロイヌナズナの OST1、SLAC1 のノックアウト系統 (*ost1*、*slac1*)、また PATROL1 の過剰発現系統 (PATROL1-OX) を用いて、変動光環境における光合成誘導を解析した⁹。これにより、*ost1*、

slac1 および PATROL1-OX は、野生型系統と比較して光合成誘導が迅速化することを明らかにした。同様に、SLAC1 をノックアウトしたイネ変異系統についても、野生型品種と比較して光合成誘導が迅速化することを報告している⁴⁴。光合成誘導が迅速化した要因として、*ost1*、*slac1* では気孔開度が強光照射前においても高い、すなわち g_s の初期値が高いことが考えられる一方、PATROL1-OX では g_s の初期値は野生型系統と同程度であり、 g_s の誘導反応性が速いことが考えられた。そして、*ost1* および PATROL1-OX は、変動光条件におけるバイオマスが野生型系統と比較して有意に増加した。乾燥ストレスが頻発する野外環境では、炭素の獲得と水利用の適度なバランスを維持することが、作物の生産性を安定化するうえで重要となる。Papanatsiou et al., (2019)³³ は、青色光誘起 K^+ チャネル (BLINK1) をシロイヌナズナの孔辺細胞特異的に高発現することにより、光強度の変化に伴う気孔開閉が迅速化し、変動光環境において水利用効率を低下させることなく物質生産性を向上させることが可能であると報告している。筆者らの解析では、*ost1*、*slac1* は変動光条件において常に g_s が高く、蒸散量の増加に伴い水利用効率が低下した。一方、PATROL1-OX は変動光環境において迅速な気孔開閉を示し、水利用効率を維持したまま高い生産性を示すことが明らかとなった。よって、迅速な気孔開閉は、野外環境における作物の生産性および水利用効率の向上につながる重要な特性だと考えられる。

植物は環境の変化に対して、短期的には気孔の開度を、中～長期的には気孔の形態的特性を変化させることで、炭素獲得と水利用のバランスを維持する⁷⁵。気孔の大きさや形状、密度、配置、またその開閉に関わる諸特性と光合成との関係について統合的な理解を深めていくことが、野外環境における作物生産向上の鍵となることは間違いないだろう。

3. 葉内の細胞間隙から葉緑体への CO_2 拡散の律速性

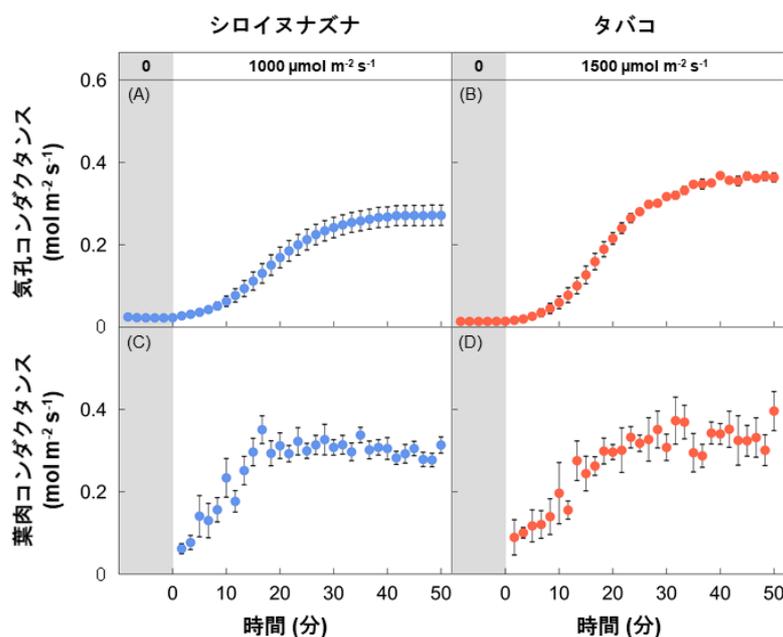


図4. 暗黒から強光条件への変化に対する気孔コンダクタンスと葉肉コンダクタンスの誘導反応
 一晚暗黒条件においた (A, C) シロイヌナズナと (B, D) タバコの成熟葉に強光を照射した際の、(A, B)気孔コンダクタンスと (C, D) 葉肉コンダクタンスの推移を示す (n=3-8)。2つの植物種において、暗黒から強光条件への変化に対して気孔コンダクタンスと葉肉コンダクタンスは緩やかに増加し、最終的に一定状態に達するという誘導反応を示した。各プロット上の縦棒は標準誤差を示す。図内の灰色部および白色部は、光合成有効量子束密度が 0 および 1000 または 1500 μmol photons m⁻² s⁻¹であることを示す。

葉内の細胞間隙から葉緑体ストロマまでの CO₂ 拡散のしやすさ (葉肉コンダクタンス; g_m) は、g_s と同程度かあるいはそれ以上に光合成を制限する要因として認識されてきた^{76,77}。Farquhar et al., (1980)⁴ の生化学モデルでは、カルボキシレーション反応、電子伝達、またはトリオースリン酸利用反応のいずれかが光合成速度を律速すると仮定しており、律速要因に応じて、光合成速度は以下の式によって表される。

(式 1; カルボキシレーション反応律速)

$$A_c = \frac{V_{c_{max}}(C_c - \Gamma^*)}{C_c + K_c(1 + O/K_o)} - R_d$$

(式 2; 電子伝達律速)

$$A_j = \frac{J(C_c - \Gamma^*)}{4C_c + 8\Gamma^*} - R_d$$

(式 3; トリオースリン酸利用反応律速)

$$A_p = 3TPU - R_d$$

V_{c_{max}} は最大カルボキシレーション反応速度、J は電子伝達速度、TPU はトリオースリン酸の利用反応速度、C_c と O は葉緑体ストロマにおける CO₂ および O₂ 濃度、R_d は光照射下での呼吸速度、Γ* は R_d を無視した場合の CO₂ 補償点、K_c と K_o は Rubisco の CO₂、O₂ に対するミカエリスメンテン定数をそれぞれ表す。このとき、C_c と葉内細胞間隙の CO₂ 濃度 (C_i) が等しいと仮定し、光合成速度と C_i の関係から V_{c_{max}} や J が算出されるケースが多いが、実際には C_c は C_i よりも低いいため、V_{c_{max}} や J_{max} が過小評価されることになる⁷⁸。よって、光合成の制御メカニズムを理解するうえで、g_m も含めた CO₂ 拡散のコンダクタンスを評価することが不可欠となる。g_m の解析手法として、ガス交換測定に基づくカーブフィッティング法⁷⁹、ガス

交換とクロロフィル蛍光の同時測定に基づくクロロフィル蛍光法⁸⁰、ガス交換と炭素安定同位体分別⁸¹の同時測定による炭素安定同位体法などが提案されている。これらの手法を用いて、 g_m の光合成に対する律速性^{82,83}や、 g_m の種間あるいは種内変異^{38,84-86}が明らかにされてきた。さらに、 CO_2 濃度⁸⁷や土壌水分量⁸⁸、温度^{89,90}、光強度^{91,92}などの環境要因の変化に対する g_m の応答も報告されている。このうち、光強度の変化に対する g_m

g_m の解析手法のうち最も測定精度が高いとされるのは炭素安定同位体法⁸¹であるが、測定の簡便さなどの理由から、 g_m の光応答を解析する手段として最も一般的に使用されるのはクロロフィル蛍光法 (variable J method、constant J method)⁸⁰である。実際、Kaiser et al., (2017)⁴³はクロロフィル蛍光法により g_m の誘導反応性を解析しているが、この著者ら自身も測定原理上、不確実な結果であることを述べている。近年は、波長

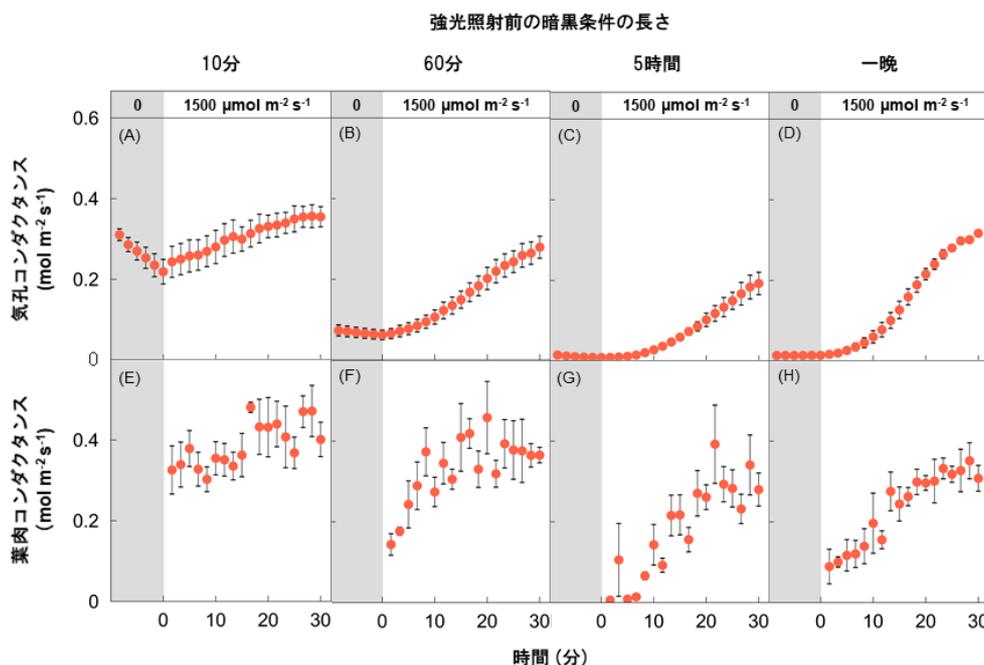


図 5. 気孔コンダクタンスと葉肉コンダクタンスの誘導に要する時間と直前の暗黒条件の長さの関係

強光を照射した後 (A, E) 10分、(B, F) 60分、(C, G) 5時間、(D, H) 一晩暗黒条件においたタバコの成熟葉に対して再度強光を照射した際の (A–D) 気孔コンダクタンスと (E–H) 葉肉コンダクタンスの推移を示す (n=3–8)。気孔コンダクタンスと葉肉コンダクタンスが光照射により一度誘導されると、その後に起こる誘導はより速く完了することが明らかとなった。直前の暗黒条件が長いほど誘導に要する時間は長くなり、暗黒条件が5時間以上になるとその時間に差がみられなくなった。各プロット上の縦棒は標準誤差を示す。図内の灰色部および白色部は、光合成有効光量子束密度が0および1500 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であることを示す。

の応答は、対象とする植物種や測定手法により異なる結果が報告されるなど、未だ議論に決着はついていない⁹²⁻⁹⁵。また、 g_m の環境応答に関する知見は定常状態を想定したものが大部分を占め、変動光環境における g_m の応答に関する知見は、筆者らの報告例も含めてわずか2例にとどまっている^{43,96}。以下では、筆者らの研究例を中心に、変動光に対する g_m の応答とそれとの関連が予想される生理的要因について解説する。

可変半導体レーザー分光装置 (Tunable diode laser absorption spectroscopy; TDLAS) を用いた同位体分別測定法を導入することにより、質量分析計を用いた従来手法よりも高い時間解像度かつ連続的な g_m の解析が可能となった^{91,97}。そこで筆者らは、ガス交換とTDLASを用いた炭素同位体分別の同時測定により、変動光条件における g_m の応答と光合成誘導に与える律速性を解析した⁹⁶。その結果、 g_s と同様、暗黒から強光条件への変化

に応じて g_m は緩やかに増加し、最終的に一定状態に達するという誘導反応を示すことが明らかとなった (図4)。また、光合成誘導時に照射する光強度の強弱に関わらず、 g_m の誘導速度は変わらなかった。強光照射後に異なる長さの暗黒条件 (10分、60分、5時間および一晩) に順応させた後に再度強光を照射する解析を行い、 g_m が光照射により一度誘導されると、その後起こる誘導の速度が速くなることを示した (図5)。一方、直前の暗黒条件が長いほど g_m の誘導に要する時間は長くなり、一定以上の暗黒条件に順応することでその誘導状態は解消されることが示唆された。 g_m の誘導を捉えることで、光合成の生化学的モ

デル⁴および数理モデル⁸¹に基づき、 g_s と g_m 、電子伝達あるいはカルボキシレーション反応が光合成誘導に与える律速性を定量的に比較することが可能となった。この律速解析により、光合成誘導は g_s か電子伝達、あるいはその両方に強く制限されるが、 g_m による制限は比較的小さいことが示唆された (図6)。弱光から強光への変化に対して g_m はほとんど変化を示さなかったことも踏まえると、野外のように光強度が短時間で変動する環境においては、 g_m による光合成の律速性は非常に小さいのかもしれない。Sakoda et al., (2020)⁹⁶ も含め、炭素安定同位体法では g_m を高い精度で推定するために光呼吸が抑制される低 O_2

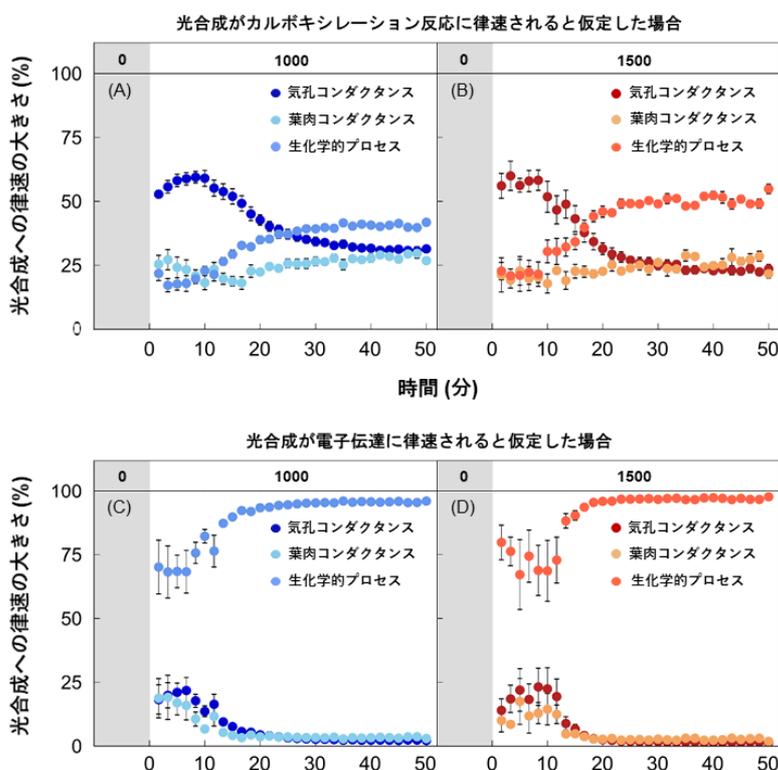


図6. ガス交換および生化学的プロセスによる光合成誘導の律速性

一晩暗黒条件においた (A, C) シロイヌナズナと (B, D) タバコの成熟葉に対して強光を照射した際の、ガス交換プロセスおよび生化学的プロセスによる光合成誘導への律速の大きさの推移を示す ($n=3-8$)。Farquhar et al., (1980)⁴の生化学的モデルに基づき、気孔コンダクタンス、葉肉コンダクタンスおよび生化学的プロセスを光合成の律速要因とした。さらに、光合成を律速する生化学的プロセスとして、(A, B) カルボキシレーション反応 (式1) および (C, D) 電子伝達 (式2) を仮定した。光合成速度をカルボキシレーション反応あるいは電子伝達の速度と、葉緑体ストロマの CO_2 濃度により説明される関数として考え、この関数の偏微分により、光合成速度の変化量に対する各変数の寄与の大きさとして律速を算出した⁸¹)。光合成誘導は気孔コンダクタンスあるいは電子伝達に強く律速される一方で、葉肉コンダクタンスによる律速程度は比較的小さいことがわかる。図4に示したように、気孔コンダクタンスは葉肉コンダクタンスよりも誘導反応性が遅いため、気孔コンダクタンスが光合成誘導をより強く律速したと考えられる。各プロット上の縦棒は標準誤差を示す。図内の灰色部および白色部は、光合成有効光量子束密度が0および1000または1500 $\mu mol photons m^{-2} s^{-1}$ であることを示す。

条件(≤2%)で測定が行われることが多いが、実際の野外環境ではこのような条件はまず起こりえない。大気 O₂ 条件(≈21%)においては、g_m は筆者らの報告と異なる誘導反応性を示す可能性も否定できず、今後の検証が必要である。

g_m を決定する要因として、葉肉細胞の細胞壁の厚さや細胞間隙に接する葉肉細胞内の葉緑体の表面積 (S_c) などの形態的特性、また細胞膜における CO₂ 拡散経路となる水チャネル (アクアポリン) や CO₂ と重炭酸イオン間の平衡反応を触媒するカーボニックアンヒドラーゼの活性などの生化学的特性が知られる³⁴。定常状態における g_m の光応答を解析した先行研究では、g_m が光強度の変化に応答する場合にも形態的特性に変化がみられなかったことから、その応答は主に生化学的な特性の変化に起因すると結論づけている⁹⁵。一方、暗黒条件後の光照射により生じる g_m の誘導反応には、形態的および生化学的特性の両方の変化が関与している可能性が考えられる。例えば、シロイヌナズナでは青色光照射により葉緑体の逃避運動が生じることで S_c が低下し、その結果 g_m が低下することが明らかとなっている⁹⁸。変動光環境においても葉緑体の逃避運動が生じる可能性も考えられるが、この運動は光照射後 2-3 分程度で完了することが報告されており¹²、g_m の誘導反応へ与える影響は非常に小さいと推察される。アクアポリンやカーボニックアンヒドラーゼの生理機能やその分子制御メカニズムは明らかにされつつあるが^{99,100}、変動光に対する応答に関する知見はいまだ無く、今後の解明が待たれる。

4. おわりに

本稿では、光合成誘導を制御するメカニズムとして CO₂ 拡散プロセスに焦点を当てて解説したが、カルボキシレーション反応と電子伝達を含む生化学のプロセスによる制御メカニズムも同様に重要となることは改めて強調しておきたい。光合成誘導においては、カルボキシレーション反応を触媒する Rubisco の活性化が律速要因の 1 つとなり、Rubisco の活性化において分子シャペロン様タンパク質 Rubisco activase による制御が重要

な役割を持つことが報告されている^{30,31}。電子伝達反応は光合成誘導の律速要因になると同時に、変動光により生じるストレスに対する防御機構としての役割も担うと考えられる^{28,29}。そして、光合成誘導の制御メカニズムを明らかにするうえで、野外環境では光のみならず温度や土壌、空気中の水分含量など様々な環境要因が同時に変動しうることも考慮する必要がある^{15,101-103}。筆者らは、イネおよびダイズを対象に行った解析により、土壌水分含量の変動が光合成誘導に大きな影響を与えることを明らかにしている。特筆すべきことに、乾燥ストレスにより光合成の最大速度が低下するとともに光合成誘導が鈍化し、変動光条件における積算光合成量が大幅に低下することが示された¹⁰⁴。すなわち、光合成誘導が植物の物質生産に与える影響は、不良な生育環境下でより大きくなる可能性が高い。今後は、変動光と他の環境要因の複合的な光合成への影響を理解することも重要な課題となるだろう。

光合成研究の起源は 1648 年に Jan van Helmont が行ったヤナギの苗木を用いた栽培実験にあるとされ、その後の分子生物学や、生化学、工学に基づく解析技術の革新に伴い、光合成の実態とそれを制御する複雑なメカニズムが次々と明らかにされてきた。トランスクリプトーム解析やメタボローム解析のようなオミクス解析が脚光を浴びるようになった昨今、より大規模で複雑なデータから生命現象を捉えることが研究のトレンドとなりつつある。いまこそ、これまで積み上げられてきた知見と最先端技術を活用し、野外環境における光合成という複雑な現象を解き明かすときではないだろうか。

Received Feb 23, 2021; Accepted Mar 12, 2021; Published Apr 30, 2021.

参考文献

1. Flood, P. J., Harbinson, J. & Aarts, M. G. M. Natural genetic variation in plant photosynthesis. *Trends Plant Sci.* **16**, 327-335 (2011).

2. Long, S. P., Marshall-Colon, A. & Zhu, X.-G. Meeting the global food demand of the future by engineering crop photosynthesis and yield potential. *Cell* **161**, 56–66 (2015).
3. Long, S. P. Zhu X.-G., Naidu, S. L. & Ort, D. R. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant, Cell Environ.* **29**, 315–330 (2006).
4. Farquhar, G. D., von Cammerer, S. & Berry, J. A. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta*. **149**, 78–90 (1980).
5. Kromdijk, J. Glowacka, K., Leonelli, L., Gabilly S. T., Iwai, M., Niyogi, K. K. & Long, S. P. Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection. *Science* **354**, 857–861 (2016).
6. South, P. F., Cavanagh, A. P., Liu, H. W. & Ort, D. R. Synthetic glycolate metabolism pathways stimulate crop growth and productivity in the field. *Science*. **363**, 1–10 (2019).
7. Yoon, D.-K. *et al.* Transgenic rice overproducing Rubisco exhibits increased yields with improved nitrogen-use efficiency in an experimental paddy field. *Nat. Food* **1**, 134–139 (2020).
8. Sakoda, K. *et al.* Higher Stomatal Density Improves Photosynthetic Induction and Biomass Production in Arabidopsis Under Fluctuating Light. *Front. Plant Sci.* **11**, 1–11 (2020).
9. Kimura, H., Hashimoto-Sugimoto, M., Iba, K., Terashima, I. & Yamori, W. Improved stomatal opening enhances photosynthetic rate and biomass production in fluctuating light. *J. Exp. Bot.* **71**, 2339–2350 (2020).
10. Zhang, M. *et al.* Plasma membrane H⁺-ATPase overexpression increases rice yield via simultaneous enhancement of nutrient uptake and photosynthesis. *Nat. Commun.* **12**, (2021).
11. Ogren, E. & Evans, J. R. Photosynthetic light-response curves I. The influence of CO₂ partial pressure and leaf inversion. *Planta*. **189**, 182–190 (1993).
12. Loreto, F., Tsonev, T. & Centritto, M. The impact of blue light on leaf mesophyll conductance. *J. Exp. Bot.* **60**, 2283–2290 (2009).
13. Kono, M., Yamori, W., Suzuki, Y. & Terashima, I. Photoprotection of PSI by far-red light against the fluctuating light-induced photoinhibition in Arabidopsis thaliana and field-grown plants. *Plant Cell Physiol.* **58**, 35–45 (2017).
14. Terashima, I., Fujita, T., Inoue, T., Chow, W. S. & Oguchi, R. Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: Revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant Cell Physiol.* **50**, 684–697 (2009).
15. Yamori, W. Photosynthetic response to fluctuating environments and photoprotective strategies under abiotic stress. *J. Plant Res.* **129**, 379–395 (2016).
16. Tanaka, Y., Adachi, S. & Yamori, W. Natural genetic variation of the photosynthetic induction response to fluctuating light environment. *Current Opinion in Plant Biol.* **49**, 52–59 (2019).
17. Kaiser, E., Morales, A. & Harbinson, J. Fluctuating light takes crop photosynthesis on a rollercoaster ride. *Plant Physiol.* **176**, 977–989 (2018).
18. Norman, J. M. & Tanner, C. B. Light intensity and sunflecks size distributions in plant canopies. *Agron. J.* **75**, 481–488 (1971).
19. Reifsnnyder, W. E., Furnival, G. M. & Horowitz, J. L. Spatial and temporal distribution of solar radiation beneath forest canopies. *Agric. Meteorol.* **9**, 21–37 (1971).
20. Desjardens, R. L., Sinclair, T. R. & Lemon E. R. Light fluctuations in corn. *Agron. J.* **65**, 904–908 (1973).
21. Acevedo-siaca, L. G. *et al.* Variation in photosynthetic induction between rice accessions and its potential for improving productivity. (2020).
22. Slattery, R. A., Walker, B. J., Weber, A. P. M. & Ort, D. R. The impacts of fluctuating light on crop performance. *Plant Physiol.* **176**, 990–1003 (2018).
23. Soleh, M. A. *et al.* Factors underlying genotypic differences in the induction of photosynthesis in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Plant Cell Environ.* **39**, 685–693 (2016).
24. Adachi, S. *et al.* High-yielding rice Takanari has superior photosynthetic response under fluctuating

- light to a commercial rice Koshihikari. *J. Exp. Bot.* **70**, 5287–5297 (2019).
25. Urban, O., Košvancová, M., Marek, M. V. & Lichtenthaler, H. K. Induction of photosynthesis and importance of limitations during the induction phase in sun and shade leaves of five ecologically contrasting tree species from the temperate zone. *Tree Physiol.* **27**, 1207–1215 (2007).
 26. Vialet-Chabrand, S. R. M. *et al.* Temporal dynamics of stomatal behavior: Modeling and implications for photosynthesis and water use. *Plant Physiol.* **174**, 603–613 (2017).
 27. McAusland, L. *et al.* Effects of kinetics of light-induced stomatal responses on photosynthesis and water-use efficiency. *New Phytol.* **211**, 1209–1220 (2016).
 28. Yamori, W., Makino, A. & Shikanai, T. A physiological role of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis under fluctuating light in rice. *Sci. Rep.* **6**, 1–12 (2016).
 29. Kono, M., Noguchi, K. & Terashima, I. Roles of the cyclic electron flow around PSI (CEF-PSI) and O₂-dependent alternative pathways in regulation of the photosynthetic electron flow in short-term fluctuating light in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* **55**, 990–1004 (2014).
 30. Yamori, W., Masumoto, C., Fukayama, H. & Makino, A. Rubisco activase is a key regulator of non-steady-state photosynthesis at any leaf temperature and, to a lesser extent, of steady-state photosynthesis at high temperature. *Plant J.* **71**, 871–880 (2012).
 31. Carmo-Silva, A. E. & Salvucci, M. E. The Regulatory Properties of Rubisco Activase Differ among Species and Affect Photosynthetic Induction during Light Transitions. *Plant Physiol.* **161**, 1645–1655 (2013).
 32. Kaiser, E. *et al.* Metabolic and diffusional limitations of photosynthesis in fluctuating irradiance in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Rep.* **6**, 1–13 (2016).
 33. Papanatsiou, M. *et al.* Optogenetic manipulation of stomatal kinetics improves carbon assimilation, water use, and growth. *Science* **363**, 1456–1459 (2019).
 34. Evans, J. R., Kaldenhoff, R., Genty, B. & Terashima, I. Resistances along the CO₂ diffusion pathway inside leaves. *J. Exp. Bot.* **60**, 2235–2248 (2009).
 35. Farquhar, G. D. & Sharkey, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **33**, 317–345 (1982).
 36. Kanemura, T., Homma, K., Ohsumi, A., Shiraiwa, T. & Horie, T. 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 (2007).
 37. Tanaka, Y., Shiraiwa, T., Nakajima, A., Sato, J. & Nakazaki, T. Leaf gas exchange activity in soybean as related to leaf traits and stem growth habit. *Crop Sci.* **48**, 1925 (2008).
 38. Tomeo, N. J. & Rosenthal, D. M. Variable mesophyll conductance among soybean cultivars sets a tradeoff between photosynthesis and water-use-efficiency. *Plant Physiol.* **174**, 241–257 (2017).
 39. Fischer, R. A. *et al.* Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop Sci.* **38**, 1467–1475 (1998).
 40. Gilbert, M. E., Zwieniecki, M. A. & Holbrook, N. M. Independent variation in photosynthetic capacity and stomatal conductance leads to differences in intrinsic water use efficiency in 11 soybean genotypes before and during mild drought. *J. Exp. Bot.* **62**, 2875–2887 (2011).
 41. Koester, R. P., Nohl, B. M., Diers, B. W. & Ainsworth, E. A. Has photosynthetic capacity increased with 80 years of soybean breeding? An examination of historical soybean cultivars. *Plant. Cell Environ.* **39**, 1058–67 (2016).
 42. Flexas, J. & Medrano, H. Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Ann. Bot.* **89**, 183–189 (2002).
 43. Kaiser, E., Kromdijk, J., Harbinson, J., Heuvelink, E. & Marcelis, L. F. M. Photosynthetic induction and its diffusional, carboxylation and electron transport processes as affected by CO₂ partial pressure,

- temperature, air humidity and blue irradiance. *Ann. Bot.* **119**, 191–205 (2017).
44. Yamori, W., Kusumi, K., Iba, K. & Terashima, I. Increased stomatal conductance induces rapid changes to photosynthetic rate in response to naturally fluctuating light conditions in rice. *Plant. Cell Environ.* **43**, 1–11 (2020).
 45. Pearcy, R. W. Sunflecks and photosynthesis in plant canopies. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **41**, 421–453 (1990).
 46. De Souza, A. P., Wang, Y., Orr, D. J., Carmo-Silva, E. & Long, S. P. Photosynthesis across African cassava germplasm is limited by Rubisco and mesophyll conductance at steady state, but by stomatal conductance in fluctuating light. *New Phytol.* **225**, 2498–2512 (2019).
 47. Kirschbaum, M. U. F. & Pearcy, R. W. Gas exchange analysis of the fast phase of photosynthetic induction in *alocasia macrorrhiza*. *Plant Physiol.* **87**, 818–821 (1988).
 48. Soleh, M. A. *et al.* Identification of large variation in the photosynthetic induction response among 37 soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] genotypes that is not correlated with steady-state photosynthetic capacity. *Photosynth. Res.* **131**, 305–315 (2017).
 49. Jackson, R. B., Woodrow, I. E. & Mott, K. A. Nonsteady-state photosynthesis following an increase in photon flux density (PFD). *Plant Physiol.* **95**, 498–503 (1991).
 50. Urban, O. *et al.* Comparison of photosynthetic induction and transient limitations during the induction phase in young and mature leaves from three poplar clones. *Tree Physiol.* **28**, 1189–1197 (2008).
 51. Franks, P. J. & Farquhar, G. D. The mechanical diversity of stomata and its significance in gas-exchange control. *Plant Physiol.* **143**, 78–87 (2006).
 52. Schlüter, U., Muschak, M., Berger, D. & Altmann, T. Photosynthetic performance of an *Arabidopsis* mutant with elevated stomatal density (*sdd1-1*) under different light regimes. *J. Exp. Bot.* **54**, 867–874 (2003).
 53. Tanaka, Y., Sugano, S. S., Shimada, T. & Hara-Nishimura, I. Enhancement of leaf photosynthetic capacity through increased stomatal density in *Arabidopsis*. *New Phytol.* **198**, 757–764 (2013).
 54. Büssis, D., Von Groll, U., Fisahn, J. & Altmann, T. Stomatal aperture can compensate altered stomatal density in *Arabidopsis thaliana* at growth light conditions. *Funct. Plant Biol.* **33**, 1037–1043 (2006).
 55. Yoo, C. Y. *et al.* The *Arabidopsis* GTL1 transcription factor regulates water use efficiency and drought tolerance by modulating stomatal density via transrepression of *SDD1*. *Plant Cell* **22**, 4128–4141 (2010).
 56. Wang, C. *et al.* *PdEPF1* regulates water-use efficiency and drought tolerance by modulating stomatal density in poplar. *Plant Biotechnol. J.* **14**, 849–860 (2016).
 57. Doheny-Adams, T., Hunt, L., Franks, P. J., Beerling, D. J. & Gray, J. E. Genetic manipulation of stomatal density influences stomatal size, plant growth and tolerance to restricted water supply across a growth carbon dioxide gradient. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **367**, 547–555 (2012).
 58. Casson, S. A. & Hetherington, A. M. Phytochrome B is required for light-mediated systemic control of stomatal development. *Curr. Biol.* **24**, 1216–1221 (2014).
 59. Franks, P. J. & Beerling, D. J. CO₂-forced evolution of plant gas exchange capacity and water-use efficiency over the Phanerozoic. *Geobiology* **7**, 227–236 (2009).
 60. Hara, K., Kajita, R., Torii, K. U., Bergmann, D. C. & Kakimoto, T. The secretory peptide gene *EPF1* enforces the stomatal one-cell-spacing rule. *Genes Dev.* **1720–1725** (2007).
 61. Dow, G. J. & Bergmann, D. C. Patterning and processes: How stomatal development defines physiological potential. *Curr. Opin. Plant Biol.* **21**, 67–74 (2014).
 62. Lehmann, P & Or, D. Effects of stomatal clustering on leaf gas exchange. *New Phytol.* **207**, 1015–1025 (2015).
 63. Drake, P. L., Froend, R. H. & Franks, P. J. Smaller, faster stomata: Scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance. *J. Exp. Bot.* **64**, 495–505 (2013).

64. Zhang, Q., Peng, S. & Li, Y. Increase rate of light-induced stomatal conductance is related to stomatal size in the genus *Oryza*. *J. Exp. Bot.* **70**, 5259–5269 (2019).
65. Papanatsiou, M., Amtmann, A. & Blatt, M. R. Stomatal clustering in *Begonia* associates with the kinetics of leaf gaseous exchange and influences water use efficiency. *J. Exp. Bot.* **68**, 2309–2315 (2017).
66. Papanatsiou, M., Amtmann, A. & Blatt, M. R. Stomatal spacing safeguards stomatal dynamics by facilitating guard cell ion transport independent of the epidermal solute reservoir. *Plant Physiol.* **172**, 254–263 (2016).
67. Schuler, M. L., Sedelnikova, O. V., Walker, B. J., Westhoff, P. & Langdale, J. A. SHORTROOT-mediated increase in stomatal density has no impact on photosynthetic efficiency. *Plant Physiol.* **176**, 757–772 (2017).
68. Shimazaki, K., Doi, M., Assmann, S. M. & Kinoshita, T. Light regulation of stomatal movement. *Annu. Rev. Plant Biol.* **58**, 219–247 (2007).
69. Inoue, S. & Kinoshita, T. Blue light regulation of stomatal opening and the plasma membrane H⁺-ATPase. *Plant Physiol.* **174**, 531–538 (2017).
70. Kim, T. H., Böhmer, M., Hu, H., Nishimura, N. & Schroeder, J. I. Guard cell signal transduction network: Advances in understanding abscisic acid, CO₂, and Ca₂⁺ signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* **61**, 561–591 (2010).
71. Lee, S. C., Lan, W., Buchanan, B. B. & Luan, S. A protein kinase-phosphatase pair interacts with an ion channel to regulate ABA signaling in plant guard cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 21419–21424 (2009).
72. Wang, Y. *et al.* Overexpression of plasma membrane H⁺-ATPase in guard cells promotes light-induced stomatal opening and enhances plant growth. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, 533–538 (2014).
73. Hashimoto-Sugimoto, M. *et al.* A Munc13-like protein in *Arabidopsis* mediates H⁺-ATPase translocation that is essential for stomatal responses. *Nat. Commun.* **4**, 1–7 (2013).
74. Monda, K. *et al.* Environmental regulation of stomatal response in the *Arabidopsis* Cvi-0 ecotype. *Planta* **234**, 555–563 (2011).
75. Qi, X. & Torii, K. U. Hormonal and environmental signals guiding stomatal development. *BMC Biol.* **16**, 1–11 (2018).
76. Pons, T. L. *et al.* Estimating mesophyll conductance to CO₂: Methodology, potential errors, and recommendations. *J. Exp. Bot.* **60**, 2217–2234 (2009).
77. Warren, C. R. The photosynthetic limitation posed by internal conductance to CO₂ movement is increased by nutrient supply. *J. Exp. Bot.* **55**, 2313–2321 (2004).
78. Niinemets, Ü., Díaz-Espejo, A., Flexas, J., Galmés, J. & Warren, C. R. Importance of mesophyll diffusion conductance in estimation of plant photosynthesis in the field. *J. Exp. Bot.* **60**, 2271–2282 (2009).
79. Ethier, G. J. & Livingston, N. J. On the need to incorporate sensitivity to CO₂ transfer conductance into the Farquhar-von Caemmerer-Berry leaf photosynthesis model. *Plant, Cell Environ.* **27**, 137–153 (2004).
80. Harley, P. C., Loreto, F., Di Marco, G. & Sharkey, T. D. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂. *Plant Physiol.* **98**, 1429–36 (1992).
81. Evans, J. R., Sharkey, T. D., Berry, J. A. & Farquhar, G. D. Carbon isotope discrimination measured concurrently with gas exchange to investigate CO₂ diffusion in leaves of higher plants. *Aust. J. Plant Physiol.* **13**, 281–292 (1986).
82. Grassi, G. & Magnani, F. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant, Cell Environ.* **28**, 834–849 (2005).
83. Flexas, J. *et al.* Mesophyll diffusion conductance to CO₂: An unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Sci.* **196**, 31 (2012).
84. Jahan, E., Amthor, J. S., Farquhar, G. D., Trethowan, R. & Barbour, M. M. Variation in mesophyll

- conductance among Australian wheat genotypes. *Funct. Plant Biol.* **41**, 568–580 (2014).
85. Flexas, J., Ribas-Carbó, M., Diaz-Espejo, A., Galmés, J. & Medrano, H. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. *Plant. Cell Environ.* **31**, 602–621 (2008).
 86. Ouyang, W., Struik, P. C., Yin, X. & Yang, J. Stomatal conductance, mesophyll conductance, and transpiration efficiency in relation to leaf anatomy in rice and wheat genotypes under drought. *J. Exp. Bot.* **68**, 5191–5205 (2017).
 87. Mizokami, Y., Noguchi, K., Kojima, M., Sakakibara, H. & Terashima, I. Effects of instantaneous and growth CO₂ levels and abscisic acid on stomatal and mesophyll conductances. *Plant Cell Environ.* **42**, 1257–1269 (2019).
 88. Warren, C. R. Soil water deficits decrease the internal conductance to CO₂ transfer but atmospheric water deficits do not. *J. Exp. Bot.* **59**, 327–334 (2008).
 89. Evans, J. R. & Von Caemmerer, S. Temperature response of carbon isotope discrimination and mesophyll conductance in tobacco. *Plant, Cell Environ.* **36**, 745–756 (2013).
 90. von Caemmerer, S. & Evans, J. R. Temperature responses of mesophyll conductance differ greatly between species. *Plant, Cell Environ.* **38**, 629–637 (2015).
 91. Tazoe, Y., Von Caemmerer, S., Badger, M. R. & Evans, J. R. Light and CO₂ do not affect the mesophyll conductance to CO₂ diffusion in wheat leaves. *J. Exp. Bot.* **60**, 2291–2301 (2009).
 92. Yamori, W., Evans, J. R. & Von Caemmerer, S. Effects of growth and measurement light intensities on temperature dependence of CO₂ assimilation rate in tobacco leaves. *Plant, Cell Environ.* **33**, 332–343 (2010).
 93. Campamy, C. E., Tjoelker, M. G., von Caemmerer, S. & Duursma, R. A. Coupled response of stomatal and mesophyll conductance to light enhances photosynthesis of shade leaves under sunflecks. *Plant Cell Environ.* **39**, 2762–2773 (2016).
 94. Xiong, D., Douthe, C. & Flexas, J. Differential coordination of stomatal conductance, mesophyll conductance, and leaf hydraulic conductance in response to changing light across species. *Plant Cell Environ.* **41**, 436–450 (2018).
 95. Carriquí, M., Douthe, C., Molins, A. & Flexas, J. Leaf anatomy does not explain apparent short-term responses of mesophyll conductance to light and CO₂ in tobacco. *Physiol. Plant.* **165**, 604–618 (2019).
 96. Sakoda, K., Yamori, W., Groszmann, M. & Evans, J. R. Stomatal, mesophyll conductance, and biochemical limitations to photosynthesis during induction. *Plant Physiol.* **185**, 146–160 (2020).
 97. Tazoe, Y., Von Caemmerer, S., Estavillo, G. M. & Evans, J. R. Using tunable diode laser spectroscopy to measure carbon isotope discrimination and mesophyll conductance to CO₂ diffusion dynamically at different CO₂ concentrations. *Plant, Cell Environ.* **34**, 580–591 (2011).
 98. Tholen, D. *et al.* The chloroplast avoidance response decreases internal conductance to CO₂ diffusion in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant, Cell Environ.* **31**, 1688–1700 (2008).
 99. Chaumont, F., Moshelion, M. & Daniels, M. J. Regulation of plant aquaporin activity. *Biol. Cell* **97**, 749–764 (2005).
 100. DiMario, R. J., Clayton, H., Mukherjee, A., Ludwig, M. & Moroney, J. V. Plant carbonic anhydrases: structures, locations, evolution, and physiological roles. *Mol. Plant* **10**, 30–46 (2017).
 101. Kang, H. X., Zhu, X. G., Yamori, W. & Tang, Y. H. Concurrent increases in leaf temperature with light accelerate photosynthetic induction in tropical tree seedlings. *Front. Plant Sci.* **11**, 1–11 (2020).
 102. Tang, Y. & Liang, N. Characterization of the photosynthetic induction response in a *Populus* species with stomata barely responding to light changes. *Tree Physiol.* **20**, 969–976 (2000).
 103. Grieco, M. *et al.* Adjustment of photosynthetic activity to drought and fluctuating light in wheat. *Plant Cell Environ.* **43**, 1484–1500 (2020).

104. Sakoda, K., Taniyoshi, K., Yamori, W. & Tanaka, Y. damage under fluctuating light conditions in crops.
Drought stress imposes reversible photosynthetic *Authorea Preprints* (2021).

Underlying mechanisms for photosynthetic response to fluctuating light: focusing on CO₂
diffusional process

Kazuma Sakoda^{1,2,*} and Wataru Yamori¹

¹Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo

²Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science

解説特集

諸刃の剣：光合成との付き合い方

Editor: 成川 礼（都立大）、栗井 光一郎（静岡大）、本橋 令子（静岡大）

序文

成川 礼（都立大）・栗井 光一郎（静岡大）・本橋 令子（静岡大） 30

解説 脂質による光合成の制御

神保 晴彦（東京大） 31

解説 非光合成性藻類の色素体進化

神川 龍馬（京都大） 37

解説 テトラピロールおよび GUN1 プラスチドシグナルを介した葉緑体形成

清水 隆之 他（東京大） 50

解説特集

序文[†]

¹ 東京都立大学 理学部生命科学科

² 静岡大学 理学部生物科学科

³ 静岡大学 農学部応用生命科学科

成川 礼^{1*}、栗井 光一郎²、本橋 令子³

酸素発生型光合成は 20 億年以上前に生じ、その起源生物はシアノバクテリアと葉緑体との共通祖先であると考えられている。当時の地球上には酸素分子はほとんど存在しておらず、酸素発生は地球環境と生命に劇的な変化をもたらしたといえる。光合成生物は、光合成を行うことで酸素発生に伴う酸化ストレスや強光ストレスなど多くのストレスを受けており、それに対処する様々な制御系が構築されている。また、進化の過程で、共生によって獲得した光合成能を喪失する戦略をとった生物もいることもわかっている。

そこで我々は、そのような制御系や光合成の喪失に焦点を当てた解説特集を組むこととした。まず、東京大学の神保晴彦氏には、脂質を介した光合成の機能制御に関するシアノバクテリアを対象とした最新の研究内容を紹介いただいた。大気濃度の CO₂ で培養したことがきっかけで明らかとなった CO₂ 濃度に応答した膜脂質転換の話題は、他分野の研究者にも多くの示唆を与えるだろう。続いて、神川龍馬氏には、光合成性真核生物の多様性について概説いただいた後、光合成能喪失生物の多様性からゲノムの縮退進化、色素体に保持されている代謝まで幅広く解説いただいた。光合成研究者達が、光合成能の喪失に関して理解を深めることで、光合成研究の新たな切り口も生まれるのではないかと期待している。最後に、東京大学の清水隆之氏らには、シロイヌナズナの葉緑体形成におけるテトラピロールに依存したプラスチドシグナル伝達に関して、最新の知見を紹介いただいた。葉緑体形成時の制御に液-液相分離が関わっている可能性が提示されており、今後の研究展開に期待がもたれる。

本解説記事で取り上げた 3 つの研究では、シアノバクテリアから藻類・陸上植物まで幅広い生物を網羅し、光合成という諸刃の剣との多様な付き合い方が提示されている。本解説記事をきっかけに、光合成研究がより活性化することを期待したい。

本特集の編集にあたって、コロナ禍の大変な状況の中、執筆者、査読者の方々には大変お世話になった。この場を借りて御礼申し上げる。

[†] 解説特集「諸刃の剣：光合成との付き合い方」

*連絡先 E-mail: narikawa.rei@tmu.ac.jp

解説

脂質を介した光合成の機能制御[‡]

東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻

神保 晴彦*

光合成に脂質の存在が欠かせないことは、容易に想像できる。脂質合成欠損株を用いた解析からも、脂質が光合成の正常な機能に必須であることが明らかとなってきた。しかし、合成欠損株を使った解析では、環境ストレスに対する動的な応答において明らかにできる膜脂質の機能は限られている。本稿では、光合成の環境ストレス応答における膜脂質及び遊離脂肪酸の働きについて、脂質代謝の改変からアプローチした最近の知見を、著者らの発見時の経緯と驚きをたどりながら紹介する。

1. はじめに

シアノバクテリアや葉緑体のチラコイド膜は、膜脂質の主成分として糖脂質であるモノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG)、ジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG)、スルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG) とリン脂質であるホスファチジルグリセロール (PG) の4種類の脂質クラスを持つ。さらに、一部のシアノバクテリアではMGDGの前駆体としてモノグルコシルジアシルグリセロール (GlcDG) を多く含むものもある。光合成複合体における膜脂質の働きの詳細については、2015年8月の「光合成研究 73 号第 25 巻 2 号」に付されている解説記事「光合成タンパク質複合体と脂質」¹を参考にされたい。

膜脂質のグリセロール骨格の *sn*-1 と *sn*-2 位にはそれぞれ脂肪酸が結合し、1つの脂質分子種を規定している。脂肪酸は鎖長や二重結合の数・位置・立体配置による多様性を持ち、シアノバクテリアの一種である *Synechocystis* sp. PCC 6803 (以下 *Synechocystis*) 株では、これまでにおよそ 10 数種類の脂肪酸の組み合わせが膜脂質に含まれることがわかっている。こうした分子種の複雑性・多様性や解析手法の特殊性から、脂質の研究は重

要であるにも関わらず、多くの光合成研究者が参入に躊躇しているように感じる。

著者は、2018 年から光合成における脂質の機能について研究を始めた新米植物脂質研究者である。そこで本稿では、脂質を知らない読者にも簡単に理解できるように、基本的な情報を細かく記載することに努めた。ベテラン脂質研究者の方々には、初歩的な解説となるがご容赦いただきたい。

2. 光合成における脂質の機能

Synechocystis における各種の膜脂質合成欠損株を用いた解析から、膜脂質の中でも PG が特に光化学系 II (PSII) の蓄積や機能・維持に必須であることがわかっている^{2,3}。PG を欠損した *pgsA* 変異株では、PSII 内における Q_A から Q_B への電子伝達活性や PSII 修復の阻害、PsbU、PsbV、PsbO などの表在性タンパク質の解離が観察されている³⁻⁵。PG は、PSII の機能にどのように関わっているのか。我々は PSII に含まれる PG と相互作用するアミノ酸を置換することで、PSII への特定の PG 分子の結合を低下させた変異体を用いて解析を行っている。これまでに、PSII 複合体に含まれる PG 分子である PG664 と PG694 が、 Q_B と PsbU 及び PsbV の結合に関わっていることを明

[‡]解説特集「諸刃の剣：光合成との付き合い方」

*連絡先 E-mail: ctshimizu@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

らかにした⁶。特定の PG 分子が PSII の機能を担う可能性を示しており、現在、PSII 複合体内の他の PG 分子に関しても解析を進めている。

ガラクト脂質である MGDG や DGDG に関しては、欠損しても光合成ができなくなるわけではない^{7,8}。しかし、DGDG を欠損した変異株では PSII 活性が低下し、強光や高温ストレスに対して感受性が高くなるため、光合成機能を補助していると考えられる^{9,10}。陸上植物である *Arabidopsis thaliana*¹¹ や *Synechococcus elongatus* PCC 7942 株¹² の SQDG 合成欠損株では、通常状態で光合成活性に影響がないことがわかっている。ただし、SQDG は *Synechocystis* において DNA 合成に必須であることが報告されており¹³、機能の多様性が考えられる。

脂質合成欠損株を用いた解析では、光合成だけではなく細胞全体において膜脂質欠損の影響が表れるため、膜脂質の特異的な機能を詳細に解析することが難しい。次項では、我々の解析結果から明らかとなった CO₂ や強光などの環境ストレスにตอบสนองの際の脂質の機能について、膜脂質転換と遊離脂肪酸の観点から解説をする。

3. 光合成のストレス応答における脂質の役割

3.1. CO₂ に応答した膜脂質転換と光合成への影響

2018 年 7 月に和田研究室の助教として着任してから私は、光合成の環境応答における脂質の役割について研究を進めていた。初めての脂質解析を、当時博士課程 2 年だった平嶋孝志君に教わりながら行っていたが、どうもこれまで論文で報告されていた脂質組成と比べると、MGDG の割合が低く、PG の割合が高いことがわかった (図 1A)。何が他の論文と違うのかとよく調べてみると、実は着任当時、シアノバクテリアを通気培養するようセットアップする際に、愚かにも CO₂ ボンベを買うのを面倒くさがって培養には大気 (Low CO₂ :LC) を通気していたのだった。実際に 1% (v/v) の CO₂ を添加した条件 (High CO₂ :HC) 下で培養したシアノバクテリアでは、これまでの報告と同様に MGDG の割合が増加し、PG の割合が減少した (図 1A)¹⁴。その後、放射性同位体を用

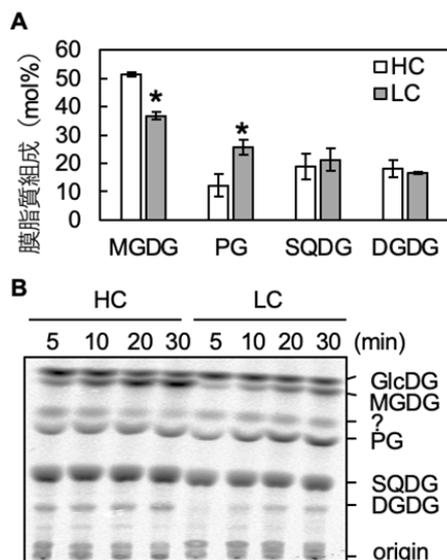


図1. CO₂にตอบสนองした膜脂質転換

(A) 高CO₂ (1%) : HCと大気圧CO₂ (約0.04%) : LC : 条件下で生育した*Synechocystis*における膜脂質組成の変化。(B) HCとLCで培養した*Synechocystis*における膜脂質の合成速度を¹⁴C-Sodium Acetateで解析した時のオートラジオグラフィーの様子。*: t-test p-value < 0.05. Jimbo et al. (2021) *Plant J.*を改変

いた解析から LC 条件で培養した細胞では、PG の合成速度が上昇し、糖脂質の合成速度が低下していることがわかり、シアノバクテリアにおける CO₂ にตอบสนองした膜脂質転換 (Lipid remodeling) を初めて明らかにした¹⁴ (図 1B)。脂質合成系遺伝子の転写産物量は、CO₂ 濃度に応じて大きく変化はしない^{15,16}。これまでに、PG や SQDG が GlcDG を合成する MgdA の活性を促進する¹⁷ことが分かっているため、膜脂質転換は酵素や基質レベルで制御されていると考えられる。しかし、この時はまだ、CO₂ にตอบสนองした膜脂質転換に、どのような生理学的意義があるかはわからなかった。

ちょうど上記の脂質の解析を行っていた時、中村友輝博士 (アカデミアシニカ植物及微生物学研究所副教授) との共同研究で、シアノバクテリアのホスファチジン酸ホスファターゼ (PAP) を過剰発現した *Synechocystis* の形質転換体の解析をしていた。PAP はホスファチジン酸 (PA) から、糖脂質の前駆体であるジアシルグリセロール (DAG) への変換を行う。PAP 過剰発現株では、

PA が糖脂質合成へと多く使われるため、同じく PA を基質とする PG の含量が低下し、その結果、PSII 活性が低下していた。この表現型は、培養時に 1% (v/v) CO₂ もしくは PG を添加することで解消された。したがって、LC 条件下において野生株で増加した PG は、PSII 活性を維持するために必要であることがわかった¹⁴。これまでに PG は PSII 修復に関わることがわかっている³。LC 条件下では、光合成の過剰な電子がカルビン回路で消費されず、酸素に渡ることによって活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) が発生する¹⁸。ROS は PSII 修復に必要なタンパク質の新規合成を阻害する¹⁹。したがって、LC 条件下では PG の増加による PSII 修復の促進によって、ROS による修復阻害を緩和していると考えられる。逆に HC 条件下では細胞分裂を盛んに行い、DNA などの核酸合成にリンを供給するため、PG 量を抑えていると考えられる。

膜脂質転換は、栄養欠乏ストレスなどの環境ストレス下で生育した植物体において、細胞内の糖脂質とリン脂質の割合が変化する現象である²⁰。シアノバクテリアにおいても、リンが欠乏した際には PG の割合が低下し、糖脂質の割合が増加することがわかっている²¹。膜脂質転換については、栄養欠乏応答の一つとして研究が進んでいたが、CO₂ や光・温度などの環境ストレスに応答した膜脂質の変化にも着目する必要がある。様々な環境ストレスにおける膜脂質転換と光合成への影響を解析することで、それぞれの環境ストレスでどの脂質が光合成にどのような役割を果たしているのかがわかるかもしれない。

3.2. 遊離脂肪酸による光合成への影響

脂質分子に結合している脂肪酸は、リパーゼの働きによって遊離脂肪酸として切り出される。遊離脂肪酸は、バイオディーゼルの原料にもなるため、産業展開に向けた増産などを目指した研究が

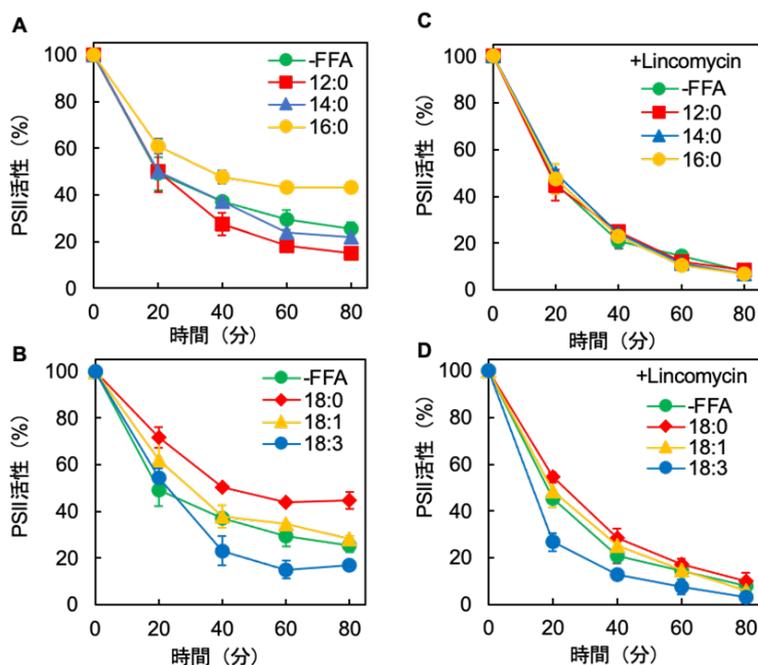


図2. PSII光阻害における各種FFA分子種の影響

(A,B) *Synechocystis* 培地に 0.1 mM のラウリン酸 (12:0)、ミリスチン酸 (14:0)、パルミチン酸 (16:0)、ステアリン酸 (18:0)、オレイン酸 (18:1)、 α -リノレン酸 (18:3) をそれぞれ加え、強光 $1500 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 下での PSII 活性への影響を解析した。(C,D) タンパク質合成阻害剤であるリンコマイシン存在下において、光損傷における FFA の影響を解析した。リンコマイシンの添加によって PSII 修復を阻害することで、光損傷のみの解析を行うことができる。PSII 活性は、p-BQ およびフェリシアン化カリウム存在下での酸素発生速度を指標に測定した。Jimbo et al. (2020) *Int. J. Mol. Sci.* を改変

世界中で行われている²²。しかし、遺伝子改変によって遊離脂肪酸生産を増強したシアノバクテリアでは、PSII 光阻害が促進されて光合成活性が低下し、増産の足枷となっている^{23,24}。特に炭素数 18 で二重結合を 3 つ持つ α -リノレン酸 (18:3) は、光阻害を促進し、弱光下においても約 10 時間で光合成の電子伝達を不活性化してしまう²⁵。

これまでの研究では、遊離脂肪酸の生産を増強するのみで、遊離脂肪酸がどのように光合成を阻害するのか詳細に解析する研究はなかった。そこで著者らは、市販されている遊離脂肪酸を多種類購入し、*Synechocystis* 株の培地に添加したときの PSII の光阻害を解析した。すると、多価不飽和脂肪酸である 18:3 は、PSII の光損傷を促進することで、光阻害を促進することを明らかにした (図 2)²⁶。炭素数 12 と比較的短い飽和脂肪酸であるラウリン酸 (12:0) を添加した際も、18:3 の場合と同様に光阻害を促進したが、光損傷に影響はなかったため、PSII 修復を阻害したと考えられる (図 2)。これまでも、12:0 や 18:3 が *Synechocystis* の生育を阻害することは分かっていたが、その原因は明らかではなかった。遊離脂肪酸の鎖長が PSII の修復に、二重結合の数が光損傷の過程にそれぞれ作用するという事は、PSII 光阻害における遊離脂肪酸の新たな作用機構を明らかにする手がかりとなる。特に、光損傷の分子メカニズムについては、長年研究されているが、結論は不明確なままである。本研究において、多価不飽和脂肪酸が光損傷を促進する機構が明らかになれば、光損傷の分子メカニズムの解明に繋がるかもしれない。

パルミチン酸 (16:0) やステアリン酸 (18:0) などの炭素数 16 や 18 の長鎖飽和脂肪酸を *Synechocystis* の培地に加えて光阻害を観察したところ、驚くべきことに、PSII 修復が促進することで、光阻害が緩和した (図 2)。これまでに、葉緑体内で PSII の活性中心タンパク質である D1 に 16:0 が結合することが知られていた²⁷が、その生理学的意義は不明であった。シアノバクテリアの D1 においても葉緑体と同様に脂肪酸が結合しているのであれば、D1 の翻訳に関わる新たな因子である可能性が高い。

4. 今後の展望

脂質合成酵素の活性は、フィードバック制御によって厳密に制御されていると考えられていたため、脂質合成酵素の発現制御による脂質組成の改変は難しいと考えられてきた。しかし、我々の研究成果から、少なくとも PA から DAG への変換は遺伝子発現によって制御できることが明らかとなった。今後は、脂質合成経路にある他の経路についても改変可能か検証していきたい。

シアノバクテリアの中でも、*Synechocystis* は外部から脂質を取り込むことができる特性を持つ。したがって、添加する PG の化学構造を変化させることで、脂質を用いたケミカルバイオロジー的な解析ができる。この特性は、酵母や大腸菌にもみられないことから、*Synechocystis* を用いた脂質の解析は光合成に限らない膜脂質の機能を切り開くツールとなると期待している。

5. 後日談

研究当初、私が、CO₂ に応答した膜脂質転換について、やや興奮気味にディスカッションしていたところ、「CO₂ が多ければその生成物である糖を基質とする糖脂質が増えるのは当たり前ではないか」とコメントをいただき、確かにそうかと一気に冷静になったのを覚えている。多くの先人たちの知恵から多くのことがわかってきて、研究の中で当たり前のことが増えてきているかもしれない。しかし、当たり前のことを疑い、実験結果に基づいて証明するのがサイエンスなのではないかと思う (結局は自分で得たデータを信頼するのが一番良い)。これまで、遊離脂肪酸が光合成に悪い影響を与えるということは、多くの研究者に常識として受け入れられていた。しかし、その常識を疑い、再検討することで、今回、PSII 光阻害における FFA の多様な作用を明らかにすることができた。PSII 光阻害の研究は、国内外の研究者で長い間紛糾しているテーマであるが、本成果を足掛かりに、新たな突破口を開けると信じている。

Received Mar 8, 2021; Accepted Mar 18, 2021; Published Apr 30, 2021.

参考文献

1. 遠藤 嘉一郎, 小林 康一 & 元, 和. 光合成タンパク質複合体と脂質. *光合成研究* **25**, 116-125 (2015).
2. Hagio, M. *et al.* Phosphatidylglycerol is essential for the development of thylakoid membranes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* **43**, 1456-1464, doi:DOI 10.1093/pcp/pcf185 (2002).
3. Sakurai, I. *et al.* Requirement of phosphatidylglycerol for maintenance of photosynthetic machinery. *Plant Physiol.* **133**, 1376-1384, doi:10.1104/pp.103.026955 (2003).
4. Gombos, Z. *et al.* Phosphatidylglycerol requirement for the function of electron acceptor plastoquinone QB in the photosystem II reaction center. *Biochemistry* **41**, 3796-3802, doi:10.1021/bi011884h (2002).
5. Sakurai, I., Mizusawa, N., Ohashi, S., Kobayashi, M. & Wada, H. Effects of the lack of phosphatidylglycerol on the donor side of photosystem II. *Plant Physiol.* **144**, 1336-1346, doi:10.1104/pp.107.098731 (2007).
6. Endo, K. *et al.* Site-directed mutagenesis of amino acid residues of D1 protein interacting with phosphatidylglycerol affects the function of plastoquinone QB in photosystem II. *Photosynth. Res.* **126**, 385-397, doi:10.1007/s11120-015-0150-9 (2015).
7. Awai, K., Ohta, H. & Sato, N. Oxygenic photosynthesis without galactolipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111**, 13571-13575, doi:10.1073/pnas.1403708111 (2014).
8. Sakurai, I., Mizusawa, N., Wada, H. & Sato, N. Digalactosyldiacylglycerol is required for stabilization of the oxygen-evolving complex in photosystem II. *Plant Physiol.* **145**, 1361-1370, doi:10.1104/pp.107.106781 (2007).
9. Mizusawa, N., Sakurai, I., Sato, N. & Wada, H. Lack of digalactosyldiacylglycerol increases the sensitivity of *Synechocystis* sp. PCC 6803 to high light stress. *FEBS Lett.* **583**, 718-722, doi:10.1016/j.febslet.2009.01.021 (2009).
10. Mizusawa, N., Sakata, S., Sakurai, I., Sato, N. & Wada, H. Involvement of digalactosyldiacylglycerol in cellular thermotolerance in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Arch. Microbiol.* **191**, 595-601, doi:10.1007/s00203-009-0486-7 (2009).
11. Yu, B., Xu, C. & Benning, C. *Arabidopsis* disrupted in *SQD2* encoding sulfolipid synthase is impaired in phosphate-limited growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 5732-5737, doi:10.1073/pnas.082696499 (2002).
12. Guler, S., Seeliger, A., Hartel, H., Renger, G. & Benning, C. A null mutant of *Synechococcus* sp. PCC7942 deficient in the sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerol. *J. Biol. Chem.* **271**, 7501-7507, doi:10.1074/jbc.271.13.7501 (1996).
13. Aoki, M., Tsuzuki, M. & Sato, N. Involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in DNA synthesis in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *BMC Res. Notes* **5**, 98, doi:10.1186/1756-0500-5-98 (2012).
14. Jimbo, H. *et al.* Membrane lipid remodeling is required for photosystem II function under low CO₂. *Plant J.* **105**, 245-253, doi:10.1111/tpj.15054 (2021).
15. Klahn, S. *et al.* Integrated transcriptomic and metabolomic characterization of the low-carbon response using an *ndhR* mutant of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Physiol.* **169**, 1540-1556, doi:10.1104/pp.114.254045 (2015).
16. Orf, I. *et al.* CyAbrB2 contributes to the transcriptional regulation of low CO₂ acclimation in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* **57**, 2232-2243, doi:10.1093/pcp/pcw146 (2016).
17. Selao, T. T., Zhang, L., Arioiz, C., Wieslander, A. & Norling, B. Subcellular localization of monoglucosyldiacylglycerol synthase in *Synechocystis* sp. PCC 6803 and its unique regulation by lipid environment. *PLoS One* **9**, e88153, doi:10.1371/journal.pone.0088153 (2014).
18. Shimakawa, G. *et al.* Diverse strategies of O₂ usage for preventing photo-oxidative damage under CO₂ limitation during algal photosynthesis. *Sci. Rep.* **7**, 41022, doi:10.1038/srep41022 (2017).
19. Jimbo, H. *et al.* Oxidation of translation factor EF-Tu inhibits the repair of photosystem II. *Plant Physiol.* **176**, 2691-2699, doi:10.1104/pp.18.00037 (2018).
20. Nakamura, Y. Phosphate starvation and membrane lipid remodeling in seed plants. *Prog. Lipid Res.* **52**, 43-50, doi:10.1016/j.plipres.2012.07.002 (2013).
21. Peng, Z., Feng, L., Wang, X. & Miao, X. Adaptation of *Synechococcus* sp. PCC 7942 to phosphate starvation by glycolipid accumulation and membrane lipid remodeling. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell*

- Biol. Lipids* **1864**, 158522, doi:10.1016/j.bbalip.2019.158522 (2019).
22. Liu, X., Sheng, J. & Curtiss, R., 3rd. Fatty acid production in genetically modified cyanobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **108**, 6899-6904, doi:10.1073/pnas.1103014108 (2011).
23. Kato, A. *et al.* Identification of a cyanobacterial RND-Type efflux system involved in export of free fatty acids. *Plant Cell Physiol.* **56**, 2467-2477, doi:10.1093/pcp/pcv150 (2015).
24. Takatani, N. *et al.* Essential role of acyl-ACP synthetase in acclimation of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* strain PCC 7942 to high-light conditions. *Plant Cell Physiol.* **56**, 1608-1615, doi:10.1093/pcp/pcv086 (2015).
25. von Berlepsch, S. *et al.* The acyl-acyl carrier protein synthetase from *Synechocystis* sp. PCC 6803 mediates fatty acid import. *Plant Physiol.* **159**, 606-617, doi:10.1104/pp.112.195263 (2012).
26. Jimbo, H., Takagi, K., Hirashima, T., Nishiyama, Y. & Wada, H. Long-chain saturated fatty acids, palmitic and stearic acids, enhance the repair of photosystem II. *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 7509, doi:10.3390/ijms21207509 (2020).
27. Mattoo, A. K. & Edelman, M. Intramembrane translocation and posttranslational palmitoylation of the chloroplast 32-kDa herbicide-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **84**, 1497-1501, doi:10.1073/pnas.84.6.1497 (1987).

Regulation for photosynthesis by lipids

Haruhiko Jimbo

Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo

解説

非光合成性藻類の色素体進化[‡]

京都大学 大学院農学研究科応用生物科学専攻 海洋分子微生物学分野

神川 龍馬*

10 億年以上前に生じたと言われるシアノバクテリアとの細胞内共生により最初の色素体が誕生して以降、細胞内共生を通じて多様な真核生物に光合成能が獲得されていった。その一方で、様々な種で光合成能の喪失も生じてきた。色素体そのものを喪失してしまった種も数例知られているが、光合成能を喪失した生物の多くが色素体を保持し、色素体ゲノムや生存に必須と考えられる代謝経路が局在している。本解説では、色素体の獲得をもたらした細胞内共生における仮説を紹介するとともに、非光合成性色素体をもつ系統の多様性やそれらのもつ色素体ゲノム、そして色素体機能を概説し、光合成能喪失後の機能喪失進化のトリガーについて考察する。

1. はじめに

～光合成性真核生物の多様性～

光合成という能力、すなわち色素体が真核生物にもたらされたのは、10 億年前以上前に生じたシアノバクテリアとの細胞内共生がきっかけである¹。現在知られているシアノバクテリアの多様性の中で、色素体の起源となったシアノバクテリアに最も近縁とされているのは、*Gloeomargarita lithophora* という種である²。細胞内共生したシアノバクテリアは、ゲノム縮退や代謝レベルの改変を経て、現存する光合成性真核生物に見られる色素体の共通祖先となった^{1,3}。この最初の色素体をもつ真核生物から派生したのが、陸上植物、緑藻類、紅藻類、灰色藻類、Rhodelphidia (ロデルフィディア) 類であると言われている (図 1A)^{1,4}。さらに、緑藻類や紅藻類の細胞が、従属栄養性真核生物に取り込まれることで complex plastids と呼ばれる色素体となり、真核生物系統樹の様々な枝で光合成性真核生物が見られるようになった^{1,4}。真核生物—真核生物の細胞内共生で獲得された色素体は、ユーグレナ藻類、クロララクニオン藻類、不等毛藻類、クリプト藻類、ハ

プト藻類、渦鞭毛藻類、クロメラ類などで知られる。

色素体ゲノムを用いた分子系統解析から、クロララクニオン藻類葉緑体とユーグレナ藻類葉緑体はそれぞれ異なる緑藻由来であると考えられている (図 1B)⁵⁻⁸。つまり、緑藻類由来細胞内共生が 2 回以上独立して起きたことが分かる。また、本来紅藻類由来色素体をもつ渦鞭毛藻類の中にも上述 2 系統とは別の緑藻類ペディノモナス由来の葉緑体をもつ緑色種が存在し、これは葉緑体置換と呼ばれる現象として知られている⁷⁻¹⁰。クロララクニオン藻類や緑色渦鞭毛藻類の葉緑体には、緑藻類由来の縮退核が存在し、これはヌクレオモルフと呼ばれる⁹⁻¹¹。これらの葉緑体は 4 重包膜をもち、外側から 2 枚目と 3 枚目の間は、細胞内共生した緑藻類の細胞質に相当する区画 (Periplasmic Compartment; PPC) と考えられている。PPC には緑藻類由来の縮退核 (ヌクレオモルフ) が存在する。ヌクレオモルフの存在は、緑藻類が直接細胞内共生することで、すなわち二次共生を通じて葉緑体となったことを示している。ユーグレナ藻類はヌクレオモルフをもたないが、

[‡] 解説特集「諸刃の剣：光合成との付き合い方」

*連絡先 E-mail: kamikawa.ryoma.7v@kyoto-u.ac.jp

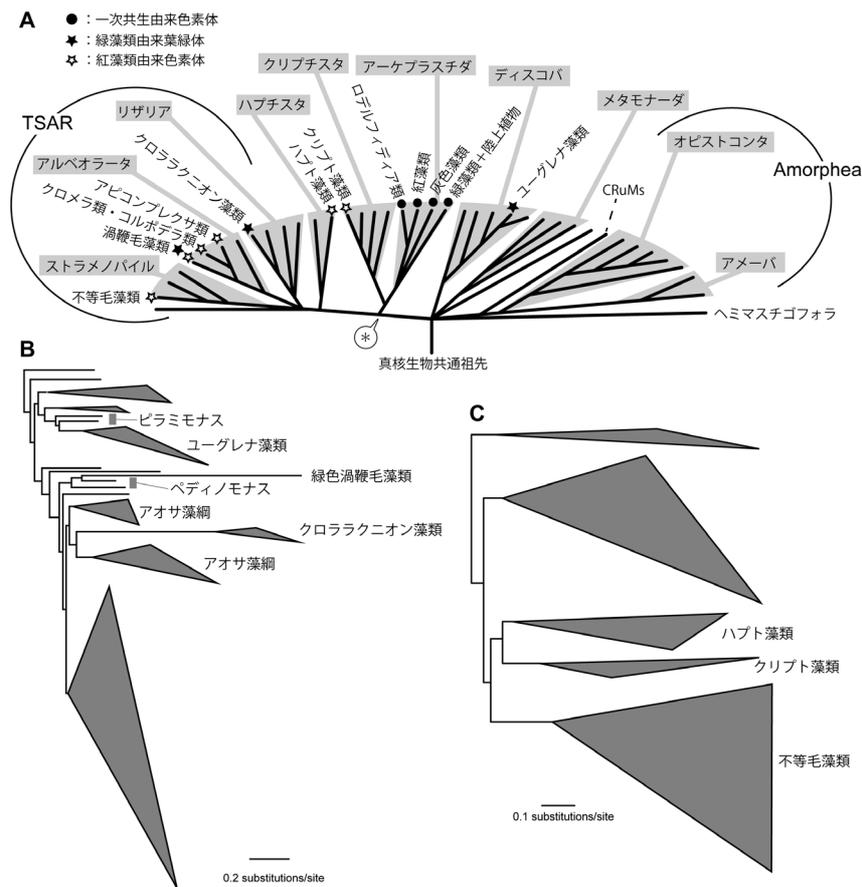


図1 真核生物系統関係と色素体進化

A. 真核生物モデル系統樹の簡略図と色素体の分布。これまでに報告されている真核生物分子系統樹^{4,12,19,72-75}をもとに作図した。代表的な系統のみタクサ名を記述している。色素体を有する系統は星印または黒丸で示した。ただし光合成性と非光合成性を区別していないことに注意。アスタリスクはクロムアルベオラータ仮説に基づいた場合に紅藻類色素体を有していた節（祖先）を示す。B. 緑藻類葉緑体および緑藻類由来葉緑体の分子系統樹。Jackson et al.⁸をもとに作図した。緑藻類由来葉緑体およびその起源系統のみタクサ名を記述している。C. 紅藻類色素体および紅藻類由来色素体の分子系統樹。Kawachi et al.¹⁴をもとに作図した。紅藻類由来色素体のみタクサ名を記述している。

葉緑体ゲノムを用いた分子系統解析ではピラミモナスと単系統群を形成するため、ユーグレナ藻類葉緑体もまたピラミモナス近縁種を直接取り込んだ二次共生由来と考えられている。

一方で、紅藻類由来色素体をもつ系統が一体どのような進化過程を経てきたのかはほとんどわかっていない^{1,12}。唯一、紅藻類を直接細胞内に取り込んで色素体とした生物の祖先として、クリプト藻類が知られている。クリプト藻類の色素体もクロララクニオン藻類や緑色渦鞭毛藻類と同様にヌクレオモルフをもつためである¹¹。しかし、その他の紅藻類由来色素体にはヌクレオモルフは存在しないため二次共生かどうかは別のデータが必要となる。そこで同じくヌクレオモルフを

もたないユーグレナ藻類葉緑体と同様に色素体ゲノムを用いた分子系統解析を行うと、紅藻類由来色素体をもつ系統は単系統になる(図1C)^{13,14}。ただし、渦鞭毛藻類やクロメラ類などは配列の進化速度が大きすぎるため解析には含むことは適切ではないと考えられ、実際多くの解析では除かれている^{e.g.,14}。特に、不等毛藻類、クリプト藻類、ハプト藻類の色素体の関係は、不等毛藻類が最初に分岐し、クリプト藻類とハプト藻類が姉妹群となる系統樹が得られる^{13,14}。ハプト藻類とクリプト藻類の色素体が姉妹群となることは、両藻類のもつ色素体リボソームタンパク質 Rpl36 が紅藻類や不等毛藻類のもつ遺伝子とは異なる起源であることから支持されている^{14,15}。紅藻類由来

色素体の進化に関して、1990年代から2000年代初頭に発表されたクロムアルベオラータ仮説というものがある^{16,17}。クロムアルベオラータ仮説とは、紅藻類由来色素体をもつすべての系統は単系統であり、その共通祖先で紅藻由来色素体の獲得が生じたとする仮説である。しかし、これまでに核コードタンパク質配列を用いた系統ゲノミクスにより、紅藻類由来色素体をもつ系統が単系統ではなく、それぞれ色素体をもたない従属栄養性や寄生性種と近縁であることが明らかにされている。不等毛藻類は卵菌類やラビリンチュラ類などに近縁であり、クリプト藻類はゴニオモナス類やカタブレファリス類、パルピトモナス類といった従属栄養性真核生物と単系統になる^{18,19}。また、ハプト藻類は有中心粒太陽虫と単系統となる¹²。この場合、その単系統群に属する非光合成性生物はすべて二次的に光合成能や色素体を喪失した、と考えることも可能である。ただし、特にクリプト藻類とその近縁従属栄養性生物の単系統群をクリプチスタと呼ぶが、クリプチスタは陸上植物、緑藻類、紅藻類、灰色藻類、ロデルフィディア類からなる単系統群アーケプラスチダにより近縁である可能性がある(図1A)^{4,12}。この系統関係が事実であれば、クロムアルベオラータ仮説^{16,17}は成立しない。紅藻類由来色素体をもつすべての系統の共通祖先とは、図1のアスタリスクにあたる。お分かりのように、紅藻が誕生する以前に紅藻類由来色素体が誕生するという矛盾が生じてしまう。そのため現在の系統樹では、代わりに以下の3つの可能性を示唆する²⁰⁻²²。I. ある系統が紅藻類を細胞内に取り込んで色素体を持ち、その光合成性生物がさらに別の従属栄養性種に取り込まれて色素体となった。II. 同一またはきわめて近縁な紅藻類が複数の系統に独立して細胞内共生し、色素体となった。III. IおよびIIがどちらも起きた。これらのいずれのシナリオにおいても、ハプト藻類、クリプト藻類、不等毛藻類の色素体系統樹が単系統性を示すことと矛盾しない。さらにこのシナリオに沿うと、上述の紅藻類由来色素体を有する系統に近縁な従属栄養性種は過去に一度も色素体をもたなかったことになるが、実際、クリプト藻類に近縁な従

属栄養性種ゴニオモナス類のゲノムおよびトランスクリプトームデータからは色素体が現在にもそして過去にも存在した証拠は得られていない^{18,19}。まだ検証とデータの積み重ねが必要と考えられるが、これまで考えられていた紅藻由来色素体の進化には変更が必要であることは確実である。すなわち、現在のところ、不等毛藻類やハプト藻類などで見られるヌクレオモルフをもたない紅藻類由来色素体が、紅藻類を直接取り込んだものなのか、それともクリプト藻類のような二次共生由来光合成性生物を取り込んで獲得された色素体なのか、不明である^{1,12,20-22}。

2. 光合成能喪失生物の多様性

このように色素体や光合成能が様々な系統に広がっていく一方で、一部の種は光合成能を二次的に喪失してきた。最も研究が進んでいる光合成能喪失生物の一つがマラリア原虫であろう。マラリア原虫はアピコンプレクサ類に属し、ゾウリムシなどのせん毛虫や夜光虫などの渦鞭毛藻類などとともにアルベオラータとしてまとめられる。ヒト感染性熱帯熱マラリア原虫 *Plasmodium falciparum* は、年間で2億人が感染し40万人が命を落とす原因になっている²³。そのため、マラリア原虫のもつ非光合成性色素体であるアピコプラストは、薬剤標的としても注目を集めてきた。しかしアピコプラストは観察とシーケンスによってシンプルに発見されたわけではなかった。アピコプラストには約35 kbの色素体由来環状DNAが保持されているが、このDNAの発見当時は塩基配列の決定も困難だったため、ミトコンドリアDNAだろうと考えられていた²⁴。しかし、1989年に6 kbの線状DNAこそがマラリア原虫のミトコンドリアゲノムであることが報告され²⁵、その後35 kbの環状DNA配列が解読されると、光合成に関与する遺伝子は存在しなかったものの色素体由来であることが分かった²⁶。アピコプラストゲノムに保持されていたのは、鉄硫黄クラスター合成に関わる *sufB* を除き、すべてがタンパク質の発現や分解に関わる遺伝子である。McFaddenら²⁷やKöhlerら²⁸は、免疫電顕によりその色素体由来DNAが4重包膜を有するオルガ

ネラに局在することを確認した。この一連の過程により、アピコンプレクサ類 (apicomplexans) の色素体 (plastid)、すなわちアピコプラスト (apicoplast) という非光合成性色素体が発見されたわけである。現在では、後述するさらなる発見により、アピコプラストは紅藻類由来色素体が縮退したものであることが分かっている²⁹。

P. falciparum アピコプラストではこれまでに 346 以上のタンパク質配列が局在し機能していることが分かっている³⁰。主な代謝系は 4 つあり、鉄硫黄クラスター合成、イソプレノイド合成、脂肪酸合成、ヘム合成である。ヘム合成は代謝経路の一部のみがアピコプラストに局在し、代謝の開始とヘムの合成はミトコンドリアで行われる³¹。ただし、*P. falciparum* アピコプラストで同定されている機能が、近縁種でも同様に保存されているわけではない。ウシ感染性 *Theileria parva* のアピコプラストは脂肪酸やヘムの合成に関与せず、鉄硫黄クラスター合成とイソプレノイド合成のみが知られている³²。このようなアピコプラスト代謝系は、光合成性色素体の代謝経路と比較すると極めて縮退していると言える。

上述のようにアピコンプレクサ類は光合成能喪失のモデルとしても研究が進められてきた。近年、アピコンプレクサ類に近縁な生物の報告が相次いでいるおり、アピコンプレクサ類における光合成能喪失や寄生性に関する進化的起源の解明が進むことが期待されている。最もセンセーショナルな報告となったのが、アピコンプレクサ類にもっとも近縁な光合成性生物・クロメラ類 *Chromera velia* や *Vitrella brassicaformis* であろう³³。サンゴのサンプルから単離培養された *C. velia* や *V. brassicaformis* は紅藻類由来色素体を有しており³³、タイプ II ルビスコや色素体コード遺伝子転写産物における 3'ポリ U 末端などの渦鞭毛藻類色素体との共通点を有していた²⁹。このことから、アルベオラータにおける色素体や色素体の痕跡器官を有する生物は上述の特徴を有した紅藻類由来色素体を有する光合成性の共通祖先から進化したと考えられている^{29,33}。さらに上記の *C. velia* や *V. brassicaformis* といったアピコンプレクサ類に近縁な光合成性種は単系統ではなく、

アピコンプレクサ類に近縁な別系統の非光合成性種 (コルポデラ類) とそれぞれ単系統となるため、このグループでは複数回独立して光合成能の喪失が生じたと考えられている^{34,35}。

同様に他の系統でも、非光合成性であり寄生性である藻類や陸上植物が知られている³⁶。しかし光合成能を喪失した生物は、必ずしも寄生性であるわけではない。光合成能喪失に伴い、他の生物に感染する寄生性に加え、バクテリアや単細胞の真核生物を捕食する捕食性、溶存有機物を取り込む吸収栄養性などに進化してきた。さらに、生存戦略だけでなく、系統的にも多様である。これまでに報告されている光合成能喪失は、上述した光合成性系統のうち、灰色藻類とハプト藻類、クロララクニオン藻類以外のすべてで知られる。シアノバクテリアにおいても、細胞内共生シアノバクテリアの中には光合成能を喪失した例が知られている³⁷。すなわち、光合成能の喪失という進化は、そこまで稀有な現象ではないのである。

陸上植物ではハマウツボや、ラフレシア、ランでの光合成能喪失が知られており、またコケ植物である *Aneura mirabilis* でも光合成能が喪失していることが報告されている³⁶。紅藻類では 100 種類以上が非光合成性であり³⁸、2019 年に報告された紅藻類の姉妹系統ロデルフィディア類は非光合成性である³⁹。ロデルフィディア類は単細胞の真核微生物を捕食し、従属栄養生活で増殖する。透過型電子顕微鏡観察では、その細胞内に明確な色素体の痕跡は観察されず、また色素体 DNA も検出されなかった³⁹。一方で、その核ゲノムには明らかに色素体局在タンパク質をコードしていると考えられる遺伝子が存在していた³⁹。このことから、ロデルフィディア類も光合成能を二次的に喪失したと考えられる。

クリプト藻類 *Cryptomonas* spp.^{40,41}、不等毛藻類⁴²⁻⁴⁴、渦鞭毛藻類⁴⁵、ユーグレナ藻類⁴⁶でも光合成能の二次的な喪失が報告されている。これらの系統における非光合成性種はほぼすべてが捕食性または吸収栄養性種である。さらにこれらの系統の中でそれぞれ複数回独立して光合成能の喪失が生じたことが分子系統解析から分かっている^{41,42,45-47}。特に不等毛藻類に属する珪藻綱^{42,47}、

黄金色藻綱⁴³、ディクチオカ藻綱⁴⁴で複数回の光合成能喪失が知られるが、この中でも黄金色藻綱では頻繁に光合成能の喪失が生じており、10回以上独立した喪失が起きていると言われている⁴³。

光合成能を喪失した藻類の多くは、色素体や色素体ゲノムを保持していることが報告されている。ただし、ごく限られた例外ではあるものの、色素体は保持しているが色素体ゲノムが喪失していると考えられるものや、色素体そのものが喪失していると考えられるものが報告されている。前者は上述のロデルフィディア類、陸上植物ラフレシア⁴⁸、緑藻類 *Polytomella* 属⁴⁹、不等毛藻類 *Paraphysomonas* 属 (黄金色藻綱)⁴³ などである。後者は渦鞭毛藻類 *Hematodinium* 属⁵⁰ およびアピコンプレクサ類 *Cryptosporidium* 属⁵¹ などである。このように例外はあるものの、筆者らの研究を始めとしてこれまでに非光合成性色素体のゲノム解析が行われてきた。そこで見えてきたことは、光合成能喪失後の色素体ゲノム進化におけるルールと例外である。

3. 非光合成性色素体ゲノムの縮退進化

不等毛藻類珪藻綱では、沖縄県西表島や石垣島サンプルから単離された非光合成性種を中心に研究が進められ^{42,52}、それらは *Nitzschia* 属として同定されている。*Nitzschia putrida* (発表当時は *Nitzschia* sp.) は 68 kb の環状色素体ゲノムをもち、そのゲノム構造はリボソーム RNA 遺伝子オペロンを中心とした逆位反復配列 (Inverted Repeat: IR) と 2 領域のシングルコピー領域からなる⁵³。近縁な非光合成性 *Nitzschia* spp. のもつ色素体ゲノムも同様のサイズと構造をもつことが判明している⁵⁴。一方で、モデル珪藻 *Phaeodactylum tricorutum* に代表される光合成性珪藻の色素体ゲノムは、非光合成性珪藻色素体と同様に IR と 2 領域のシングルコピー領域をもつが、そのサイズは 120 kb と非光合成性珪藻のそれと比較して 1.5 倍近い。すなわち、ゲノムサイズの縮退が光合成能喪失後に引き起こされたことが分かった。

同様のゲノムサイズの縮退は、紅藻類、クリプト藻類、ユーグレナ藻類、ディクチオカ藻類や黄

金色藻類でも観察される。そのサイズの縮退には幅があり、紅藻類では 1.8 倍⁵⁵、クリプト藻類では 1.2~1.8 倍^{40,41}、ユーグレナ藻類では 2 倍⁵⁶、ディクチオカ藻類では 3 倍以上⁴⁴、黄金色藻類では 2.5 倍⁴³ の違いが非光合成性と光合成性色素体ゲノムサイズの間に見られた。ちなみに上述したアピコンプレクサ類アピコプラストゲノム 35 kb と近縁光合成性種 *Chromera velia* 色素体ゲノム 121 kb では 3~4 倍の差がある²⁹。

このように、光合成能喪失後の色素体ゲノム縮退や喪失は複数の系統で生じている。詳細は後述するが、色素体ゲノムサイズの縮退は遺伝子喪失が生じているからである。非光合成性緑藻類の葉緑体ゲノムも、多くの遺伝子を喪失している。しかし、非光合成性緑藻類におけるゲノムサイズの縮退は必ずしもすべての種で観察されるわけではない。緑藻類では、トレボウクシア藻綱 *Helicosporidium* 属や *Prototheca* 属⁵⁷、緑藻綱 *Polytoma* 属や未記載培養株 *chlamydomonad* sp. の非光合成性葉緑体ゲノムが解読されている^{58,59}。上述の他の系統における色素体ゲノムのように、光合成能喪失後にゲノムサイズの縮退が生じているのはトレボウクシア藻綱 *Helicosporidium* 属や *Prototheca* 属では知られているが、*Polytoma* 属や *chlamydomonad* sp. といった緑藻綱では葉緑体ゲノム縮退は明確ではない (図 2)。緑藻綱ではむしろ光合成能喪失後にゲノムサイズは増大する傾向にある。非光合成性緑藻綱葉緑体ゲノムで

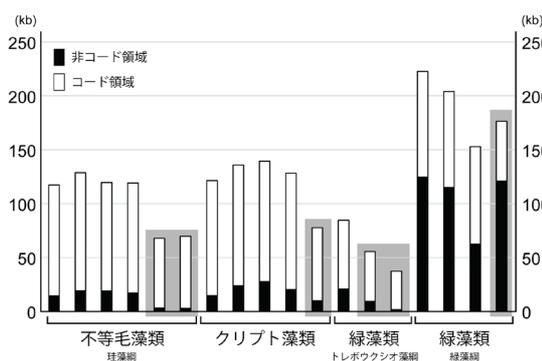


図2 色素体ゲノムにおけるサイズ、コード領域、非コード領域

代表例として珪藻、クリプト藻、緑藻における光合成性種と非光合成性種を比較した。灰色ハイライトされたものは非光合成性種。

は遺伝子間領域における「短いリピート配列 (SDR)」の増大が観察され、これが光合成能喪失後の葉緑体ゲノムサイズの増大につながっている。SDR に関しては、二本鎖 DNA 切断修復 (Double strand break repair) や mRNA の 3'末端形成における役割が報告されており⁶⁰⁻⁶²、同様の役割を光合成能喪失後ももつのであれば保持する選択圧がかかると予想される。しかし、それが仮に事実であったとしても、なぜ SDR が増大する方向に選択圧がかかっているのかに関しては不明である。

光合成能喪失後にどのような遺伝子を喪失してきたのかも、サイズと同様に光合成性種との比較から浮き彫りにすることができる。基本的に、光化学系 I、光化学系 II、チトクロム *b6/f* 複合体といった光合成電子伝達系で機能するタンパク質をコードした遺伝子は、非光合成性色素体ゲノムには観察されない。非光合成性陸上植物では偽遺伝子として残っている場合があるが、そのような偽遺伝子も非光合成性藻類では検出されていない。非光合成性色素体ゲノムに共通した遺伝子喪失はそのような光合成電子伝達に限定され、その他の遺伝子における喪失・保持は種ごとに異なる。

珪藻綱 *Nitzschia* spp.^{53,54} やクリプト藻類 *Cryptomonas* spp.^{40,41}、緑藻類トレボウクシオ藻綱 *Prototheca* spp.⁵⁷ の非光合成性種では、ATP 合成酵素複合体遺伝子が色素体ゲノムに保持されている。*Nitzschia* のトランスクリプトーム解析では核コードであるガンマサブユニットも検出されており、ガンマサブユニットの N 末端配列を GFP の N 末端に結合させたリコンビナントタンパク質は、モデル光合成性珪藻 *P. tricornutum* 細胞中で色素体に局在することが確認された^{53,63}。すなわち非光合成性 *Nitzschia* において、光合成電子伝達系は喪失しているにも関わらず、色素体ゲノムには ATP 合成酵素複合体遺伝子を有し、核コードガンマサブユニットは色素体移行能を有している。おそらく ATP 合成酵素複合体は非光合成性色素体内で何らかの機能を果たしていると考えられる。その機能として考えられる仮説としては、光合成性色素体 ATP 合成酵素複合体と

は逆の反応、すなわち「ATP 分解に働き、ストロマからルーメンにプロトンを汲み出している」というものがある⁵³。非光合成性珪藻の色素体ゲノムにはチラコイドルーメンへのタンパク質輸送を担う Twin-arginine translocator (Tat) のサブユニットである TatC がコードされている^{53,54}。また、トランスクリプトーム解析では Tat の核コードサブユニットも検出されている⁵³。Tat が機能するには、ルーメン-ストロマ間にプロトン勾配が必要であり⁶⁴、光合成性であれば電子伝達に伴いプロトン勾配が形成される。しかし、非光合成性の場合は別の機構でプロトン勾配を形成しなければ Tat は機能できないと考えられる。また、プロトン勾配を形成することでストロマがアルカリ性に傾くことが期待される⁶³。光合成性色素体のストロマは、電子伝達に伴うプロトン勾配の形成により弱アルカリ性になっていて、これがストロマ局在タンパク質の活性にも影響を与えうる⁶⁵。非光合成性色素体における ATP 合成酵素複合体はそれらのいずれかまたは両方の、はたまた全く違った役割を果たしているかもしれないが、今後生化学的に検証していく必要がある。

光合成に関連するタンパク質をコードした遺伝子として、ルビスコ *rbcL* および *rbcS* も非光合成性色素体ゲノムから検出されている。本遺伝子を有するのは非光合成性ユーグレナ藻類 *Euglena longa* およびクリプト藻類 *C. paramecium* である^{40,41,56}。前者の *rbcS* は核にコードされている。*E. longa* では葉緑体コード *RbsL* の発現は確認されたものの、核コードの *RbcS* が発現後に正しくプロセッシングされているか疑わしいという報告がある⁶⁶。*C. paramecium* の *rbcL* および *rbcS* では未だ生化学的に解析されておらず、今後の報告が待たれる。同様に光合成に関連するタンパク質をコードした遺伝子としてクロロフィル合成酵素遺伝子がこれまでに 3 つの系統で光合成能喪失後も保持されていることが知られている。*C. paramecium* ではその一つであるプロトポルフィリン IX キレーターゼ (*chlI*) が^{41,42}、コケ植物 *A. mirabilis*⁶⁷ や未分離サンゴ共生体真核微生物⁶⁸ は *chlI* ではなく光非依存型プロトクロロフィリド還元酵素 (*chlB*, *chlL*, *chlN*) を保持していること

が知られている。ルビスコ遺伝子と同じようにこちらにも非光合成性色素体内でどのような機能を担っているのか不明であり、クロロフィル合成関連遺伝子を有する非光合成性藻類の研究を進めることで、クロロフィル合成経路が有する「光合成以外の機能」を明らかにできる可能性がある。

このように非光合成性という性質を考えた際に「予想外」と思われる遺伝子組成を示すものもあれば、さらに縮退が進んでいるものも報告されている。特に非光合成性ディクチオカ藻綱 *Pteridomonas* 属は、色素体ゲノムから転写と翻訳に関わる遺伝子、すなわち rRNA 遺伝子、tRNA 遺伝子、RNA ポリメラーゼ遺伝子 *rpoA*、*rpoB*、*rpoC1*、*rpoC2*、翻訳伸長因子遺伝子 *tufA* のみ検出されており、生合成を触媒する酵素遺伝子は存在しなかった。これは鉄硫黄クラスター合成酵素遺伝子 *sufB* をコードするアピコプラストゲノムよりも機能的に縮退が進んでいる数少ない例の一つである⁴⁴。*Pteridomonas* 属の非光合成性色素体ゲノムは、ヘム合成の初期基質であるグルタミン酸 tRNA を合成するために存在していると考えられる⁴⁴。

4. 非光合成性色素体に保持されている代謝経路

色素体で機能するタンパク質の多くは、色素体ゲノムではなく核ゲノムにコードされている。非光合成性珪藻では、トランスクリプトーム解析および GFP を用いた局在解析による非光合成性色素体の機能推定が行われ、光合成電子伝達に関わる機能以外の代謝系の多くが未だ保持されている可能性が強く示唆されている⁶³。すなわち、ペントースリン酸経路、解糖系、シキミ酸経路、芳香族アミノ酸合成経路、分枝鎖アミノ酸合成経路、脂肪酸合成経路、ヘム合成経路、鉄硫黄クラスター合成経路である。イソプレノイド合成を色素体内で行う MEP 経路は検出されなかったが、細胞質 MVA 経路が検出されたことからイソプレノイド合成は細胞質で行っていると考えられる。

非光合成性珪藻は色素体ゲノム上にルビスコ遺伝子を欠くことから色素体内で効率的な炭酸固定はできないと考えられた^{53,54}。一方で、色素体内には糖リン酸を起点とした種々の生合成系

が存在すると考えられることから、色素体と細胞質または色素体とミトコンドリアの間で代謝レベルのネットワークが存在し、それにより色素体の代謝経路を支えているのではないかと考えられた。珪藻類の色素体は4枚の包膜をもち、非光合成性珪藻でも本構造が透過型電子顕微鏡観察で確認されている⁴²。トランスクリプトームデータから色素体包膜に局在するタンパク質配列を探索したところ、トリオースリン酸トランスポーターが4配列検出された(TPT1, TPT2, TPT4a, TPT4b)⁶³。TPT1が色素体最外膜、TPT2が外側2枚目、TPT4aおよびTPT4bが最内膜に局在することがGFPを用いた局在解析から示唆されており^{63,69}、TPTを通じて色素体とその他の画分の間で基質のやり取りが行われていると推定される。どのような基質が輸送可能であるのかを調べるため、小麦胚抽出物を用いた無細胞翻訳系で合成したTPT1、TPT2、TPT4aを人工リポソームに局在させ、放射性同位体ラベルしたリン酸を用いて解析した。調べたいずれのTPTもグルコース6リン酸はリポソーム内に輸送できず、ジヒドロキシアセトンリン酸、ホスホエノールピルビン酸、3ホスホグリセリン酸が輸送可能であった⁶⁹。陸上植物や紅藻類にみられる他の色素体トランスポーター、すなわちホスホエノールピルビン酸輸送体、グルコース6リン酸輸送体、キシルロース5リン酸輸送体は珪藻からは検出されなかったことから、上述のTPTが複数の基質を認識して輸送することで色素体の代謝系と細胞質やミトコンドリアの代謝系をつないでいると考えられた⁶⁹。

同様の研究により、非光合成性緑藻 *chlamydomonas* sp. NrCl902 株でも種々の葉緑体代謝経路が保持されていると考えられた⁵⁸。珪藻で検出された配列に加え、本株ではイソプレノイド合成経路である MEP 経路、さらにカロテノイド合成経路およびプラストキノール合成経路が検出された。細胞抽出液を HPLC に供した結果、少なくとも3種のカロテノイド、 β -カロテン、 γ -カロテン派生物質、ゼアキサントシンが検出された⁵⁸。本非光合成性緑藻類は眼点を有していることから、少なくとも検出されたカロテノイドの一部

は眼点に局在していると考えられが、ゼアキサントシンが緑藻類の眼点に含まれるという報告はなく、本カロテノイドが非光合成性藻類でどのような役割を有しているのか不明である⁵⁸。

カロテノイド合成経路には代謝中間産物の酸化反応があり、その際にプラストキノンが電子受容体となる。プラストキンは光合成性葉緑体では光化学系 II とチトクロム *b6/f* 複合体の間をつなぐ電子伝達体であり、また葉緑体ターミナルオキシダーゼ PTOX へと電子を渡し酸素を還元する。そこで LC-MS/MS でさらに解析した結果、プラストキノールおよびその酸化体であるプラストキノンが検出されたことから本藻葉緑体内でプラストキンを介した電子伝達が行われていると考えられた⁵⁸。

本経路が本藻の増殖において必須であるかを確認するため、著者らはプラストキノール合成系遺伝子であるホモゲンチジン酸ソラネシルトランスフェラーゼ (HST) を標的とした二本鎖 RNA を合成し、本遺伝子のノックダウンを試みた⁵⁸。コントロールとして二本鎖 RNA を用いない実験や HST の異なる標的領域をもつ二本鎖 RNA を用いた実験も同時に行った。その結果、二本鎖 RNA を用いない場合と比較して、二本鎖 RNA を用いた実験では細胞増殖が抑制され、また HST 転写産物量の低下やプラストキノール/プラストキノン量の有意な低下が観察された。標的領域を変えた実験でも同様に細胞増殖が抑制されたこ

とから、この効果がオフターゲットである可能性よりも、HST のノックダウンによってプラストキノール量が低下したことから引き起こされたと考えられた⁵⁸。すなわち、本藻は非光合成性でありながら、プラストキノール/プラストキンを介した電子伝達系の一部を保持し、細胞増殖に必要な機能を果たしていると考えられた。陸上植物などにおけるプラストキノールの代表的な役割が光合成電子伝達と PTOX を介した電子の排出であることから、本藻では後者により、非光合成性葉緑体内の酸化還元電位のバランスとしての必須な役割を担っていると考えられた⁵⁸。実際、カロテノイド合成系に加え、電子の授受に関わるタイプ II NAD(P)H 還元酵素や酸素を還元する PTOX も本藻トランスクリプトーム解析から配列が検出されていることから、同様の経路で電子の授受と酸素を最終電子受容体とした排出が起こりうることが示唆された (図 3)⁵⁸。

上述の緑藻や珪藻は、マラリア原虫やその近縁種における非光合成性色素体機能と比較すると極めて多様な色素体機能を光合成能喪失後も保持している。しかし、すべての非光合成性藻類が同様というわけではなく、機能縮退が進んでいると考えられる種も存在する。非光合成性黄金色藻 “*Spumella*” sp. NIES-1846 は、アミノ酸合成経路や脂肪酸合成経路、ペントースリン酸経路などが検出されず、色素体機能は解糖およびヘム合成、鉄硫黄クラスター合成、脂質合成経路しか検出され

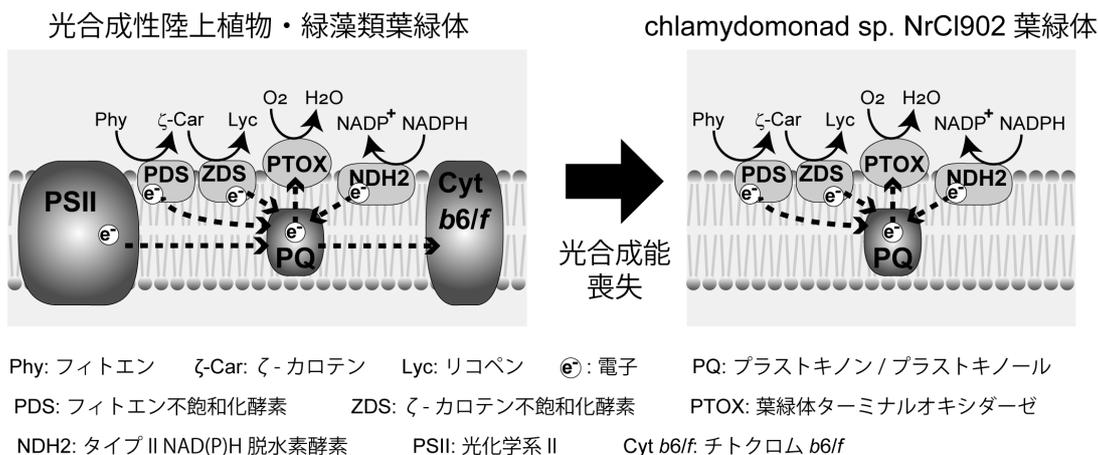


図3 プラストキノン/プラストキノールの役割
 実線矢印は酸化還元反応を、点線矢印は電子の流れを示す。

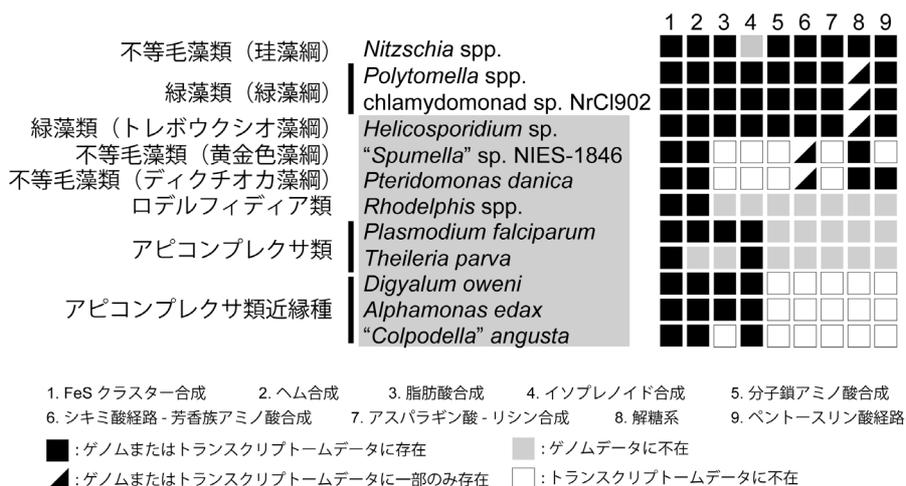


図4 非光合成性色素体機能の分布、系統と栄養獲得様式
 灰色ハイライトされた生物は捕食性または寄生性種を示す。

なかった (図 4) ²²。同様に非光合成性ディクチオカ藻 *Pteridomonas danica* でもさらに縮退しており、解糖およびヘム合成、ペントースリン酸経路のみが検出された ⁴⁴。

機能縮退が進んでいる非光合成性色素体を有する生物は必ずしも近縁な関係にあるわけではない。一方で、それぞれの細胞のもつ性質に着目すると、機能縮退が進んでいる非光合成性色素体を有する生物はいずれも絶対寄生性または他の微生物を捕食する捕食性種である (図 4)。おそらく寄生性種や捕食性種は、その宿主や捕食生物から色素体代謝物にあたるアミノ酸や脂肪酸などを獲得することが可能であると考えられる ^{22,63}。それゆえ色素体の機能縮退が生じる進化が可能であったと考えられた。一方で、従属栄養性の緑藻や珪藻の多くは吸収栄養性である。環境中にはアミノ酸や脂肪酸などの色素体代謝物が豊富に溶存しているとは考えにくい。これらを効率的に外部から獲得することは困難であるため、色素体の機能縮退が生じることなく多様な代謝経路を色素体内に保持しているのではないかと考えられた ^{22,63}。図 4 中の例外的な存在である *Helicosporidium* sp. は昆虫腸内への寄生性生物としても知られるが、生活環の一部に自由生活期をもつことが示唆されている ⁷⁰。まとめると、光合成能の喪失そのものが色素体の縮退進化に作用するのではなく、また近縁であれば同様の色素体機能を保持するというわけでもない。むしろ、絶

対寄生性なのか、捕食性なのか、はたまた吸収栄養性なのかといった、光合成能を喪失した細胞そのものがどのような栄養獲得様式を有しているかが色素体機能の縮退進化におけるトリガーとして重要である可能性がある。

5. おわりに

アピコプラストは色素体の縮退進化を解明するカギとして注目されてきた。しかし近年の非光合成性藻類の研究が進められるにつれ、必ずしもアピコプラストは色素体縮退進化の王道ではなく、多様性の一つであると考えられるようになってきている。ここで紹介したように、非光合成性藻類の研究は色素体が中心であった。現在でも筆者は、非光合成藻類の系統的な多様性や、非光合成性色素体に保持されるクロロフィル合成経路やカロテノイド合成経路の役割に着目して研究を進めている。加えて、筆者はさらにそこから一歩進めて、光合成能の喪失が「色素体以外の細胞機能」にどのような影響を与えるかにも注目して研究を進めようとしている。その第一弾として、非光合成性珪藻類 *Nitzschia putrida* の全ゲノム解読を行い、光合成能喪失に伴い細胞全体でどのような進化が生じたかを明らかにしようと試みている。その成果の一部は bioRxiv で閲覧可能である ⁷¹。もしご興味を持たれた方がおられたらご一読いただければ幸いです。

謝辞

本稿で紹介した中での筆者の研究の一部は、科学費 (24870004、15H05606、19H03274)、公益財団法人昭和聖徳記念財団、公益財団法人発酵研究所、ヤンマー資源循環支援機構からの助成によって行われました。また紙面の関係上名前を列举することは叶いませんが、研究を支えてくれた学生および研究員、そして多くの共同研究者の皆様に感謝申し上げます。

Received Mar 2, 2021; Accepted Mar 25, 2021; Published Apr 30, 2021.

参考文献

- Sibbald, S. J. & Archibald, J. M. Genomic insights into plastid evolution. *Genome Biol. Evol.* 12, 978-990.
- Ponce-Toledo, R. I. et al. An early-branching freshwater cyanobacterium at the origin of plastids. *Curr. Biol.* 27, 386-391 (2017)
- Sato, N. Complex origins of chloroplast membranes with photosynthetic machineries: multiple transfers of genes from divergent organisms at different times or a single endosymbiotic event? *J. Plant Res.* 133, 15-33 (2020)
- Gawryluk, R. M. R. et al. Non-photosynthetic predators are sister to red algae. *Nature* 572, 240-243 (2019)
- Suzuki, S., Hirakawa, Y., Kofuji, R., Sugita, M. & Ishida K. Plastid genome sequences of *Gymnochlora stellata*, *Lotharella vacuolata*, and *Partenskyella glossopodia* reveal remarkable structural conservation among chlorarachniophyte species. *J. Plant Res.* 129, 581-590 (2016)
- Turmel, M., Gagnon, M. C., O'Kelly, C. J., Otis, C. & Lemieux, C. The chloroplast genomes of the green algae *Pyramimonas*, *Monomastix*, and *Pycnococcus* shed new light on the evolutionary history of prasinophytes and the origin of the secondary chloroplasts of euglenids. *Mol. Biol. Evol.* 26, 631-648 (2009)
- Kamikawa, R. et al. Plastid genome-based phylogeny pinpointed the origin of the green-colored plastid in the dinoflagellate *Lepidodinium chlorophorum*. *Genome Biol. Evol.* 7, 1133-1140 (2015).
- Jackson, C., Knoll, A. H., Chan, C. X. & Verbruggen, H. Plastid phylogenomics with broad taxon sampling further elucidates the distinct evolutionary origins and timing of secondary green plastids. *Sci. Rep.* 8, 1523 (2018)
- Sarai, C. et al. Dinoflagellates with relic endosymbiont nuclei as models for elucidating organellogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 5364-5375 (2020).
- Nakayama, T. et al. Putative genome features of relic green alga-derived nuclei in dinoflagellates and future perspectives as model organisms. *Commun. Integr. Biol.* 13, 84-88 (2020)
- Curtis, B. A. et al. Algal genomes reveal evolutionary mosaicism and the fate of nucleomorphs. *Nature* 492, 59-65 (2012)
- Burki, F. et al. Untangling the early diversification of eukaryotes: a phylogenomic study of the evolutionary origins of Centrohelida, Haptophyta and Cryptista. *Proc. R. Soc. B* 283, 20152802 (2016)
- Kim, J. et al. Evolutionary dynamics of cryptophyte plastid genomes. *Genome Biol. Evol.* 9, 1859-1872 (2017)
- Kawachi, M. et al. Rappemonads are haptophyte phytoplankton. *Curr. Biol.* (in press)
- Rice, D. W. & Palmer, J. D. An exceptional horizontal gene transfer in plastids: gene replacement by a distant bacterial paralog and evidence that haptophyte and cryptophyte plastids are sisters. *BMC Biol.* 4, 31 (2006)
- Cavalier-Smith, T. Principles of protein and lipid targeting in secondary symbiogenesis: euglenoid, dinoflagellate, and sporozoan plastid origins and the eukaryote family tree. *J. Eukaryot. Microbiol.* 46, 347-366 (1999)
- Cavalier-Smith, T. Genomic reduction and evolution of novel membranes and protein-targeting machinery in eukaryote-eukaryote chimaeras (meta-algae). *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 358, 109-134 (2002)
- Yabuki, A. et al. *Palpitomonas bilix* represents a basal cryptist lineage: insight into the character evolution in Cryptista. *Sci. Rep.* 4, 4641 (2014)
- Cenci, U. et al. Nuclear genome sequence of the plastid-lacking cryptomonad *Goniomonas avonlea* provides insights into the evolution of secondary plastids. *BMC Biol.* 16, 137 (2018)
- Petersen, J. et al. *Chromera velia*, endosymbioses and the Rhodoplex Hypothesis—plastid evolution in cryptophytes, alveolates, stramenopiles, and

- haptophytes (CASH lineages). *Genome Biol. Evol.* 6, 666-684 (2014)
21. Stiller, J.W. et al. The evolution of photosynthesis in chromist algae through serial endosymbioses. *Nat. Commun.* 5, 5764.
 22. Dorrell, R.G. et al. Chimeric origins of ochrophytes and haptophytes revealed through an ancient plastid proteome. *eLife* 6, e23717 (2017)
 23. Global Malaria Programme. In *WHO world malaria report 2019* (ed World Health Organization) (Switzerland, 2019)
 24. Kilejian, A. Circular mitochondrial DNA from the avian malaria parasite *Plasmodium lophurae*. *Biochim. Biophys. Acta* 390, 276-284 (1975)
 25. Vaidya, A. B., Akella, R. & Suplick, K. Sequences similar to genes for two mitochondrial proteins and portions of ribosomal RNA in tandemly arrayed 6 kilobase-pair DNA of a malaria parasite. *Mol. Biochem. Parasitol.* 35, 97-108 (1989)
 26. Wilson, R. J. M. et al. Complete gene map of the plastid-like DNA of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *J. Mol. Biol.* 261, 155-172 (1996)
 27. McFadden, G. I., Reith, M. E., Munholland, J. & Lang-Unnasch, N. Plastid in human parasites. *Nature* 381, 482 (1996)
 28. Köhler, S. et al. A plastid of probable green algal origin in apicomplexan parasites. *Science* 275, 1485-1489 (1997)
 29. Janouškovec, J., Horák, A., Oborník, M., Lukeš, J. & Keeling, P. J. A common red algal origin of the apicomplexan, dinoflagellate, and heterokont plastids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 10949-10954 (2010)
 30. Boucher, M. J. et al. Integrative proteomics and bioinformatic prediction enable a high-confidence apicoplast proteome in malaria parasites. *PLoS Biol.* 16, e2005895 (2018)
 31. Ralph, S. A. et al. Metabolic maps and functions of the *Plasmodium falciparum* apicoplast. *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 203-216 (2004)
 32. Gardner, M. J. et al. Genome sequence of *Theileria parva*, a bovine pathogen that transforms lymphocytes. *Science* 309, 134-137 (2005)
 33. Moore, R. B. A photosynthetic alveolate closely related to apicomplexan parasites. *Nature* 451, 959-963 (2008)
 34. Janouškovec, J. et al. Apicomplexan-like parasites are polyphyletic and widely but selectively dependent on cryptic plastid organelles. *eLife* 8, e49662 (2019)
 35. Mathur, V. et al. Multiple independent origins of apicomplexan-like parasites. *Curr. Biol.* 29, 2936-2941 (2019)
 36. Hadariová, L., Vesteg, M., Hampl, V. & Krajčovič, J. Reductive evolution of chloroplasts in non-photosynthetic plants, algae and protists. *Curr. Genet.* 64, 365-387 (2018)
 37. Nakayama, T. et al. Complete genome of a nonphotosynthetic cyanobacterium in a diatom reveals recent adaptations to an intracellular lifestyle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111, 11407-11412 (2014)
 38. Preuss, M., Nelson, W. A. & Zuccarello, G. C. Red algal parasites: a synopsis of described species, their hosts, distinguishing characters and areas for continued research. *Bot. Mar.* 60: 13-25 (2017)
 39. Gawryluk, R. M. R. et al. Non-photosynthetic predators are sister to red algae. *Nature* 572, 240-243 (2019)
 40. Donaher, N. et al. The complete plastid genome sequence of the secondarily nonphotosynthetic alga *Cryptomonas paramecium*: reduction, compaction, and accelerated evolutionary rate. *Genome Biol. Evol.* 1, 439-448 (2009)
 41. Tanifuji, G. et al. Comparative plastid genomics of *Cryptomonas* species reveals fine-scale genomic responses to loss of photosynthesis. *Genome Biol. Evol.* 12, 3926-3937 (2020)
 42. Kamikawa, R. et al. Multiple losses of photosynthesis in *Nitzschia* (Bacillariophyceae). *Phycol. Res.* 63, 19-28 (2015).
 43. Dorrell, R. G. et al. Principles of plastid reductive evolution illuminated by nonphotosynthetic chrysophytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116, 6914-6923 (2019)
 44. Kayama, M. et al. Highly reduced plastid genomes of the non-photosynthetic dictyochophyceans *Pteridomonas* spp. (Ochrophyta, SAR) are retained for tRNA-Glu-based organellar heme biosynthesis. *Front Plant Sci.* 11, 602455 (2020)
 45. Janouškovec, J. et al. Major transitions in dinoflagellate evolution unveiled by phylotranscriptomics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114, E171-E180 (2017)
 46. Marin, B., Palm, A., Klingberg, M. & Melkonian, M. Phylogeny and taxonomic revision of plastid-containing euglenophytes based on SSU rDNA sequence comparisons and synapomorphic signatures in the SSU rRNA secondary structure. *Protist* 154, 99-145 (2003)

47. Frankovich, T. A., Ashworth, M. P., Sullivan, M. J., Theriot, E. C. & Stacy, N. I. Epizoic and apochlorotic *Tursiocola* species (Bacillariophyta) from the skin of florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*). *Protist* 169, 539-568 (2018)
48. Molina, J. et al. Possible loss of the chloroplast genome in the parasitic flowering plant *Rafflesia lagascae* (Rafflesiaceae). *Mol. Biol. Evol.* 31, 793-803 (2014)
49. Smith, D. R. & Lee, R. W. A plastid without a genome: evidence from the nonphotosynthetic green algal genus *Polytomella*. *Plant Physiol.* 164, 1812-1819 (2014)
50. Gornik, S. G. et al. Endosymbiosis undone by stepwise elimination of the plastid in a parasitic dinoflagellate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 5767-5772 (2015)
51. Abrahamsen, M. S. et al. Complete genome sequence of the apicomplexan, *Cryptosporidium parvum*. *Science* 304, 441-445 (2004)
52. Ishii, K. & Kamikawa, R. Growth characterization of non-photosynthetic diatoms, *Nitzschia* spp., inhabiting estuarine mangrove forests of Ishigaki Island, Japan. *Plankton Benthos Res.* 12, 164-170 (2017)
53. Kamikawa, R. et al. Proposal of a twin arginine translocator system-mediated constraint against loss of ATP synthase genes from nonphotosynthetic plastid genomes. *Mol. Biol. Evol.* 32, 2598-2604 (2015).
54. Kamikawa, R., Azuma, T., Ishii, K., Matsuno, Y. & Miyashita, H. Diversity of organellar genomes in non-photosynthetic diatoms. *Protist* 169, 351-361 (2018)
55. Salomaki, E. D., Nickles, K. R. & Lane, C. E. The ghost plastid of *Choreocolax polysiphoniae*. *J. Phycol.* 51, 217-221 (2015)
56. Gockel, G., Hachtel, W. Complete gene map of the plastid genome of the nonphotosynthetic euglenoid flagellate *Astasia longa*. *Protist* 151, 347-351 (2000)
57. Suzuki, S. et al. Multiple losses of photosynthesis and convergent reductive genome evolution in the colourless green algae *Prototheca*. *Sci. Rep.* 8, 940 (2018)
58. Kayama, M. et al. A non-photosynthetic green alga illuminates the reductive evolution of plastid electron transport systems. *BMC Biol.* 18, 126 (2020)
59. Figueroa-Martinez, F., Nedelcu, A. M., Smith, D. R. & Reyes-Prieto, A. The plastid genome of *Polytoma uvella* is the largest known among colorless algae and plants and reflects contrasting evolutionary paths to nonphotosynthetic lifestyles. *Plant Physiol.* 173, 932-943 (2017)
60. Odom, O. W., Baek, K.-H., Dani, R. N. & Herrin, D. L. *Chlamydomonas* chloroplasts can use short dispersed repeats and multiple pathways to repair a double-strand break in the genome. *Plant J.* 53, 842-853 (2008)
61. Smith, D. R. Can green algal plastid genome size be explained by DNA repair mechanisms? *Genome Biol. Evol.* 12, 3797-3802 (2020)
62. Jiao, H. S., Hicks, A., Simpson, C. & Stern, D. B. Short dispersed repeats in the *Chlamydomonas* chloroplast genome are collocated with sites for mRNA 3' end formation. *Curr Genet* 45, 311-322 (2004)
63. Kamikawa, R. et al. A non-photosynthetic diatom reveals early steps of reductive evolution in plastids. *Mol. Biol. Evol.* 34, 2355-2366 (2017)
64. Jarvis, P. & Robinson, C. Mechanisms of protein import and routing in chloroplasts. *Curr Biol.* 14, R1064-R1077 (2004)
65. Zimmermann, G., Kelly, G.J. & Latzko, E. Efficient purification and molecular properties of spinach chloroplast fructose 1,6-bisphosphatase. *Eur. J. Biochem.* 70, 361-367 (1976)
66. Zahonova, K. et al. RuBisCO in non-photosynthetic alga *Euglena longa*: Divergent features, transcriptomic analysis and regulation of complex formation. *PLoS ONE* 11, e0158790 (2016)
67. Wickett, N. J. et al. Functional gene losses occur with minimal size reduction in the plastid genome of the parasitic liverwort *Aneura mirabilis*. *Mol. Biol. Evol.* 25, 393-401 (2008)
68. Kwong, W. K., del Campo, J., Mathur, V., Vermeij, M. J. A. & Keeling, P. J. A widespread coral-infecting apicomplexan with chlorophyll biosynthesis genes. *Nature* 568, 103-107 (2019)
69. Moog, D., Nozawa, A., Tozawa, Y. & Kamikawa, R. Substrate specificity of plastid phosphate transporters in a non-photosynthetic diatom and its implication in evolution of red alga-derived complex plastids. *Sci. Rep.* 10, 1167 (2020)
70. Boucias, D. G., Becnel, J. J., White, S. E. & Bott, M. *In vivo* and *in vitro* development of the protist *Helicosporidium* sp. *J. Eukaryot. Microbiol.* 48, 460-470 (2001)
71. Kamikawa, R. et al. Genome evolution of a non-parasitic secondary heterotroph, the diatom *Nitzschia putrida*. *bioRxiv* <https://doi.org/10.1101/2021.01.24.427197> (2021)

72. Roger, A. J., Muñoz-Gómez, S. A. & Kamikawa, R. Origin and diversification of mitochondria. *Curr. Biol.* 27, R1177-R1192 (2017)
73. Strasser, J. F. H., Jamy, M., Mylnikov, A. P., Tikhonenkov, D. V. & Burki, F. New phylogenomic analysis of the enigmatic phylum Telonemia further resolves the eukaryote tree of life. *Mol. Biol. Evol.* 36, 757-765 (2019)
74. Lax, G. et al. Hemimastigophora is a novel supra-kingdom-level lineage of eukaryotes. *Nature* 564, 410-414 (2018)
75. Burki, F., Roger, A. J., Brown, M. W. & Simpson, A. G. B. The new tree of eukaryotes. *Trends Ecol. Evol.* 35, 43-55 (2020)

No photosynthesis, no life? Plastid evolution in non-photosynthetic algae

Ryoma Kamikawa

Division of Applied Biosciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University

解説

テトラピロールおよび GUN1 プラスチドシグナルを介した葉緑体形成[‡]

東京大学大学院 総合文化研究科

清水 隆之*, 増田 建

葉緑体形成には、葉緑体と核のゲノムの協調的な発現が必要である。色素体から放出されるシグナル（プラスチドシグナル）は、色素体の発達段階と機能状態に応じて核遺伝子の発現を制御すると考えられている。分子遺伝学的解析により、プラスチドシグナル伝達に欠損のある一連の変異体 (*gun* 変異体) が特定された。それらの原因遺伝子の解明により、プラスチドシグナル伝達にテトラピロール生合成が関与することが明らかになってきた。一方、複数のプラスチドシグナルを統合する因子として考えられている GUN1 の分子機能はまだわかっていない。最近、GUN1 と複数のタンパク質の相互作用に基づいて、いくつかの仮説が提案されてきた。本解説では、葉緑体形成におけるテトラピロールに依存したプラスチドシグナル伝達に関して、最近の知見を解説する。

1. はじめに

テトラピロールは、光吸収、電子伝達、酸素結合など、生物の生存に不可欠なさまざまな機能に関与しており^{1,2}、呼吸や光合成などの一次代謝の必須成分である。テトラピロールは、開環（ビリニンなど）または環状（ポルフィリンなど）の化学構造で、4つのピロール（4つの炭素原子と1つの窒素原子を含む環状構造）から成る。多くのポルフィリンは、Mg²⁺、Co²⁺、Fe²⁺またはFe³⁺などの金属イオンを中心金属として配位している。一方、完全に共役したポルフィリン環は光増感作用を持ち、光励起下で活性酸素種（ROS）である一重項酸素を生成し、光酸化損傷や細胞死を引き起こす³。したがって、テトラピロール生合成は厳密に制御されることが知られている。植物や藻類では、テトラピロールの主な最終産物は、シロヘム、ヘム、フィトクロモビルン、クロロフィル(Chl) *a*、および Chl *b* である。これらのテトラピロールは色素体で合成されるが、Chlを除いて細胞内に分布している。特に、ヘムは細胞内の様々なオルガネラに存在している。さらにテトラピロール

は、補欠分子族としての機能に加えて、色素体からのシグナル伝達分子としての役割を担うと考えられている。本解説では、シロイヌナズナの葉緑体形成におけるテトラピロールのシグナル伝達に焦点を当てる。また GUN1 の機能について新たなモデルを提案する。

2. 植物におけるテトラピロール合成

植物細胞では、テトラピロールの生合成は全て色素体で起こる（図1）。テトラピロールの前駆体は5-アミノレブリン酸 (ALA) であり、植物、藻類、および多くの細菌では、ALAはC₅経路を介してグルタミン酸から合成される⁴。この経路におけるグルタミル-tRNA還元酵素 (GluTR) の段階は、全てのテトラピロール生合成の律速段階であり、その活性は転写および転写後調節によって厳密に制御されている^{5,6}。シロイヌナズナのGluTRには、2つアイソフォーム (HEMA1、HEMA2) が存在し、HEMA1は緑色の組織で活発に発現し、主にChl生合成に関与している^{7,8}。ALAからプロトポルフィリンIX (Proto) までの

[‡]解説特集「諸刃の剣：光合成との付き合い方」

*連絡先 E-mail: ctshimizu@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

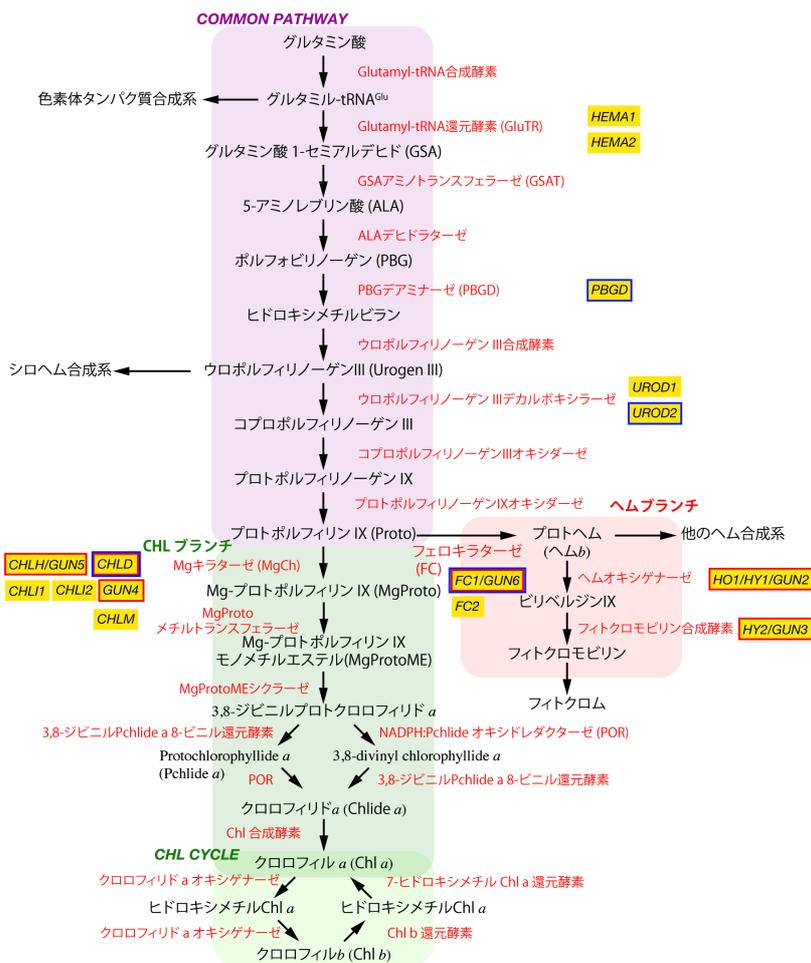


図1 テトラピロール生合成経路

テトラピロール生合成経路に関与する酵素を赤字で示している。本解説で重要な遺伝子を黄色のボックスで示し、GUNタンパク質をコードする遺伝子を赤い囲み線で示している。GUN1相互作用タンパク質は青い囲み線で示している。GUN2～GUN6遺伝子はChlおよびヘム生合成の分岐点近くに見られる。

生合成経路は、多くの生物で共通しているため「Common Pathway」と呼ばれる。Proto から先の経路は、2種類のキラターゼによってChlまたはヘム生合成経路に分岐する。

Chl ブランチでは、Mg-キラターゼ (MgCh) による Mg²⁺の挿入によって Mg-プロトポルフィリン IX (MgProto) が合成され、Chl a の生合成につながる。合成された Chl a の一部は Chl サイクルを介して Chl b に可逆的に変換される⁵。植物の MgCh は、CHLI、CHLD、CHLH の3つのサブユニットで構成されている。シロイヌナズナでは、CHLD と CHLH は単一の遺伝子によってコードされ、CHLI は2つのアイソフォーム、CHLI1 と CHLI2 によってコードされる。CHLI1 は光合成

に不可欠だが^{9,10}、CHLI2 は補助的な役割を果たしている¹¹。さらに、CHLH と基質または生成物の結合を促進することで MgCh 活性を活性化する制御因子として GUN4 が知られている¹²⁻¹⁴。これらのタンパク質は、葉緑体形成においても重要な役割を果たす¹⁵。

一方、ヘムブランチでは、フェロキラターゼ (FC) が Fe²⁺を Proto に挿入してプロトヘム (ヘム b) を生成する。これは、カタラーゼやペルオキシダーゼなどのタンパク質の補欠分子族となる。一部のプロトヘムは、ヘム a やヘム c にさらに代謝される。プロトヘムはビルン合成の基質でもあり、合成されたフィトクロモビルンは、フィトクロムの発色団として機能する¹⁶。シロイヌナ

ズナとキュウリの FC には 2 つのアイソフォーム (FC1 と FC2) が存在する。FC2 の発現は光依存的で、主に光合成組織で発現するが、FC1 はストレス応答性を示し、すべての組織で発現する^{17,18}。後述のように、FC1 由来のプロトヘムは葉緑体と核のコミュニケーションにおいても重要であると考えられている¹⁹。

3. プラスチドシグナルによる葉緑体形成

葉緑体は光合成機能を持つように分化した色素体である²⁰。被子植物の分裂組織では、色素体は未分化の原色素体 (proplastid) として存在し、葉緑体は発生段階や光シグナルによって原色素体から直接分化できる。葉緑体形成では、チラコイドが構築され、光合成の光反応の場が提供される^{20,21}。暗所では、色素体はプロトクロフィリド *a* (Pchl *a*) と光依存性 NADPH:Pchl *a* oxidoreductase (POR) を蓄積し、これらを主成分とするプロラメラボディ (PLB) と呼ばれる独特の格子膜構造を持つエチオプラストに分化する。黄化芽生えは照射されると、Pchl *a* が POR によって速やかに Chl *a* に変換され、クロロフィル合成酵素によって Chl *a* が合成され、葉緑体への分化が進む²²。

色素体の起源は、シアノバクテリアの内部共生に由来すると考えられている²³。シアノバクテリア由来の多くの遺伝子は、共生後に失われるか、宿主の核に移ったと考えられている。しかし、光合成、転写、および翻訳に関与するいくつかの遺伝子は、色素体ゲノム DNA に保持されている²⁴⁻²⁶。葉緑体の光合成反応に関与するタンパク質複合体は、核ゲノムと色素体ゲノムにコードされるタンパク質で構成されているため、機能的な葉緑体形成には、核と葉緑体での協調的な遺伝子発現が必要である。

核は葉緑体形成のほとんどを制御しているが (アンテログレードシグナル)^{27,28}、色素体からも核遺伝子発現を制御するシグナルを放出していると考えられている (プラスチドシグナル)。これまで、色素体から核へのコミュニケーションに関わる複数のシグナル伝達経路が提案されてきた。一般に、プラスチドシグナルは、1) 葉緑

体形成の初期段階で主に作用する生物学的 (Biogenic) なシグナルと、2) 成熟した葉緑体において環境刺激に応答して生成される調整的 (Operational) なシグナルの 2 つに分類される²⁹。前者では、主に芽生え発生初期における葉緑体形成と核遺伝子発現との関係から解析されてきた。一方、後者は成熟した葉緑体で行われ、3 つの葉緑体レドックスシグナル、すなわち、i) 光合成電子伝達鎖 (PET)、主にプラスチドキノンのレドックス状態、ii) PET に共役したレドックス応答性チオール基含有タンパク質および抗酸化剤のレドックス状態、iii) ROS の生成、を含むことが提案されている²⁹。本解説では、生物学的なシグナルに焦点を当てる。調整的シグナルに関しては、他の総説を参照されたい³⁰⁻³²。

プラスチドシグナルの生物学的なシグナルに関しては、多くの光合成関連核遺伝子 (PhANGs) の発現が機能的な葉緑体に依存しているという発見に基づいている^{33,34}。突然変異または阻害剤による葉緑体機能の阻害は、多くの PhANGs の発現を強く抑制する³⁵。この葉緑体機能阻害に対する核遺伝子発現の抑制が低下した *genomes uncoupled (gun)* 変異体と呼ばれる複数の変異体が、カロテノイド生合成阻害剤であるノルフルラゾン (NF) 処理しても、*Lhcb* 遺伝子などの PhANGs の発現が脱抑制されるシロイヌナズナの変異体スクリーニングにより単離された³⁵。これまで *gun* 変異体には、テトラピロール代謝に影響を受けた変異体^{12,15,19,35} と光シグナル伝達因子の変異体³⁶ が同定されている。

4. *gun* 変異体

最初の *gun* 変異体スクリーニングでは、NF 処理後に PhANGs の発現を保持した 5 つの突然変異体 (*gun1* から *gun5*) が単離された³⁵。*gun2*、*gun3*、*gun4*、および *gun5* は、テトラピロール生合成系の 4 つの変異体であり、その原因遺伝子は、それぞれヘムオキシゲナーゼ、フィトクロモビルン合成酵素、および MgCh の制御因子 GUN4 と CHLH をコードしている¹⁵ (図 1)。これらの結果は、プラスチドシグナルにテトラピロール代謝が関与することを示している。

gun4 と *gun5* 変異は MgCh 活性に直接影響し、*gun2* と *gun3* 変異体はヘムを代謝できないため、ALA 合成系における GluTR 活性のフィードバック阻害を引き起こす可能性が示唆された。その後、Chl ブランチの最初の間体である MgProto が、負のプラスチドシグナルとして機能し、PhANGs 発現を抑制するという仮説が提案された³⁷⁻³⁹。しかし、MgProto メチルトランスフェラーゼ (*chlm*)⁴⁰ および MgProtoME シクラーゼ (*chl27*)³⁹ を欠損したシロイヌナズナ変異体は高レベルの MgProto を蓄積するにもかかわらず、*gun* 表現型を示さなかった。さらに、NF 処理したシロイヌナズナのテトラピロール中間体の詳細な定量化が行われ、複数の *gun* 変異体における MgProto の蓄積レベルと *gun* 表現型には相関関係がないことが明らかとなった^{41,42}。

その後、プロトヘム (以下、ヘム) が正のプラスチドシグナルとして機能するという仮説が提案された。ヘムは、酵母、動物^{43,44}、藻類⁴⁵⁻⁴⁷ の転写や細胞周期の調節因子として機能することが知られており、植物細胞においても同様の機能を果たすことが考えられた。アクチベーションタギング法により新たに単離された *gun* 変異体の *gun6-1D* は、FC1 を過剰発現する優性の変異体であった。一方で、FC2 過剰発現体は *gun* 表現型を示さなかったことから、FC1 由来のヘムが PhANGs を制御するプラスチドシグナル伝達分子として機能することが提案された¹⁹。実際、FC1 が色素体外のオルガネラに必要なヘムを供給し、FC2 が色素体内の光合成に必要なヘムを合成することが示されている⁴⁸。また、色素体での FC1 の過剰発現は *gun* 表現型を示すが、ミトコンドリアで過剰発現しても *gun* 表現型を示さない⁴⁹。しかし、細胞内における総ヘム^{19,50} および遊離ヘム⁵¹ のレベルは、*gun* 表現型とは相関しないことが報告されている。FC1 と FC2 は共に色素体に局在しているため、FC1 の色素体内における精密な局在性と細胞内におけるヘム輸送の分子機構を明らかにすることが今後重要であると考えられる¹⁹。筆者らは、シロイヌナズナおよび紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* を用いてヘム結合タンパク質のプロテオミクス分析を行い、核局在の転写

因子、ヒストン脱アセチル化酵素、RNA ヘリカーゼなど、いくつかの新規な色素体外タンパク質を同定している⁵²。これらのヘム結合タンパク質の解析により、ヘムシグナル伝達経路の解明に迫っていきたいと考えている。

また、プラスチドシグナルに関与する他のタンパク質も提案されている。ABSCISIC ACIC INSENSITIVE 4 (ABI4) や、膜貫通ドメインを伴う PHD 型転写因子 (PTM) はプラスチドシグナルに関与する転写因子であると報告された^{53,54}。しかし、その後の詳細な解析により *abi4*⁵⁵⁻⁵⁸ や *ptm*⁵⁹ が *gun* 表現型を示さないことから、プラスチドシグナルにおけるこれら因子の関与は否定されている⁵⁵⁻⁶⁰。

一方、プラスチドシグナル伝達は光シグナル伝達と密接に関連している^{61,62}。青色光受容体クリプトクロム 1 (CRY1) の変異体が *gun* 表現型を示すことが明らかになっている。また、赤色光受容体 PhyB と転写因子 ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5) も関与することがわかっている³⁶。実際、*gun1 cry1* と *gun1 hy5* 二重変異体では、プラスチドシグナルによる PhANGs 発現と葉緑体形成の制御が相乗的に低下している³⁶。

さらに、転写因子 GOLDEN2-LIKE (GLK) もプラスチドシグナルに関与している。多くの植物種では 2 つの GLK アイソフォームが存在し (GLK1 と GLK2)、シロイヌナズナの GLK1 と GLK2 は機能的に同等である⁶³。GLK1/2 は、葉緑体形成中に多数の PhANGs の発現を活性化する光形態形成の重要な転写調節因子であり⁶³⁻⁶⁵、プラスチドシグナルにおいても主要な核遺伝子の調節因子として機能する⁶⁶。シロイヌナズナの根での葉緑体形成の結果から、HY5 と GLK1/2 の組み合わせが主要なテトラピロールおよび光合成遺伝子の協調的発現に重要であることが報告されている⁶⁷。実際に、GLK1/2 の過剰発現体は *gun* 表現型を示す^{65,68}。また葉緑体が酸化ストレスによって機能を失うと、GLK1/2 の発現は GUN1 依存的に抑制され、フィトクロムシグナルに拮抗して、光形態形成を低下させる⁵⁷。

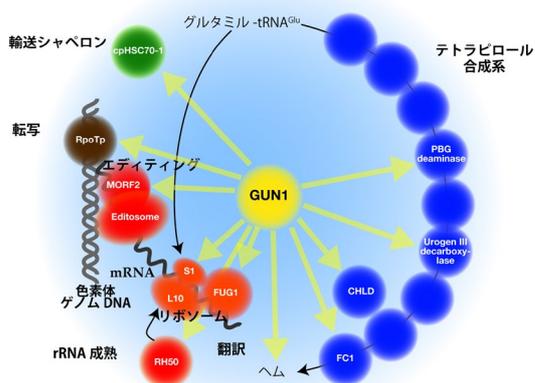


図2 GUN1相互作用タンパク質の概略図

色素体遺伝子の転写（茶色）、RNAエディティングとrRNA成熟（赤色）、翻訳（オレンジ色）、輸送シャペロン（緑色）およびテトラピロール合成（青色）に関連するタンパク質に対するGUN1の相互作用を黄色の矢印で示している。GUN1と各タンパク質との相互作用は、共免疫沈降、BiFC、および酵母ツーハイブリッドアッセイによって確認されている。GUN1のN末端のIDR領域またはPPRドメインを介して、本図で示すようにGUN1が液滴を形成し、高濃度の分子密集を引き起こすことにより、分子反応が加速される可能性がある。

5. GUN1の機能

テトラピロール生合成経路に関連する変異株 *gun2*~*gun6* とは異なり、*GUN1* は、C末端に SMRドメインを持ち、中央部にペンタトリコペプチドリピート（PPR）ドメインを持つ葉緑体タンパク質をコードしている。*gun1* はNFだけでなく、色素体翻訳の阻害剤であるリンコマイシン（Lin）処理による PhANGs 発現の抑制も防ぐため⁵³、*GUN1* はテトラピロールシグナルとは別の機能を持つと考えられている。PPR⁶⁹ および SMR⁷⁰ ドメインはヌクレオチド結合に関与することが知られているため、*GUN1* がヌクレオチド結合タンパク質として作用することが最初提案された⁵³。しかし、その後の共免疫沈降および質量分析による *GUN1* 相互作用因子のスクリーニングにより、*GUN1* はヌクレオチドではなく多くのタンパク質と相互作用することが明らかとなった⁷¹⁻⁷³。*GUN1* のN末端には、高度に無秩序な領域⁷⁴が存在し、天然変性領域（IDR）⁷⁵である可能性がある。相互作用タンパク質との結合により、この

IDRの構造変化が誘導され、様々なタンパク質との相互作用が可能になっていることが予想される。実際、シロイヌナズナの *GUN1*-GFP 発現株との架橋実験により、葉緑体に関わる 300 近くの異なるタンパク質が同定されている⁷¹。*GUN1* に対する特異性は特定されていないが、これらの *GUN1* 相互作用タンパク質は、転写⁷⁶、翻訳^{71,77}、および輸送⁷⁸など、葉緑体タンパク質の恒常性に関与している⁷⁹⁻⁸¹。さらに、テトラピロール生合成の酵素も、酵母ツーハイブリッドおよび二分子蛍光相補性（BiFC）アッセイによって同定されている^{71,78}（図2）。

GUN1 遺伝子は常に高発現しているが、*GUN1* タンパク質レベルは、その分解が非常に速いため、非常に低いレベルに抑えられている⁷³。*GUN1* タンパク質は、発芽後の子葉や葉原基など、活発な葉緑体形成が起こる場所でのみ検出可能である⁷³。*GUN1* の急速な分解は、ClpC1によって制御されており、Clpプロテアーゼにより分解される⁷³。Linによる色素体翻訳阻害またはNFによる酸化ストレスは、*GUN1*のClpプロテアーゼに依存した分解を阻害し、*GUN1* タンパク質を蓄積させる⁷³。*GUN1*は自然環境下では葉の発達のごく初期段階でのみ蓄積するため、葉緑体形成の初期段階で機能すると考えられている⁷³。しかし、成熟後の発達段階での *GUN1* の機能も示されている^{71,73}。*GUN1* の過剰発現は早期開花の表現型を示すことから、葉緑体形成以外の発達段階にも機能することが提案されている⁷³。

色素体における *GUN1* の局在性に関して、色素体DNAが活発に転写される核様体に *GUN1* が共局在することが最初に示された。タバコ (*Nicotiana benthamiana*) で一過的に発現した *GUN1*-GFP は、色素体転写複合体の構成成分である pTAC2 と共局在する粒状の蛍光を示した⁵³。*GUN1* のこのような蛍光は、シロイヌナズナ *GUN1*-GFP 形質転換体⁷¹ および *GUN1* とその結合タンパク質の BiFC アッセイ^{71,76}でも観察されている。一方、他の報告では *GUN1*-GFP 形質転換体において、ストロマで分散したシグナルとして検出されている^{73,78}。最近、*GUN1* がNF処理後に葉緑体局在を変化させることが報告された

⁸²。未処理では粒状の蛍光が検出されたが、NF 処理後には蛍光は分散していることが観察された。したがって、GUN1 の局在性の変化は、発達段階や葉緑体の機能によって引き起こされる可能性がある。

GUN1 の機能については、多様な相互作用相手との解析から、様々な提案がなされている。GUN1 は、核コードの RNA ポリメラーゼ (NEP) をコードする RpoTp や色素体 RNA エディトソームの一員である MULTIPLE ORGANELLAR RNA EDITING FACTOR 2 (MORF2) と相互作用することで、色素体遺伝子の転写や RNA 編集を調節することが報告されている^{76,83,84}。また、GUN1 は、葉緑体シャペロン cpHSC70-1 との相互作用を介して、色素体へのタンパク質の取り込みの調節に関与することが報告されている^{66,71,76,78}。さらに GUN1 は、色素体にコードされたリボソームタンパク質 S1 (PRPS1) や核にコードされた色素体リボソームタンパク質 L10 などのいくつかのリボソームサブユニットと相互作用することで、色素体リボソームのアセンブリに関与することが報告されている^{71,85}。また GUN1 が、葉緑体翻訳開始因子 IF-2 をコードする FUG1 / cpIF2 と遺伝的に相互作用することも報告されている⁷¹。

gun1 変異は、葉緑体タンパク質の翻訳に対する *fug1* 変異の影響をさらに増大させた⁷⁷。以上の結果に基づいて、GUN1 が色素体タンパク質の恒常性の調節因子であり、その機能は色素体タンパク質の恒常性が乱された場合にのみ明確に現れることが提案されている⁷⁷。これらの詳細については、他の総説を参照して頂きたい^{86,87}。

6. GUN1 とテトラピロール生合成

当初、*gun1-1 gun4-1* および *gun1-1 gun5* 二重変異体で、*gun* 表現型が相乗的に強くなることが観察され¹⁵、テトラピロールおよび GUN1 シグナルが独立して作用すると考えられた。しかし、その後、*gun5 gun1-9* の *gun* 表現型は、*gun1-9* と区別出来ないことがわかり、テトラピロールシグナルが GUN1 の上流で作用することが明らかとなった⁵³。さらに、トランスクリプトーム解析により、GUN5 依存のテトラピロールシグナルと GUN1 シグナル間に有意な相同性が確認された⁵³。また、架橋剤で処理した GUN1-GFP 過剰発現体と GFP 抗体による免疫沈降実験、酵母ツーハイブリッドおよび BiFC 実験によって、GUN1 と MgCh の CHLD、ポルフォビリノーゲンデアミナーゼ (PBGD)、ウロポルフィリノーゲン III デカルボ

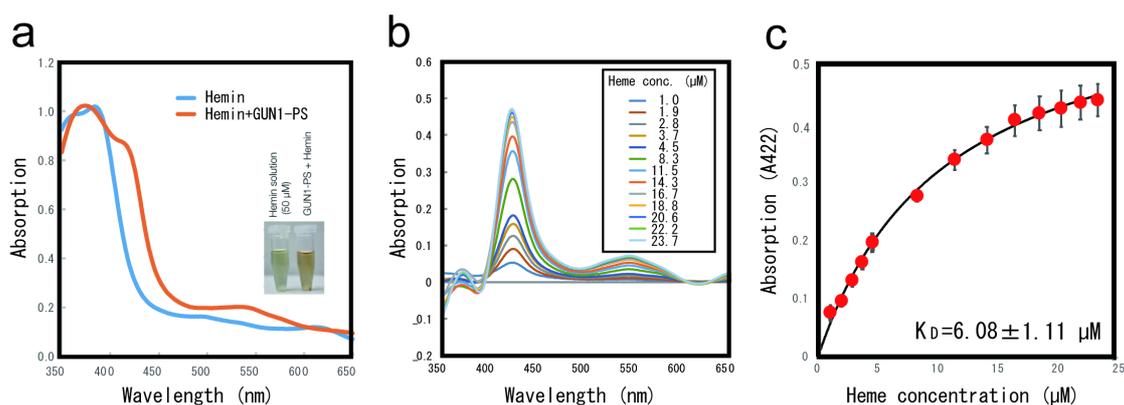


図3 GUN1とヘムの結合

PPRドメインとSMRドメインを含むGUN1 (GUN1-PS) を大腸菌で発現させた。インクルージョンボディを尿素で可溶性化後、透析によるリフォールディングを行い解析に用いた。(a) ヘミンおよびヘミン-GUN1-PS複合体の吸収スペクトル。(挿入図) ヘミン溶液 (50 μM) と精製したヘミン-GUN1-PS複合体の写真。(b) 異なるヘミン濃度における、ヘミン-GUN1-PSの吸収スペクトルからヘミン溶液の吸収スペクトルを引いた差スペクトル。(c) 差スペクトルにおける吸光度変化をプロットし、ヘム-GUN1-PS複合体の解離定数 (K_D) をone site bindingモデルから計算した。

キシラーゼ 2 (UROD2)、および FC1 との相互作用が確認され、GUN1 とテトラピロール生合成酵素が直接相互作用することが明らかになっている⁷¹ (図 1 および図 2)。

筆者らは、シロイヌナズナの暗所で発芽した黄化芽生えに ALA を与えると、Pchlide *a* の蓄積量が、*gun1* では暗所でより多く、GUN1 過剰発現体では野生型より少なくなることを見出した⁷⁴。ALA 無処理の *gun1* 変異体でも高い Pchlide *a* の蓄積が観察されている⁸⁸。ヘムの蓄積量も、*gun1* 変異体と過剰発現体で Pchlide *a* 同様に変化したため、GUN1 がテトラピロール全体の生合成を制御すると考えられた⁷⁴。さらに、GUN1 は、PPR ドメインを介して Proto、MgProto、ヘムに結合することを明らかにした⁷⁴ (図 3)。また GUN1 は、FC1 の K_m を 5 倍以上低下させることで、FC1 活性を促進した⁷⁴。これより、GUN1 は、GUN4 による MgCh 活性化と同様、FC1 の基質親和性を高めることにより、FC1 を活性化すると考えられた⁷⁴。これらの結果は、GUN1 とテトラピロール生合成が直接的に関連することを示している。GUN1 は、酵素との直接的な相互作用⁷¹、あるいは下流の転写因子である GLK1/2 による転写調節を介して⁷⁸、テトラピロール生合成を調節していると考えている。さらに、*HEMA1* コードの GluTR などのテトラピロール生合成酵素が、*gun1* 変異体で色素体内に適切に輸送できないことから、*gun1* 変異体におけるテトラピロール生合成に影響を与える可能性が示されている⁷⁸。一方、筆者らは、GUN1 が FC1 由来ヘムと結合することで、プラスチドシグナルの核への伝達を抑制することを提案している⁷⁴。

FC1 は葉原基で高く発現している⁴⁸。また、*fc1* 変異体は、胚致死を伴う貧弱な初期発生を示す^{48,89}。これらの結果は、色素体から葉緑体への移行を活性化する初期発生時に、FC1 由来のヘムが機能することを示している。この発生初期段階では、Chl 生合成のためのテトラピロール生合成の鍵遺伝子⁹⁰ や PhANGs の発現は、PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR (PIF) に依存した遺伝子発現抑制と、GLK1/2 不活性化により低く抑制されている。GUN1 と色素体タン

パク質の恒常性およびテトラピロール生合成酵素との相互作用を考慮すると、以下に述べるように、GUN1 はこれらのタンパク質の濃縮により、初期における葉緑体形成を促進している可能性を考えている。

7. GUN1 の機能について

本解説で議論してきたように、GUN1 は多様なタンパク質と相互作用することにより、発生初期における葉緑体形成のハブとして機能する可能性が考えられる (図 2)。実験的証拠はまだ得られていないが、GUN1 は相互作用する酵素を基質の近くに濃縮することによって、葉緑体形成を促進するプラットフォームとして機能しているのではないかと考えている⁷⁹。1 つの可能性は、GUN1 が分子クラウディング (密集) の足場タンパク質として機能することである⁹¹。高濃度の分子密集は、エントロピー的に分子会合イベントを促進し、それによって分子反応を加速させる⁹¹。高分子クラウディングの最も重要な例として相分離がある。遺伝的にコード化された多量体ナノ粒子 (GEM) を用いて、ラパマイシン複合体 (mTORC1)⁹² が、リボソーム濃度を調整することによってその拡散を制御することが報告されている⁹³。mTORC1 と同様に、GUN1 は N 末端 IDR および PPR ドメインを介して、初期の葉緑体形成時に、タンパク質恒常性やテトラピロール合成に関与するタンパク質と凝集体 (液滴) を形成して、液-液相分離させている可能性を考えている (図 4)。粒子状の GUN1 由来の蛍光シグナルが NF 処理によって分散されたことは興味深く⁸²、GUN1 の機能性と液滴形成の関係を示している可能性が考えられる。この液滴内では、効率的な NEP 転写、RNA 編集、リボソームのアセンブリ、色素体にコードされたタンパク質の翻訳、テトラピロール合成また色素体内へのタンパク質輸送が効率的に行われているのではないかと考えている。グルタミル-tRNA^{Glu} の濃縮も、効果的な翻訳とテトラピロール生合成にとって重要な要素の一つと考えられる^{94,95}。

重要な問題は、GUN1 に依存する液滴形成が、色素体から核へのプラスチドシグナルにどのよ

うに関連しているかである。PhANGs 抑制解除に対する *gun1* 変異体の効果は、色素体が NF または Lin 処理によって機能不全になった場合にのみ現れる。この原因として、FC1 由来のヘムシグナルが野生型では核に到達できない一方で、*gun1* 変異体では核に伝達されるという可能性が考えられる。GUN1 がテトラピロールの合成量を増加させ、ヘムや MgProto を含む金属ポルフィリンに結合できる⁷⁴ことを考えると、発生初期段階で GUN1 液滴がテトラピロールの合成を制御し、色素体内にヘムに保持しているのかもしれない。その後の葉緑体発達に伴い Clp プロテアーゼによって GUN1 が分解されると、ヘムは液滴から解離して、PhANGs 発現の正のシグナルとして核

に移行する。野生型では、Clp 依存性の GUN1 分解は阻害剤によってブロックされる⁷³。したがって、生成された FC1 由来のヘムは、野生型では GUN1 によって色素体内に保持されたまま残る可能性が考えられる (図 4b)。一方、*gun1* 変異体では、液滴形成なしにテトラピロール合成の活性化が起こり、生成された FC1 由来のヘムが核へ移行することで PhANGs の発現を誘導する (図 4c)。阻害剤未処理の条件下では、機能的な葉緑体形成が起こるため、野生型および *gun1* 変異体ともに PhANGs 発現を誘導する十分なヘムが合成できる。*gun2-6* の結果と合わせて、この仮説は、*gun* 変異体の観察された表現型のほとんどを説明出来ると考えている。

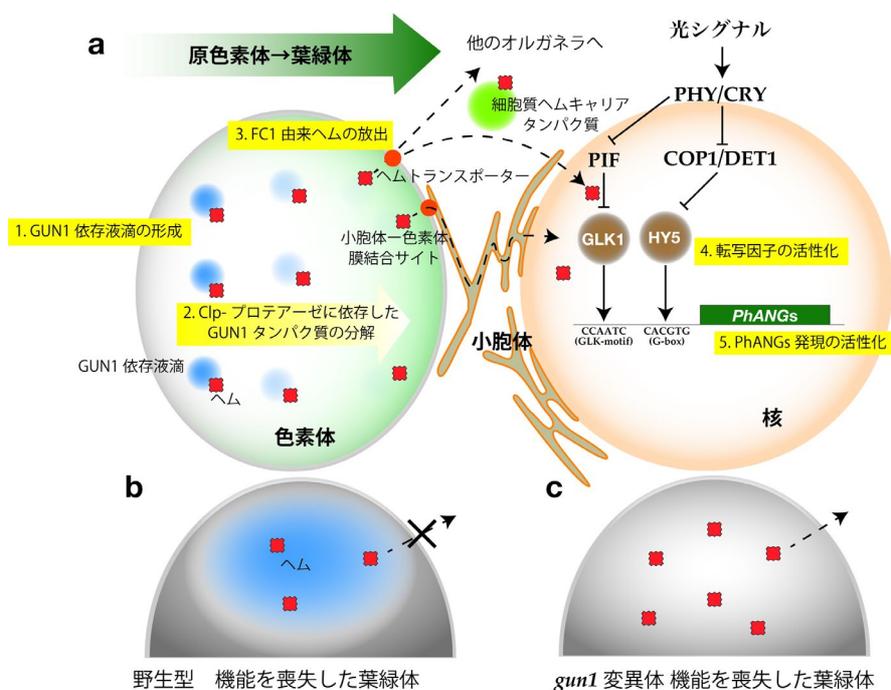


図4 ヘムを介した色素体から核へのプラスチドシグナル伝達経路のモデル

(a) 色素体の図では、色素体から葉緑体への移行を左から右に移り変わるように示している。青い円はGUN1依存性液滴を示し、赤色の分子はFC1由来のヘムを示す。1. 原色素体から葉緑体への移行の初期段階で、GUN1依存性液滴が原色素体に形成される。これにより、NEP依存性の転写と翻訳、核コード化タンパク質のインポート、およびヘム合成が促進される。合成されたヘムは、GUN1依存性液滴に結合する。2. 葉緑体形成中に、GUN1はClpプロテアーゼ依存的に分解され、液滴は消失する。3. GUN1依存性液滴からFC1由来のヘムが解離され、色素体包膜に局在するトランスポーター (オレンジ色の円) を介して、色素体から放出される (破線)。細胞質ゾル経路では、ヘムは細胞質ヘムキャリアタンパク質 (緑色) に結合して他の細胞小器官に到達する。ER-色素体膜接触部位 (MCS) を介して核に到達する経路も考えられる。4. 核内では、ヘムはPIFの不活性化、あるいは、GLK1やHY5を活性化する。5. 以上の結果、PhANGsの発現が活性化される。(b) 野生型では、阻害剤処理によって葉緑体が機能不全になると、Clpプロテアーゼ依存性分解からGUN1が保護され、GUN1依存性液滴が分散し、色素体内にヘムが保持される。(c) *gun1*変異体では、葉緑体が機能不全になっても、GUN1が欠損しているため、色素体からヘムが放出される。

8. おわりに

以上のように GUN1 依存の液滴はシステムとして機能するため、個々の経路を個別に解析することは困難であるかもしれない。このモデルを明らかにするためには、生化学的および分子生物学的方法に加えて、液-液相分離への新しいアプローチが有益であろう。たとえば、GEMS を使用したライブイメージング⁹²や、近位および相互作用するタンパク質を特定するラベリング方法^{96,97}などが有効かもしれない。さらに、ヘムと PhANGs 発現を結びつけるシグナル伝達構成要素を特定することも重要である。蛍光ヘムセンサー⁹⁸を使用した生細胞イメージングは、このメカニズムの理解に役立つかもしれない。

8. 謝辞

本解説執筆の機会を与えてくださった、静岡大学の成川礼講師、粟井光一郎准教授、本橋令子教授に深く感謝申し上げます。

Received Mar 1, 2021; Accepted Mar 17, 2021; Published Apr 30, 2021.

参考文献

- Battersby, A. R., Fookes, C. J. R., Matcham, G. W. J. & McDonald, E. Biosynthesis of the pigments of life: Formation of the macrocycle. *Nature* **285**, 17-21 (1980).
- Battersby, A. R. Tetrapyrroles: the pigments of life. *Nat. Prod. Rep.* **17**, 507-526 (2000).
- op den Camp, R. G. L. *et al.* Rapid induction of distinct stress responses after the release of singlet oxygen in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **15**, 2320-2332 (2003).
- Castelfranco, P. A. & Beale, S. I. Chlorophyll biosynthesis: Recent advances and areas of current interest. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **34**, 241-276 (1983).
- Tanaka, R. & Tanaka, A. Tetrapyrrole Biosynthesis in Higher Plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **58**, 321-346 (2007).
- Tanaka, R., Kobayashi, K. & Masuda, T. Tetrapyrrole metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Arab. Book* **9**, (2011).
- Ilag, L. L., Kumar, A. M. & Söll, D. Light regulation of chlorophyll biosynthesis at the level of 5-aminolevulinic acid formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **6**, 265-275 (1994).
- McCormac, A. C., Fischer, A., Kumar, A. M., Söll, D. & Terry, M. J. Regulation of *HEMA1* expression by phytochrome and a plastid signal during de-etiolation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* **25**, 549-561 (2001).
- Koncz, C. *et al.* Isolation of a gene encoding a novel chloroplast protein by T-DNA tagging in *Arabidopsis thaliana*. *EMBO J.* **9**, 1337-1346 (1990).
- Rissler, H. M., Collakova, E., DellaPenna, D., Whelan, J. & Pogson, B. J. Chlorophyll Biosynthesis. Expression of a second *chl I* gene of magnesium chelatase in *Arabidopsis* supports only limited chlorophyll synthesis. *Plant Physiol.* **128**, 770-779 (2002).
- Kobayashi, K. *et al.* Functional analysis of *Arabidopsis thaliana* isoforms of the Mg-chelatase CHLI subunit. *Photochem. Photobiol. Sci.* **7**, 1188-1195 (2008).
- Larkin, R. M., Alonso, J. M., Ecker, J. R. & Chory, J. GUN4, a Regulator of Chlorophyll Synthesis and Intracellular Signaling. *Science* **299**, 902-906 (2003).
- Adhikari, N. D. *et al.* GUN4-porphyrin complexes bind the ChlH/GUN5 subunit of Mg-chelatase and promote chlorophyll biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **23**, 1449-1467 (2011).
- Davison, P. A. *et al.* Structural and biochemical characterization of Gun4 suggests a mechanism for its role in chlorophyll biosynthesis. *Biochemistry* **44**, 7603-7612 (2005).
- Mochizuki, N., Brusslan, J. A., Larkin, R., Nagatani, A. & Chory, J. *Arabidopsis genomes uncoupled 5 (GUN5)* mutant reveals the involvement of Mg-chelatase H subunit in plastid-to-nucleus signal transduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 2053-2058 (2001).
- Terry, M. J., Linley, P. J. & Kohchi, T. Making light of it: the role of plant haem oxygenases in phytochrome chromophore synthesis. *Biochem. Soc. Trans.* **30**, 604-609 (2002).
- Chow, K. S., Singh, D. P., Walker, A. R. & Smith, A. G. Two different genes encode ferrochelatase in *Arabidopsis*: mapping, expression and subcellular targeting of the precursor proteins. *Plant J.* **15**, 531-541 (1998).
- Nagai, S. *et al.* Induction of isoforms of tetrapyrrole biosynthetic enzymes, AtHEMA2 and AtFC1, under

- stress conditions and their physiological functions in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **144**, 1039-1051 (2007).
19. Woodson, J. D., Perez-Ruiz, J. M. & Chory, J. Heme Synthesis by Plastid Ferrochelatase I Regulates Nuclear Gene Expression in Plants. *Curr. Biol.* **21**, 897–903 (2011).
 20. Pogson, B. J., Ganguly, D. & Albrecht-Borth, V. Insights into chloroplast biogenesis and development. *Biochim. Biophys. Acta* **1847**, 1017–1024 (2015).
 21. Pribil, M., Labs, M. & Leister, D. Structure and dynamics of thylakoids in land plants. *J. Exp. Bot.* **65**, 1955–1972 (2014).
 22. Masuda, T. & Takamiya, K. Novel insights into the enzymology, regulation and physiological functions of light-dependent protochlorophyllide oxidoreductase in angiosperms. *Photosynth. Res.* **81**, 1–29 (2004).
 23. Mereschkowsky, C. Über natur und ursprung der chromatophore im pflanzenreiche. *Biol. Cent.* **25**, 293–604 (1905).
 24. Archibald, J. M. The Puzzle of Plastid Evolution. *Curr. Biol.* **19**, R81–R88 (2009).
 25. Keeling, P. J. The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* **64**, 583–607 (2013).
 26. Criscuolo, A. & Gribaldo, S. Large-scale phylogenomic analyses indicate a deep origin of primary plastids within cyanobacteria. *Mol. Biol. Evol.* **28**, 3019–3032 (2011).
 27. Abdallah, F., Salamini, F. & Leister, D. A prediction of the size and evolutionary origin of the proteome of chloroplasts of *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci.* **5**, 141–142 (2000).
 28. Singh, R., Singh, S., Parihar, P., Singh, V. P. & Prasad, S. M. Retrograde signaling between plastid and nucleus: A review. *J. Plant Physiol.* **181**, 55–66 (2015).
 29. Pogson, B. J., Woo, N. S., Förster, B. & Small, I. D. Plastid signalling to the nucleus and beyond. *Trends Plant Sci.* **13**, 602–609 (2008).
 30. Nott, A., Jung, H.-S., Koussevitzky, S. & Chory, J. Plastid-to-nucleus retrograde signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* **57**, 739–759 (2006).
 31. Chan, K. X., Phua, S. Y., Crisp, P., McQuinn, R. & Pogson, B. J. Learning the Languages of the chloroplast: Retrograde signaling and beyond. *Annu. Rev. Plant Biol.* **67**, 25–53 (2016).
 32. de Souza, A., Wang, J.-Z. & Dehesh, K. Retrograde signals: Integrators of interorganellar communication and orchestrators of plant development. *Annu. Rev. Plant Biol.* **68**, 85–108 (2017).
 33. Susek, R. E. & Chory, J. A Tale of Two Genomes: Role of a chloroplast signal in coordinating nuclear and plastid genome expression. *Functional Plant Biol.* **19**, 387–399 (1992).
 34. Allen, J. F. *et al.* Coordination of plastid and nuclear gene expression. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **358**, 135–145 (2003).
 35. Susek, R. E., Ausubel, F. M. & Chory, J. Signal transduction mutants of *Arabidopsis* uncouple nuclear *CAB* and *RBCS* gene expression from chloroplast development. *Cell* **74**, 787–799 (1993).
 36. Ruckle, M. E., DeMarco, S. M. & Larkin, R. M. Plastid signals remodel light signaling networks and are essential for efficient chloroplast biogenesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **19**, 3944–3960 (2007).
 37. Strand, Å., Asami, T., Alonso, J., Ecker, J. R. & Chory, J. Chloroplast to nucleus communication triggered by accumulation of Mg-protoporphyrin IX. *Nature* **421**, 79–83 (2003).
 38. Huang, Y.-S. & Li, H. *Arabidopsis* CHL12 can substitute for CHL11. *Plant Physiol.* **150**, 636–645 (2009).
 39. Ankele, E., Kindgren, P., Pesquet, E. & Strand, Å. In vivo visualization of Mg-protoporphyrin IX, a coordinator of photosynthetic gene expression in the nucleus and the chloroplast. *Plant Cell* **19**, 1964–1979 (2007).
 40. Pontier, D., Albrieux, C., Joyard, J., Lagrange, T. & Block, M. A. Knock-out of the magnesium protoporphyrin IX methyltransferase gene in *Arabidopsis*. Effects on chloroplast development and on chloroplast-to-nucleus signaling. *J. Biol. Chem.* **282**, 2297–2304 (2007).
 41. Mochizuki, N., Tanaka, R., Tanaka, A., Masuda, T. & Nagatani, A. The steady-state level of Mg-protoporphyrin IX is not a determinant of plastid-to-nucleus signaling in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 15184–15189 (2008).
 42. Moulin, M., McCormac, A. C., Terry, M. J. & Smith, A. G. Tetrapyrrole profiling in *Arabidopsis* seedlings reveals that retrograde plastid nuclear signaling is not due to Mg-protoporphyrin IX accumulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 15178–15183 (2008).
 43. Mense, S. M. & Zhang, L. Heme: a versatile signaling molecule controlling the activities of diverse regulators ranging from transcription factors to MAP kinases. *Cell Res.* **16**, 681–692 (2006).
 44. Tsiftoglou, A. S., Tsamadou, A. I. & Papadopoulou, L. C. Heme as key regulator of major mammalian

- cellular functions: Molecular, cellular, and pharmacological aspects. *Pharmacol. Ther.* **111**, 327–345 (2006).
45. Gromoff, E. D. von, Alawady, A., Meinecke, L., Grimm, B. & Beck, C. F. Heme, a Plastid-derived regulator of nuclear gene expression in *Chlamydomonas*. *Plant Cell* **20**, 552–567 (2008).
 46. Voß, B. *et al.* Hemin and magnesium-protoporphyrin IX induce global changes in gene expression in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* **155**, 892–905 (2011).
 47. Kobayashi, Y. & Tanaka, K. Transcriptional regulation of tetrapyrrole biosynthetic genes explains abscisic acid-induced heme accumulation in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Front. Plant Sci.* **7**, (2016).
 48. Espinas, N. A. *et al.* Allocation of heme is differentially regulated by ferrochelatase isoforms in *Arabidopsis* cells. *Front. Plant Sci.* **7**, (2016).
 49. Page, M. T., Garcia-Becerra, T., Smith, A. G. & Terry, M. J. Overexpression of chloroplast-targeted ferrochelatase 1 results in a *genomes uncoupled* chloroplast-to-nucleus retrograde signalling phenotype. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **375**, 20190401 (2020).
 50. Voigt, C. *et al.* In-depth analysis of the distinctive effects of norflurazon implies that tetrapyrrole biosynthesis, organellar gene expression and ABA cooperate in the GUN-type of plastid signalling. *Physiol. Plant* **138**, 503–519 (2010).
 51. Espinas, N. A., Kobayashi, K., Takahashi, S., Mochizuki, N. & Masuda, T. Evaluation of unbound free heme in plant cells by differential acetone extraction. *Plant Cell Physiol.* **53**, 1344–1354 (2012).
 52. Shimizu, T. *et al.* Proteomic analysis of haem-binding protein from *Arabidopsis thaliana* and *Cyanidioschyzon merolae*. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **375**, 20190488 (2020).
 53. Koussevitzky, S. *et al.* Signals from chloroplasts converge to regulate nuclear gene expression. *Science* **316**, 715–719 (2007).
 54. Sun, X. *et al.* A chloroplast envelope-bound PHD transcription factor mediates chloroplast signals to the nucleus. *Nat. Commun.* **2**, 477 (2011).
 55. Kacprzak, S. M. *et al.* Plastid-to-nucleus retrograde signalling during chloroplast biogenesis does not require ABI4. *Plant Physiol.* **179**, 18–23 (2019).
 56. Ottage, A. & Gray, J. C. Timing the switch to phototrophic growth: A possible role of GUN1. *Plant Signal. Behav.* **6**, 578–582 (2011).
 57. Martín, G. *et al.* Phytochrome and retrograde signalling pathways converge to antagonistically regulate a light-induced transcriptional network. *Nat. Commun.* **7**, 11431 (2016).
 58. Mhamdi, A. & Gommers, C. M. M. Another *gun* dismantled: ABSCISIC ACID INSENSITIVE4 is not a target of retrograde signaling. *Plant Physiology* **179**, 13–14 (2019).
 59. Page, M. T. *et al.* Seedlings lacking the PTM protein do not show a *genomes uncoupled (gun)* mutant phenotype. *Plant Physiol.* **174**, 21–26 (2017).
 60. Emerging from the darkness: interplay between light and plastid signaling during chloroplast biogenesis - Hernández-Verdeja - 2020 - *Physiol. Plant.* - Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ppl.13100>.
 61. Martín, G. *et al.* Phytochrome and retrograde signalling pathways converge to antagonistically regulate a light-induced transcriptional network. *Nat. Commun.* **7**, 11431 (2016).
 62. Larkin, R. M. & Ruckle, M. E. Integration of light and plastid signals. *Curr. Opin. Plant Biol.* **11**, 593–599 (2008).
 63. Fitter, D. W., Martin, D. J., Copley, M. J., Scotland, R. W. & Langdale, J. A. *GLK* gene pairs regulate chloroplast development in diverse plant species. *Plant J.* **31**, 713–727 (2002).
 64. Waters, M. T., Moylan, E. C. & Langdale, J. A. *GLK* transcription factors regulate chloroplast development in a cell-autonomous manner. *Plant J.* **56**, 432–444 (2008).
 65. Waters, M. T. *et al.* *GLK* Transcription factors coordinate expression of the photosynthetic apparatus in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **21**, 1109–1128 (2009).
 66. Kakizaki, T. *et al.* Coordination of plastid protein import and nuclear gene expression by plastid-to-nucleus retrograde signaling. *Plant Physiol.* **151**, 1339–1353 (2009).
 67. Kobayashi, K. *et al.* Regulation of root greening by light and auxin/cytokinin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **24**, 1081–1095 (2012).
 68. Leister, D. & Kleine, T. Definition of a core module for the nuclear retrograde response to altered organellar gene expression identifies *GLK*

- overexpressors as gun mutants. *Physiol. Plant* **157**, 297–309 (2016).
69. Kotera, E., Tasaka, M. & Shikanai, T. A pentatricopeptide repeat protein is essential for RNA editing in chloroplasts. *Nature* **433**, 326–330 (2005).
 70. Moreira, D. & Philippe, H. Smr: a bacterial and eukaryotic homologue of the C-terminal region of the MutS2 family. *Trends Biochem. Sci.* **24**, 298–300 (1999).
 71. Tadini, L. *et al.* GUN1 controls accumulation of the plastid ribosomal protein S1 at the protein level and interacts with proteins involved in plastid protein homeostasis. *Plant Physiol.* **170**, 1817–1830 (2016).
 72. Jia, Y., Tian, H., Zhang, S., Ding, Z. & Ma, C. GUN1-interacting proteins open the door for retrograde signaling. *Trends Plant Sci.* **24**, 884–887 (2019).
 73. Wu, G.-Z. *et al.* Control of retrograde signaling by rapid turnover of GENOMES UNCOUPLED1. *Plant Physiol.* **176**, 2472–2495 (2018).
 74. Shimizu, T. *et al.* The retrograde signaling protein GUN1 regulates tetrapyrrole biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **116**, 24900–24906 (2019).
 75. Uversky, V. N. Intrinsically disordered proteins from A to Z. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **43**, 1090–1103 (2011).
 76. Tadini, L. *et al.* GUN1 influences the accumulation of NEP-dependent transcripts and chloroplast protein import in *Arabidopsis* cotyledons upon perturbation of chloroplast protein homeostasis. *Plant J.* **101**, 1198–1220 (2020).
 77. Marino, G. *et al.* Relationship of GUN1 to FUG1 in chloroplast protein homeostasis. *Plant J.* **99**, 521–535 (2019).
 78. Wu, G.-Z. *et al.* Control of retrograde signalling by protein import and cytosolic folding stress. *Nat. Plants* **5**, 525–538 (2019).
 79. Colombo, M., Tadini, L., Peracchio, C., Ferrari, R. & Pesaresi, P. GUN1, a Jack-of-all-trades in chloroplast protein homeostasis and signaling. *Front. Plant Sci.* **7**, (2016).
 80. Tadini, L., Jeran, N. & Pesaresi, P. GUN1 and Plastid RNA metabolism: Learning from genetics. *Cells* **9**, 2307 (2020).
 81. Tadini, L. *et al.* The plastid transcription machinery and its coordination with the expression of nuclear genome: Plastid-encoded polymerase, nuclear-encoded polymerase and the genomes uncoupled 1-mediated retrograde communication. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **375**, 20190399 (2020).
 82. Huang, X.-Q. *et al.* *At3g53630* encodes a GUN1-interacting protein under norflurazon treatment. *Protoplasma* **258**, 371–378 (2021).
 83. Zhao, X., Huang, J. & Chory, J. GUN1 interacts with MORF2 to regulate plastid RNA editing during retrograde signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **116**, 10162–10167 (2019).
 84. Zhao, X., Huang, J. & Chory, J. Unraveling the linkage between retrograde signaling and RNA metabolism in plants. *Trends Plant Sci.* **25**, 141–147 (2020).
 85. Paieri, F. *et al.* The DEAD-box RNA helicase RH50 is a 23S-4.5S rRNA maturation factor that functionally overlaps with the plastid signaling factor GUN1. *Plant Physiol.* **176**, 634–648 (2018).
 86. Shimizu, T. & Masuda, T. The role of tetrapyrrole- and GUN1-dependent signaling on chloroplast biogenesis. *Plants* **10**, 196 (2021).
 87. Wu, G.-Z. & Bock, R. GUN control in retrograde signaling: How GENOMES UNCOUPLED proteins adjust nuclear gene expression to plastid biogenesis. *Plant Cell* (2021) doi:10.1093/plcell/koaa048.
 88. Xu, X. *et al.* Convergence of light and chloroplast signals for de-etiolation through ABI4–HY5 and COP1. *Nat. Plants* **2**, 1–7 (2016).
 89. Fan, T. *et al.* Complementation studies of the *Arabidopsis fcl* mutant substantiate essential functions of ferrochelatase 1 during embryogenesis and salt stress. *Plant Cell Environ.* **42**, 618–632 (2019).
 90. Matsumoto, F. *et al.* Gene expression profiling of the tetrapyrrole metabolic pathway in *Arabidopsis* with a mini-array system. *Plant Physiol.* **135**, 2379–2391 (2004).
 91. Zhou, H.-X., Rivas, G. & Minton, A. P. Macromolecular crowding and confinement: biochemical, biophysical, and potential physiological consequences. *Annu. Rev. Biophys.* **37**, 375–397 (2008).
 92. Delarue, M. *et al.* mTORC1 controls phase separation and the biophysical properties of the cytoplasm by tuning crowding. *Cell* **174**, 338–349.e20 (2018).
 93. Hara, K. *et al.* Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70 S6 kinase and eIF-4E BP1 through a common effector mechanism. *J. Biol. Chem.* **273**, 14484–14494 (1998).
 94. Levicán, G., Katz, A., Valenzuela, P., Söll, D. & Orellana, O. A tRNAGlu that uncouples protein and tetrapyrrole biosynthesis. *FEBS Lett.* **579**, 6383–6387 (2005).

95. Agrawal, S., Karcher, D., Ruf, S. & Bock, R. The functions of chloroplast glutamyl-tRNA in translation and tetrapyrrole biosynthesis. *Plant Physiol.* **183**, 263–276 (2020).
96. Roux, K. J., Kim, D. I., Raida, M. & Burke, B. A promiscuous biotin ligase fusion protein identifies proximal and interacting proteins in mammalian cells. *J. Cell Biol.* **196**, 801–810 (2012).
97. Branon, T. C. *et al.* Efficient proximity labeling in living cells and organisms with TurboID. *Nat. Biotechnol.* **36**, 880–887 (2018).
98. Hanna, D. A. *et al.* Heme dynamics and trafficking factors revealed by genetically encoded fluorescent heme sensors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **113**, 7539–7544 (2016).

Tetrapyrrole- and GUN1-Dependent Plastid Signaling on Chloroplast Biogenesis

Takayuki Shimizu, Tatsuru Masuda

Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo

表紙の紹介

珪藻の光化学系-集光性色素タンパク質超複合体の分子基盤

岡山大学異分野基礎科学研究所
長尾 遼

表紙は、珪藻 *Chaetoceros gracilis* の光化学系-集光性色素タンパク質超複合体の立体構造図である。褐色を呈する珪藻は、陸上植物とは異なる紅色進化系統に属し、紅藻から二次共生した真核藻類である。褐色の要因は、珪藻が持つ独特な色素分子および色素が結合する集光性色素タンパク質 (LHC) にある。珪藻の LHC は、フコキサンチンクロフィルタンパク質 (FCP) と呼ばれている。陸上植物や緑藻 LHC と比べると、珪藻 FCP の機能構造研究は圧倒的に少なかった。筆者は、*C. gracilis* から光化学系 II に FCP が結合した超複合体 (PSII-FCPII) の精製に世界で初めて成功した¹。さらに、光化学系 I に FCP が結合した超複合体 (PSI-FCPI) も精製することができた²。調製した PSII-FCPII および PSI-FCPI を用いてクライオ電子顕微鏡単粒子解析を行ったところ、表紙に示した立体構造が得られた^{3,4}。PSII-FCPII では、主要な FCP が四量体を形成することを見出した (表、上図)。陸上植物の PSII-LHCII は主要な LHC が三量体を形成するため (裏、左図)、LHC の多量体構造が珪藻と陸上植物とで異なることを明らかにした。一方、PSI-LHCI では、PSI の周りに 16 個の FCP が結合することを見出した (表、下図)。陸上植物の PSI-LHCI には LHC が 4 個しか結合していないため (裏、右図)、PSI においても LHC の結合様式が珪藻と陸上植物とで異なることを明らかにした。さらに、FCP から PSI および PSII への励起エネルギー伝達機構を調べ、陸上植物との違いを見出した⁵⁻⁹。このように、筆者は珪藻 PSII-FCPII および PSI-FCPI に関する生化学研究のみならず、立体構造解析や励起エネルギー伝達解析を基盤とした機能構造研究を展開してきた。これらの成果は未だ知見の少ない紅色進化系統の光捕集戦略を理解するうえで重要であり、本研究の発展は LHC の機能や構造に立脚した進化モデルの提案に繋がることが期待される。詳細については、本誌次号 (2021 年 8 月) の解説記事にて紹介する予定である。

文献

1. Nagao, R., Ishii, A., Tada, O., Suzuki, T., Dohmae, N., Okumura, A., Iwai, M., Takahashi, T., Kashino, Y. and Enami, I. (2007) Isolation and characterization of oxygen-evolving thylakoid membranes and Photosystem II particles from a marine diatom *Chaetoceros gracilis*. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1767, 1353-1362.
2. Nagao, R., Ueno, Y., Akita, F., Suzuki, T., Dohmae, N., Akimoto, S. and Shen, J.-R. (2019) Biochemical characterization of photosystem I complexes having different subunit compositions of fucoxanthin chlorophyll *a/c*-binding proteins in the diatom *Chaetoceros gracilis*. *Photosynth. Res.* 140, 141-149.
3. Nagao, R., Kato, K., Suzuki, T., Ifuku, K., Uchiyama, I., Kashino, Y., Dohmae, N., Akimoto, S., Shen, J.-R., Miyazaki, N., et al. (2019) Structural basis for energy harvesting and dissipation in a diatom PSII-FCPII supercomplex. *Nat. Plants* 5, 890-901.
4. Nagao, R., Kato, K., Ifuku, K., Suzuki, T., Kumazawa, M., Uchiyama, I., Kashino, Y., Dohmae, N., Akimoto, S., Shen, J.-R., et al. (2020) Structural basis for assembly and function of a diatom photosystem I-light-harvesting supercomplex. *Nat. Commun.* 11, 2481.
5. Nagao, R., Yokono, M., Tomo, T. and Akimoto, S. (2014) Control mechanism of excitation energy transfer in a complex consisting of photosystem II and fucoxanthin chlorophyll *a/c*-binding protein. *J. Phys. Chem. Lett.* 5, 2983-2987.
6. Nagao, R., Kagatani, K., Ueno, Y., Shen, J.-R. and Akimoto, S. (2019) Ultrafast excitation energy dynamics in a diatom photosystem I-antenna complex: a femtosecond fluorescence upconversion study.

- J. Phys. Chem. B* 123, 2673-2678.
7. Nagao, R., Yokono, M., Ueno, Y., Shen, J.-R. and Akimoto, S. (2019) Low-energy chlorophylls in fucoxanthin chlorophyll *a/c*-binding protein conduct excitation energy transfer to photosystem I in diatoms. *J. Phys. Chem. B* 123, 66-70.
 8. Nagao, R., Yokono, M., Ueno, Y., Shen, J.-R. and Akimoto, S. (2019) pH-sensing machinery of excitation energy transfer in diatom PSI-FCPI complexes. *J. Phys. Chem. Lett.* 10, 3531-3535.
 9. Nagao, R., Yokono, M., Ueno, Y., Shen, J.-R. and Akimoto, S. (2020) Excitation energy transfer and quenching in diatom PSI-FCPI upon P700 cation formation. *J. Phys. Chem. B* 124, 1481-1486.

若手の会特別企画：若手研究者の海外留学レポート！

第12回「アメリカでの研究生活を振り返って」

東京大学 大学院農学生命科学研究科

迫田 和馬

私は京都大学大学院農学研究科の作物学研究室に修士と博士課程の5年間、ポスドクとして1年間在籍し、作物の光合成改良を目指した研究に取り組んできました。修士2年次にはアメリカのイリノイ州にあるイリノイ大学に約6か月間、ポスドク1年目にはオーストラリアのキャンベラにあるオーストラリア国立大学に約3週間と、短期間ながら海外での研究活動を行ってきました。本稿では、アメリカでの留学経験を中心に、現地で自分が感じたことや経験したことをざっくりと皆様にお伝えしたいと思います。

1. 米国イリノイ州アーバナ・シャンペーンでの生活

私は、イリノイ大学アーバナ・シャンペーン校の Stephen P. Long 教授が主宰するラボに客員研究員として滞在していました。アーバナ・シャンペーンはアメリカ中西部に位置し、大学を中心に成り立つ小さな田舎町です。少し郊外に出れば、見渡す限りダイズ畑とトウモロコシ畑が広がっています(写真1)。古くからこれら作物に関する研究が行われ、ダイズ研究のメッカとも呼べる地域です。当時、私の研究テーマがダイズの光合成に関するものであったこと、指導教員の田中佑先生が過去に同研究室に所属されていたこともあり、この留学のチャンスに恵まれました。同じくイリノイ州にある大都市シカゴと比べると非常に小さな街ですが、「リトルシカゴ」とも呼ばれるぐらい治安はあまり良くないようです。しかし、生活をしていて危険を感じたことは一度もありません。大学はアジア圏であれば中国や韓国の留学生が非常に多く、日本人はごくたまに見かける程度です。私の滞在先は Orchard Downs という大学が運営するアパートで、主に海外からの留学生やポスドクが生活していました。ネット完備で、電気、水道、ガスの契約も事前にすべて完了してくれているので、着いてすぐに生活を始められる素晴らしい物件です。隣人は研究者同士ということもあって、互いの研究分野についてディスカッションする機会も多々あり、英語の訓練にも非常に良い環境でした。地域コミュニティの活動も盛んで、私はランニングクラブに入っていました。平日は、研究が終わればランニングで汗を流しながら友人を増やし、心身ともに充実した日々を送っていました。



写真1 収穫期を迎えたダイズ畑

キャンパスから車で10分も走れば、見渡す限りのダイズ畑が広がっています。

2. Long Lab での研究ライフ

Long 教授は、Bill & Melinda Gates Foundation から巨額の資金援助を受ける Realizing Increased Photosynthetic Efficiency (通称 RIPE project) のディレクターを務めるなど、作物の光合成研究をけん引してきた研究者の一人です。当時、研究室には9人のポスドクと私も含めて6人の graduate students、多数のテクニシャンが在籍する大型ラボでした。フィールドマネージャーやラボマネージャー、オフィスマネージャー、Executive Editor と呼ばれる裏方として働くメンバーも多数いて、事務仕事や研究プロジェクトのサポート、管理に携わっていました。Institute for Genomic Biology という建物にラボが入っていて、イリノイ大学の中でも新しく、内装も凝らされた作りになっています。実験室は複数の研究室が共有する形となっており、ラボの垣根を越えているような研究者とコミュニケーションを取りやすい点が非常に魅力的でした。セミナーは週に1度、コーヒーやお菓子をつつきながら行われ、



写真2 ハロウィンパーティー的一幕

Long教授宅で毎年開催されるハロウィンパーティー。私は手前左側の「スクリーム」の仮装で、その場にいた子供たちを大泣きさせていました…笑。

アメリカでは、栽培の計画や管理、後片付けは専門に雇われたスタッフ達が担当し、私は基本的に実験をするだけ、という形で研究を進めていました。オーストラリア国立大学でも、同様のスタイルで研究が進められていました。分業するがゆえに起こるトラブルもあり、どちらが良いとは一概には言えません。学生という立場であれば、対象とする植物や取り組む実験を理解するという観点から、日本のスタイルが良いと感じます。一方、ポスドクの立場であれば、海外のスタイルの方が研究に集中でき、効率良く仕事を進められる環境だろうと感じます。

4. 留学前にやっておくべきだと後悔したこと

アメリカに渡った当時は、「なんとなく英語ができるような気がする」という語学レベルでした。実際現地に行ってみると、周りが何を言っているのかほとんどわからない…という有り様で、先の半年間に大きな不安を感じました。当時ポスドクだった Johannes Kromdijk 博士 (現英国オックスフォード大学講師) が私の面倒を見てくれることとなり、とにかく彼に迷惑をかけまいと必死でした。ただ、日本人に対して好意的に近づいてくれる人が数人いることが救いでした。こちらのたどたどしい英語にも丁寧に対応してくれるだけでなく、優秀なポスドクからもらえたアドバイスは、いまま私の財産になっています。2、3か月も経つと、ラボメイト達の言っていることがなんとなくわかり始め、帰国直前には日常生活も含めてそれほど困ることがなくなる程度になっていました。帰国後も、私が在籍した京大作物研にはたくさんの留学生が所属していたこともあり、英語を使う機会にも十分恵まれます。ポスドクになってオーストラリアへ渡った時には、円滑にコミュニケーションをとることができ、わずか三週間の滞在でしたが満足のいくデータを取得し、1つの論文に仕上げることができました。この研究については、同号掲載の「変動光に対する光合成応答メカニズム-CO₂ 拡散プロセスに焦点を当てて」で解説しておりますので、どうぞ合わせてご覧ください。

海外に滞在して、その中で英語のスキルを磨くのももちろん良いと思います。滞在中、何事も怖がらずにまずは突っ込んでいく勇気が大事だなと実感したことが何度もありました。ただ、より滞在生活を楽しむために、そして研究ライフを充実したものにするためには、事前にはしっかり準備しておくことを強くお勧めします。

5. おわりに

本稿では、留学を通して私が感じたことや経験したこと、知られて恥ずかしい後悔などざっくりとお伝えしました。これらはあくまで私個人の考えであり、一口にアメリカ、オーストラリアといっても、大学間や研究室レベルでも大きな差があるはずで、私が所属した研究室は幸いにも非常に財政基盤のしっかりしたラボで、ほとんど不自由なく研究に打ち込むことができました。そして何より、大学院時代の恩師である田中佑先生、現ラボでお世話になっている矢守航先生の多大なるご支援とご助言があってこそ、充実した海外留学を経験することができました。この場をお借りして、両先生方に厚く御礼申し上げます。最後に、本稿執筆の機会を与えていただいた光合成学会若手の会 鶴巻達大氏に感謝申し上げます。

研究の進捗報告から論文の書き方、アウトリーチ活動や査読の訓練など、どれも新鮮で密度の濃い時間でした。一般的な実験装置に加えて、光合成に関連した解析装置が充実していて、ガス交換測定装置として最も有名な LI-6400(LICOR 社)は計7台も稼働していました。

Long 教授は大のハロウィン好きで、教授宅で開かれるラボメンバーとその家族を招いてのハロウィンパーティーは毎年恒例の重要なイベントとなっています(写真2)。

3. 日本と海外での研究経験を通じて感じた違い

海外の大学における研究の進め方で、日本の大学と最も大きく違うと感じたのは「仕事を分業する」という点です。日本の大学では、研究を進めるうえで必要なことは、その担当者が自ら手を動かすことがほとんどかと思えます。私は日本、アメリカともにフィールドで栽培したダイズを対象に実験を行いました。日本では栽培、実験、その後の後片付けなど全て自分で行った一方、ア

報告記事

若手の会の会長交代のご報告

東京大学大学院 総合文化研究科広域科学専攻
清水 隆之

私は、2018年2月に榎本元さんから4代目会長を引き継ぎ、3年間運営を行ってきました。目指したのは学生が交流しやすい環境づくりでした。セミナーでは、研究員・教員による発表だけでなく、学生による発表も積極的に企画しました。また、懇親会などの参加費も学生はなるべく安く済むように努力しました。その成果もあってか、多くの学生とセミナーで盛り上がることができ、「もっと早くから参加しておけばよかった。」と言ってくれる学生もいました。幹事の方々の協力もあり、非常に有意義な運営ができたと確信しています。

私も3年間で多くの経験をさせて頂きましたが、そろそろ新しい風を取り入れたいという気持ちから、これまで幹事の1人として国際的な企画を運営されてきた東京大学の神保晴彦さんに新年度より会長を交代することに致しました。神保さんの類稀な国際感覚はより現代的な若手の会を実現すると思います。また、私より長年幹事を務めてくださっていた榎本元さん、渡辺麻衣さん、溝上祐介さん、卒業して一般企業に就職される岡島圭佑さんにはこのタイミングで幹事を卒業して新しい世代にバトンタッチすることを併せてご報告させていただきます。今後とも、若手の会の活動を応援していただけたら幸甚です。

若手の会新会長からのご挨拶

東京大学大学院 総合文化研究科広域科学専攻
神保 晴彦

2021年4月より若手の会の5代目会長を勤めさせていただきます。若手の会には、修士1年だった2014年から加入させていただいており、前会長の清水さんを含め、多くの先輩方に大変良くして頂きました。今度は私が若手の会を率いて、新世代として光合成分野のフロンティアを突き進んでいきたいと思っています。

清水前会長の下では、国内外を問わず国際的な取り組みを若手の会の幹事として進めてきました。国内の留学生を集めた研究発表会やアジア・オセアニア光合成会議における若手の発表の機会などを企画しました。会長に就任してからも、こうした国際交流の場を率先して提供していきたいと思っています。若手の会の体制としては、多くの非常に優秀な方々が各々の役割をよく理解して自発的に活動してくれることを信じております。清水前会長の素晴らしい運営を引き継ぐと同時に、更なる驚きと発展を目指して活動していく次第です。何卒よろしく願いいたします。

幹事からのご挨拶

会計 嶋川銀河（関西学院大学 助教）

光合成には基礎から応用に至るまで、まだまだ分かっていないことが山ほどあります。幹事としての活動を通して、今後の光合成研究に新境地を作っていければと思います。

渉外 森田隆太郎（東京大学 助教）

光合成研究の裾野を広げるため、光合成学会と高等植物の光合成を扱っている農学系若手研究者との交流の機会を作っていきたいと思います。

ウェブ係 福島俊一（大阪大学 特任研究員）

ホームページは、本会に興味を持たれた方が一番初めに目にする窓口です。横山さんとともに、本会の情報を分かりやすく発信するとともに、新たな方々が光合成研究に参入する足がかりとなるようなコンテンツ作りを行っていけたらと思います。

ウェブ係 横山 諒（ウィスコンシン大学マディソン校 博士研究員）

昨年若手の会のHPを一新しました。さらに見やすく有益な情報を提供できるHPをデザインできるよう、福島さんと一緒に頑張っていきたいと思います。

広報 鬼沢あゆみ（中央大学 助教）

さまざまな研究分野で、オンライン化が半強制的に導入されたことが、若手研究者間の異分野交流の機会を増やすきっかけのひとつになるといいなと思っています。そして、1日でも早く、皆さんとお酒を直に酌み交わせる日が来るように願っています。

広報 菅野菜々子（関西学院大学 博士研究員）

様々な研究分野に携わっている人たちと交流することで、光合成研究に新しい価値をどんどん見つけられると思います。微生物生態系や分光解析系研究者との交流の場を作っていきたいと思います。

「若手研究者の海外留学レポート」編集 鶴巻 達大（チェコ科学アカデミー微生物研究所光合成グループポスドク）

昨年より続く新型コロナウイルス感染症により海外留学が難しくなっております。私自身、この挨拶が皆様の手元に届いている時に留学先へ行けていることを願うばかりです…。留学を考えている若手の皆様、執筆をお願いしますのでよろしくお願いいたします！

報告記事

第 6 回光合成細菌ワークショップの開催報告

¹久留米大学、²立命館大学、³海洋研究開発機構¹原田 二郎、²浅井 智広、³塚谷 祐介

日本植物生理学会年会の関連集会として 2021 年 3 月 13 日（土）に第 6 回光合成細菌ワークショップを開催しました。年会と同様にオンラインでの開催となりました。昨年の第 5 回ワークショップが感染症拡大防止のために紙上ででの発表だったため、第 6 回を冠していますが、ライブでの開催としては実質今回は 5 回目となりました。幸いにも、昨年現地で発表を予定されていた全ての演者の方々に、今年も発表を引き受けていただけました。早くからの告知とプログラム・要旨の公開が功を奏し、またオンライン開催が追い風となったようで、過去最多の 70 名程度の参加申し込みがあり、当日も常時 50 人を超える多くの方にご視聴いただきました。演者の方々の魅力的な発表内容により、質疑応答が絶えることはなく、活発な議論が行われた盛会だったと思います。後にいただいた評判も良いご意見が数多く聞かれ、世話人一同、今回のワークショップの成功に胸をなで下ろしています。

当日のプログラムは自然科学研究機構の滝澤さんの発表から始まりました。太陽系外惑星の生命の発見のため、スペクトル分析が可能な次世代宇宙望遠鏡等を駆使して、光合成細菌の色素が発する蛍光を観測する試みの可能性を議論したチャレンジングな内容でした。次演者の大阪大学の豊島さんは、フラックスバランス解析 (FBA) によるシアノバクテリアの 6 種類の波長光照射下における光合成の駆動と育成のシミュレーション予測と、実際の実験測定の結果との比較検討を行い、各光環境下での細胞増殖予測を FBA で行うことが可能であることを発表していただきました。続いての演者の東京農業大学の渡辺さんには、*Synechocystis* sp. PCC6803 のほぼ全てのゲノムを枯草菌 *Bacillus subtilis* に組み込んだ、光合成器官の異種内発現の取り組みについての興味深い発表をしていただきました。

休憩を挟んだ後半の最初には、茨城大学の大友さんに、紅色光合成細菌の生育環境に応じた多様な LH1 アンテナについて、構造を中心とした研究内容を発表していただきました。その次の名古屋工業大学の出羽さんは、人工光合成の研究についての発表で、紅色光合成細菌の LH2 や LH1-RC に蛍光色素をハイブリッドさせ、光捕集機能の拡張を見事に成功させた内容でした。最後は京都大学の大学院生の金さんの発表で、紅色光合成細菌の光受容タンパク質 Photoactive Yellow Protein (PYP) と相互作用することが近年分かった PYP-Binding Protein とのダイナミクスについて精力的に研究を進めている内容でした。

本ワークショップは今年で 6 年間続きました。開催を検討していた 7 年ほど前は、最低 5 回は開催できるようにしたいと話してましたが、今回でその目標は一応達成されました。また、日本語で書かれた光合成細菌に関する教科書となる書籍が 1984 年に学会出版センター（『光合成細菌 北村博、森田茂廣、山下仁平 編』）から出版されて以来無く、これに変わる新しい本を作ることも目標としてワークショップ継続のモチベーションとしてきました。こちらに関しても本ワークショップを主宰していた縁で、世話人が全員著者として加わった『光合成細菌 -酸素を出さない光合成- (嶋田敬三、高市真一 編)』が昨年 10 月末に裳華房から出

版されました。このように当初の目標はいくつか果たされましたが、最も重要な目標は「光合成細菌の研究を盛り上げていく」ことにありますので、こちらについてはさらに努力していきたいと思います。そのために、少しずつ趣向を変えて研究集会/シンポジウムを開催することも検討しています。参加者が楽しめて実りのある会にできるように企画したいと思っておりますので、今後とも多くの方のご参加をお待ちしております。

新刊紹介

『木本植物の生理生態』

小池孝良・北尾光俊・市栄智明・渡辺誠 編、262 頁、共立出版、2020 年 11 月 25 日発行、本体 3,600 円、ISBN 978-4-320-05812-5

構成：第 1 章 森林の保全生態 第 2 章 地域変異と生活環の制御 第 3 章 樹冠と林冠の構造とその発達・維持 第 4 章 光合成作用 第 5 章 光合成産物の分配 第 6 章 木部の構造と機能 第 7 章 木本植物の窒素利用 第 8 章 安定同位体から見た森林樹木 第 9 章 繁殖 第 10 章 生態系修復 第 11 章 変動環境への応答

(詳細目次は、<https://www.kyoritsu-pub.co.jp/kenpon/bookDetail/9784320058125> を参照)

生理生態学は、野外に生きる生物の生活を明らかにしようとする学問である。研究者が生き物と四つに組んで奮闘しなければ進展しない。本書は、わが国の樹木生理生態学をまさにそうした研究姿勢で牽引してきた北大名誉教授の小池孝良氏と、気鋭の北尾光俊氏、市栄智明氏、渡辺誠氏との編著による樹木の生理生態学の教科書である。33 名におよぶ著者が自身で取り組んでいる生理生態学のテーマについて、その基礎から説き起こし、最先端の研究を紹介し、さらに展望を述べている。また、24 篇のバラエティーに富むコラムが有効に差し込まれている。コラムのみを執筆した 15 名を含めて、総勢 48 人による合作である。各部分の書き方に厳密な統一感は感じられないが、最前線の著者ならではの「勢い」が随所に感じられる。

第 1 章を、現在、生態学において、そして社会的にも、最も重要視される生態系サービスと生態系の保全に関する解説から始めるのは「つかみ」として大変有効である。生態系サービスは 4 つに分けられる。このうちの 3 つのサービス、すなわち生態系が生産する資源（供給サービス）、生態系による気候変動や洪水の緩和など（調整サービス）、レクリエーションの場などの提供（文化サービス）のすべてが、植物による光合成生産、栄養塩循環、土壌形成などの（基盤サービス）に基づくことは言うまでもなく、基盤サービスを明らかにすることに生理生態学の意義があるからである。

第 2 章には近年進展の著しいエコゲノミクス、第 3 章には林冠構造の構築と維持のしくみが述べられている。第 4 章が光合成、第 5 章が光合成産物の分配にあてられている。第 6 章には、樹木の解剖学が通水などとの関連で詳細に解説され、第 7 章には窒素利用が、近年問題となっている森林の窒素飽和も含めて述べられている。第 8 章には安定同位体を用いた研究の基礎と最前線、第 9 章には樹木の繁殖に関する多くの視点がわかりやすく解説されている。第 10 章には生態系の修復が、菌根、生態系エンジニアとしての土壌動物などの視点から述べられている。震災後の海岸林修復について詳しい解説がある。第 11 章には、地球環境変化、大気汚染、低温応答などへの取組みが述べられている。

第 4 章の光合成と第 5 章の光合成産物の分配には、最も多くのページ（2 つの章で 67 頁）が割かれている。これらは、単なる植物生理学としての光合成や光合成産物の分配の記述ではなく、他の章とも密接な関連を保った樹木特有の問題の解説になっている。第 5 章の樹体内の CO₂ や O₂ の問題、第 6 章の樹木の構造の生理学的な解析のよりどころとなる篠崎吉郎のパイプモデルの詳細な解説などは、一般の生理学の教科書には見られない貴重なものである。

第 12 章は文献リストで、54 冊もの和文成書が、編者の洒脱なコメント付きで並べられている。また、本文中の文献は、古典から最新のものまでが網羅してある。

評者は植物生理生態学を看板としているが、本書を通読して新たに知ったことが多く、大変ためになった。光合成学会の会員が、自然条件下の樹木の光合成を考える際に必読の書であるといえよう。

(寺島 一郎・東京大学)

集会案内

第 28 回「光合成セミナー2021：反応中心と色素系の多様性」の開催案内

期日：2021年6月26日（土）午前10時から午後6時まで

場所：ZOOMでの開催

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

加藤公児（岡山大学）

「立体構造解析のイロハ ～光化学系膜タンパク質複合体を例に～」

宮下英明（京都大学）

「微細藻類の遠赤色光への順化と適応」

2. 口頭発表（詳細は未定）

3. ポスター発表（詳細は未定）

申込：発表申し込み締め切り 2020年6月7日（月）

参加申し込み締め切り 2020年6月7日（月）

参加費：無料

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などの情報は、下記ホームページに随時、掲載します。

http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~ohoka/photosyn_seminar/index.html

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。4月末頃までに口頭発表・ポスター発表の形式を決めたいと考えています。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。

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ツカイ）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

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、_____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**非承諾**項目に×印をつけてください

	振り仮名
氏名 (必須)	漢字表記
	ローマ字表記

[] 所属

[] 所属住所 (学生の方は、なるべく研究室名までお願いします)

〒

会誌送付先住所 (必須)

 所属先住所と同じ 以下の住所に送付

[] 〒

[] 連絡先電話番号

[] E-mail (必須)

 会費納入済み (振り込み年月日) 年 月 日 会費振り込み予定 (振り込み予定年月日) 年 月 日

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

賛助法人会員年会費 50,000 円 (上記と会誌への広告料を含む)

(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

〒226-8503 横浜市緑区長津田町 4259 番地 S2-1

東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所 久堀徹 研究室内

日本光合成学会

TEL : 045-924-5234, FAX : 045-924-5268, 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(ゼロイチキューと入力)、当座、0730290

名前 : ニホンコウゴウセイガッカイ

日本光合成学会会則

第1条 名称

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

第2条 目的

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

第3条 事業

本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催などの事業を行う。

第4条 会員

1. 定義

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

2. 権利

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

3. 会費

会員および賛助会員は本会の定めた年会費を納めなければならない。

第5条 組織および運営

1. 役員

本会の運営のため、役員として会長1名、事務局長1名、会計監査1名、常任幹事若干名をおく。役員任期は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」 投稿規定

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。
2. 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。
6. 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

- (1) 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。

- (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。著者が 5 名を超える際は、筆頭著者を記載しそれ以降の著者は et al. とすること。
雑誌例
 1. Berthold, D. A., Babcock, G. T. & Yocum, C. F. A highly resolved, oxygen-evolving photosystem II preparation from spinach thylakoid membranes. EPR and electron-transport properties. *FEBS Lett.* **134**, 231-234 (1981).
 2. Nanba, O. & Satoh, K. 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 (1987).

書籍例

3. Diner, B.A. & Babcock, G.T. In *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions* (eds Ort, D.R. and Yocum, C.F.) 213-247 (Kluwer, 1996)

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。
- (2) 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
2021年1月6日改訂

幹事会名簿

秋本 誠志	神戸大学大学院理学研究科	田中 歩	北海道大学低温科学研究所
栗井 光一郎	静岡大学学術院理学領域	田中 寛	東京工業大学化学生命科学研究科
池内 昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	田中 亮一	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	民秋 均	立命館大学総合理工学院
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	田茂井 政宏	近畿大学農学部生物機能科学科
伊藤 繁	名古屋大学	都筑 幹夫	東京薬科大学生命科学部
井上 和仁	神奈川大学理学部	出羽 毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
伊福 健太郎	京都大学大学院生命科学研究科	寺島 一郎	東京大学大学院理学系研究科
得平 茂樹	東京都立大学院理工学研究科	鞆 達也	東京理科大学理学部
大岡 宏造	大阪大学大学院理学研究科	仲本 準	埼玉大学大学院理工学研究科
太田 啓之	東京工業大学生命理工学院	永島 賢治	神奈川大学
大友 征宇	茨城大学理学部	成川 礼	東京都立大学大学院理学研究科
大政 謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科	南後 守	大阪市立大学大学院理学研究科
小川 健一	岡山県農林水産総合センター 生物科学研究所	西田 生郎	埼玉大学大学院理工学研究科
小侯 達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	西山 佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
垣谷 俊昭	名古屋大学	野口 航	東京薬科大学生命科学部
菓子野 康浩	兵庫県立大学理工学部	野口 巧	名古屋大学理学研究科
柏山 祐一郎	福井工業大学環境情報学部	長谷 俊治	大阪大学蛋白質研究所
金井 龍二	埼玉大学	林 秀則	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
神谷 信夫	大阪市立大学複合先端研究機構	原 登志彦	北海道大学低温科学研究所
熊崎 茂一	京都大学大学院理学研究科	彦坂 幸毅	東北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	久堀 徹	東京工業大学研究院化学生命科学研究科
小池 裕幸	中央大学理工学部	日原 由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
小林 正美	筑波大学大学院数理物質科学研究科	福澤 秀哉	京都大学大学院生命科学研究科
坂本 亘	岡山大学資源生物科学研究所	藤田 祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
佐賀 佳央	近畿大学理工学理学科	古本 強	龍谷大学農学部
櫻井 英博	早稲田大学	牧野 周	東北大学大学院農学研究科
佐藤 公行	岡山大学	増田 真二	東京工業大学生命理工学院
佐藤 直樹	東京大学大学院総合文化研究科	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
鹿内 利治	京都大学大学院理学研究科	松浦 克美	東京都立大学都市教養学部
篠崎 一雄	理化学研究所植物科学研究センター	松田 祐介	関西学院大学理工学部
嶋田 敬三	東京都立大学	真野 純一	山口大学農学部
沈 建仁	岡山大学異分野基礎科学研究所	皆川 純	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	宮尾 光恵	東北大学大学院農学研究科
杉田 護	名古屋大学遺伝子実験施設	宮下 英明	京都大学大学院地球環境学堂
杉山 達夫	名古屋大学	宗景 (中島) ゆり	関西学院大学生命環境学部
鈴木 祥弘	神奈川大学理学部	村田 紀夫	基礎生物学研究所
園池 公毅	早稲田大学教育学部	本橋 健	京都産業大学総合生命科学部
高市 真一	東京農業大学生命科学部	本橋 令子	静岡大学学術院農学領域
高橋 裕一郎	岡山大学異分野基礎科学研究所	矢守 航	東京大学大学院農学生命科学研究科
高林 厚史	北海道大学低温科学研究所	和田 元	東京大学大学院総合文化研究科

編集後記

成川さんからバトンを受けて編集長を勤めさせていただきます。昨年はコロナ禍により日本光合成学会も中止となり、大変な年でした。学会や集会を開いて研究の情報交換を行う場や、学生や若手研究者が交流を深める機会がなく、孤立したような感覚のなかで研究活動に不安を覚えた方もいらっしゃったのではないかと思います。それでも次第にオンライン環境が整い、オンラインでの研究集会のノウハウも蓄積され、多少の不便は感じるものの通常と同じ規模で学会が開催できるまじになりました。今年度は、新会長の久堀先生や成川さんのご尽力のおかげで日本光合成学会がオンラインで開催されることを大変うれしく思います。

今号の表紙は長尾さんに提供いただいた珪藻の光化学系-色素タンパク質長複合体の立体構造をモチーフにアレンジさせていただきました。本編では、前号のインパクトのある細胞の三次元画像で表紙を飾った大井さんのトピックス記事、迫田さんのトピックス記事、オンラインミニシンポジウムの解説特集「諸刃の剣：光合成のとの付き合い方」の3報の解説記事を掲載しています。また、報告記事に掲載させていただきましたとおり、若手の会も会長と幹事が交代になります。新しいメンバーが日本光合成学会と一緒に盛り上げてくれることを期待しています。

「光合成研究」では、研究紹介や解説記事を随時受け付けておりますので、奮ってご投稿ください。また表紙の写真や絵も募集していますので是非ご投稿ください。みなさまに様々な話題をお届けできるよう努めてまいります。本誌に関するご意見やご要望がございましたらご連絡ください。

編集長・宗景 ゆり（関西学院大学）

記事募集

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

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

記事の掲載を希望される方は、編集長の宗景（munekage@kwansci.ac.jp）までご連絡ください。

「光合成研究」編集委員会

編集長 宗景 ゆり (関西学院大学)
 編集委員 高林 厚史 (北海道大学)
 編集委員 古本 強 (龍谷大学)
 編集委員 高橋 俊一 (琉球大学)

日本光合成学会 2021年度役員

会長 久堀 徹 (東京工業大学)
 事務局長 園池 公毅 (早稲田大学)
 事務局 高林 厚史 (北海道大学) IT担当
 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 成川 礼 (東京都立大学) 前編集長
 常任幹事 矢守 航 (東京大学)
 常任幹事 藤田 祐一 (名古屋大学)
 常任幹事 沈 建仁 (岡山大学)
 常任幹事 宗景 ゆり (関西学院大学) 編集長
 常任幹事 増田 真二 (東京工業大学) 光生物学協会
 常任幹事 栗井 光一郎 (静岡大学) WEB担当

会計監査 小俣達男 (名古屋大学)
 選挙管理委員 和田 元 (東京大学) ・増田 建 (東京大学)

光合成研究 第31巻 第1号 (通巻90号) 2021年4月30日発行

日本光合成学会

〒226-8503 横浜市緑区長津田町 4259 番地 S2-1

東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所 久堀徹 研究室内

TEL : 045-924-5234

FAX : 045-924-5268

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
