

光合成研究

第 31 卷 第 2 号 (通巻 91 号) 2021 年 8 月

Vol. 31 NO. 2 August 2021

JOURNAL OF THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

日本光合成学会 次期会長選挙のお知らせ	82
トピックス 珪藻から紐解く紅色進化系統 LHC のユニークな分子デザイン 長尾 遼 (岡山大)	83
解説特集 「収量増加につながる光合成研究」	
序文 古本 強 他 (龍谷大)	92
解説 葉緑体集合反応は植物のバイオマスを増大させる 後藤 栄治 (九州大)	93
解説 原形質流動の人工的高速化によるバイオマス増産技術 富永 基樹 (早稲田大)	101
解説 Rubisco の高活性化によるイネの光合成能力と生産性の改良 深山 浩 他 (神戸大)	108
表紙の紹介 植生反射光のリモートセンシングとアストロバイオロジーへの応用 滝澤 謙二 他 (基生研)	118
若手の会特別企画 第 13 回「海外での研究経験、オーストラリア」 藤田 祐輝 (東北大)	119
報告記事 第 11 回日本光合成学会年会・公開シンポジウム開催報告 成川 礼 他 (東京都立大)	121
報告記事 第 22 回光合成学会若手の会オンラインセミナー開催報告 神保 晴彦 (東京大)	123
報告記事 光合成学会 若手の会 第 22 回セミナーに参加して 吉原 晶子 (大阪府大)	124
事務局からのお知らせ	125
日本光合成学会会員入会申込書	126
日本光合成学会会則	127
「光合成研究」投稿規定	129
幹事会名簿	130
会員名簿	131
編集後記・記事募集	141
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2021 年度役員	142
次期会長選挙 投票用紙	
賛助法人会員広告	

日本光合成学会 次期会長選挙のお知らせ

「日本光合成学会会則（平成 21 年 6 月 1 日施行）第 5 条」に基づき、次期会長選挙（任期：令和 5 年 1 月 1 日～令和 6 年 12 月 31 日の 2 年間）を行ないます。本会では任期一年前に新会長を選出し、会の円滑、継続的な運営をはかることになっています。この会報の末尾に添付されている投票用紙に会員の中から会長候補者 1 名の氏名を明記し、同封した返信用封筒に入れて選挙管理委員会宛に 9 月 27 日までにご返送下さい（消印有効）。会員名簿は本号の巻末をご覧ください。

これまでの本会会長は、宮地重遠、西村光雄、佐藤公行、金井龍二、井上頼直、高宮建一郎、村田紀夫（二期）、伊藤繁（二期）、池内昌彦（二期）、田中歩、高橋裕一郎（二期）、鹿内利治、久堀徹（現会長：任期 令和 3 年 1 月 1 日～令和 4 年 12 月 31 日）の諸氏です。「会則 5 条の 1 では会長は連続して二期を超えて再任されない」となっております。

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

沈 建仁（岡山大学）、西山 佳孝（埼玉大学）、藤田 祐一（名古屋大学）

日本光合成学会 選挙管理委員会

増田 建（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻）

和田 元（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻）

投票用紙の送付先

〒153-8902

東京都目黒区駒場 3-8-1

東京大学大学院総合文化研究科 15-305A

和田研究室内

日本光合成学会選挙管理委員会 行き

トピックス

珪藻から紐解く紅色進化系統 LHC のユニークな分子デザイン

岡山大学 異分野基礎科学研究所

長尾 遼*

光合成生物は見た目の色が異なる。これは色素分子および集光性色素タンパク質の多様性のためであるが、それらの機能や分子構造の違いはどのくらい理解されているのだろうか？本稿では、光合成生物の見た目の色の違いの不思議について、紅色進化系統に着目した筆者の最新の成果を纏めた内容である。紅色進化系統に属し、褐色を呈する珪藻の光化学系-集光性色素タンパク質超複合体の立体構造をクライオ電子顕微鏡単粒子解析によって解明した。得られた構造は、陸上植物の光化学系-集光性色素タンパク質超複合体の構造と大きく異なっていた。これは、紅色進化系統と緑色進化系統の集光性色素タンパク質が異なる分子進化を遂げていることを示唆する。さらに、培養環境に応じて珪藻 FCP の発現調節が変化することを見出した。最後に、生物系研究者である筆者がクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析を経験したことによる当該分野への感想を述べる。

1. はじめに

雑誌「光合成研究」の読者は、実験材料として何かしらの光合成生物を扱った経験があると思われる。なぜその生物を選択したのか？理由はともかく、多くの方が陸上植物・緑藻・シアノバクテリアではないだろうか。筆者も卒業研究を開始するまでは上記のどれかを扱うものだと思っていたが、蓋を開けてみれば珪藻と呼ばれる褐色を呈する真核藻類が実験材料であった。光合成生物=緑色、という筆者の浅い考えは一気に吹き飛び、同時に「光合成生物って緑色以外もいるのか！」という衝撃を受けたことを今でもはっきりと覚えている。この時が「光合成生物の見た目の色の違いの不思議」に取りつかれた瞬間であり、その研究を今でも続けている。

2. 紅色進化系統

光合成生物の見た目の色の違いは、色素分子の多様性に起因する。色素分子の多くは光化学系タンパク質や集光性色素タンパク質 (Light-harvesting complex, LHC) に結合する。光化学系タンパク質は押し並べて緑色を呈するが、LHC

は様々な色を呈することが知られている^{1,2)}。つまり、光合成生物の見た目の色の違いは LHC の多様性に依拠する。

光合成生物はその見た目の色から緑色進化系統と紅色進化系統に分類される²⁾。緑色進化系統はシアノバクテリア→緑藻→陸上植物へと進化する系統であり、紅色進化系統はシアノバクテリア→紅藻→珪藻・褐藻・渦鞭毛藻・円石藻などへと進化する系統である。LHC の主な役割は、光化学系タンパク質に結合し、光エネルギーを供給することにあるため、紅色進化系統と緑色進化系統とで LHC の機能の違いが予想される。LHC の機能発現や分子構造については、緑色進化系統において広く研究されている一方、紅色進化系統では圧倒的に研究例が少ない。これは、紅色進化系統のほとんどが難培養・非モデル生物であることから、遺伝学および分子生物学的な研究基盤が整っていない、というのが主な理由である。

こうした背景の中、筆者は珪藻 LHC の研究を進めてきた。珪藻の LHC はフコキサンチンクロロフィルタンパク質 (Fucoxanthin chlorophyll *a/c*-binding protein, FCP) と呼ばれており、陸上植物

*連絡先 E-mail: nagaoryo@okayama-u.ac.jp

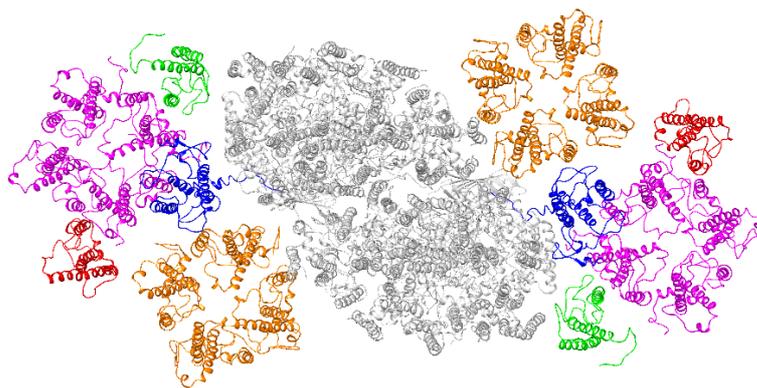


図1. 珪藻PSII-FCPII超複合体の立体構造

PSII-FCPIIの立体構造をストロマ側から見た図 (PDB: 6J40)。各タンパク質の色について、PSII core (gray)、S-tetramer (orange)、M-tetramer (magenta)、monomer 1 (blue)、monomer 2 (green)、monomer 3 (red)、をそれぞれ示す。詳細については文献⁹⁾を参照。

の LHC と比べ、アミノ酸配列や色素組成が異なる³⁾。筆者は、珪藻 *Chaetoceros gracilis* を用いて、FCP が光化学系 II (photosystem II, PSII) に結合した PSII-FCPII 超複合体を世界で初めて精製した^{4,5)}。また、FCP が光化学系 I (photosystem I, PSI) に結合した PSI-FCPI 超複合体も *C. gracilis* から精製している^{4,6)}。これらの超複合体を試料とし、機能構造研究を進めてきた。尚、珪藻の生物学的な背景は過去の記事を参照されたい^{7,8)}。

3. 珪藻 PSII-FCPII

図 1 は珪藻 PSII-FCPII の立体構造である⁹⁾。精製した PSII-FCPII をクライオ電子顕微鏡単粒子解析し、その構造を 3.8Å の分解能で解いた。珪藻の PSII に結合した主要な FCP は四量体を形成していることが判明した。PSII に近接した四量体を S-tetramer (strongly associated FCPII tetramer)、PSII から距離が遠いものを M-tetramer (moderately associated FCPII tetramer) と命名した。S-tetramer と M-tetramer は単一の遺伝子から構成されるホモ四量体であった。さらに PSII 単量体に対して、3 つの FCP 単量体が結合しており、それぞれを monomer 1、monomer 2、monomer 3 としたが、それらの遺伝子を同定するに至らなかった。

陸上植物の PSII-LHCII (photosystem II-light-harvesting chlorophyll protein complex II) 超複合体の立体構造と比較する。陸上植物では、主要な LHC は三量体を形成している¹⁰⁾。S-trimer

(strongly associated LHCII trimer) および M-trimer (moderately associated LHCII trimer) が見出されているが、それぞれの結合様式が珪藻の S・M-tetramer と異なる。珪藻の S-tetramer は PSII の CP47 に近接しているが、陸上植物の S-trimer は PSII の CP43 と近接している。一方、M-tetramer は monomer 1 および 2 を介して PSII の CP43 と相互作用しているが、M-trimer は CP24 や CP29 を介して PSII の CP47 と結合する。このように、主要な LHC の多量体構造だけでなく、それらの相互作用までもが珪藻と陸上植物とで異なることが判明した。尚、珪藻 PSII-FCPII の立体構造は別のグループからも報告されている¹¹⁾。

4. 珪藻 PSI-FCPI

図 2 は珪藻 PSI-FCPI の立体構造である¹²⁾。精製した PSI-FCPI をクライオ電子顕微鏡単粒子解析し、その構造を 2.4Å の分解能で解いた。珪藻の PSI には、FCP が 16 個結合しており、それぞれが別の遺伝子由来であった。各生物種での PSI-LHCI の立体構造によると、陸上植物では 4 個の LHCI (light-harvesting chlorophyll protein complex I)^{13,14)}、緑藻では 4~10 個の LHCI¹⁵⁻¹⁸⁾、紅藻では 3~5 個の LHCI^{19,20)}、がそれぞれの PSI に結合している。従って、珪藻 PSI には多くの LHC が結合していることがわかる。

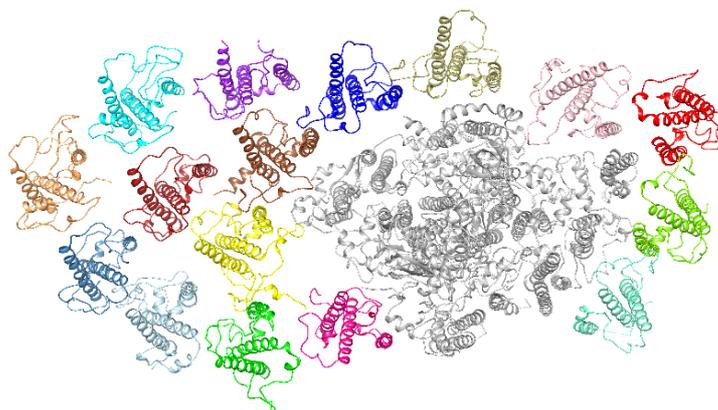


図2. 珪藻PSI-FCPI超複合体の立体構造

PSI-FCPIの立体構造をストロマ側から見た図 (PDB: 6L4U)。灰色はPSI core、他の色はFCPをそれぞれ示す。詳細については文献¹²⁾を参照。

珪藻 *C. gracilis* の PSI-FCPI の立体構造は別のグループからも報告されている²¹⁾。興味深いことに、この構造では PSI の周りに FCP が 24 個結合していた。実は、PSI のアンテナサイズの違いが *C. gracilis* の培養条件に依存することを既に筆者は発見していた²²⁾。培養温度を 25 or 30°C、3% CO₂ を添加する or しない、を変えることにより 4 つの培養条件を試し、それらからチラコイド膜を調製し、clear-native PAGE に供した (図 3)。25°C/air と 25°C/CO₂ の培養条件では、PSI-FCPI のバンドが赤矢印の位置に留まっているが、30°C/air の条件でほんの少し低分子量側にシフトし、30°C/CO₂ 培養条件では黄矢印の位置まで低分子量側にシフトした。これは、温度や二酸化炭素濃度により、PSI に結合する FCP の数が変動することを示唆する。ここで PSI-FCPI の立体構造に戻ると、筆者の培養条件は 30°C/CO₂ であり、FCP の数は 16 個であった¹²⁾。一方、別のグループでは培養条件が 25°C/CO₂ であり、FCP の数は 24 個であった²¹⁾。生化学分析と立体構造解析の結果が良く一致していることを意味する。

培養条件の変化によって、なぜ PSI に結合する FCP のアンテナサイズは変化するのか？筆者は二つの仮説を考えている。(1) 培養条件により FCP の発現制御機構が変わる、(2) そもそも FCP は発現しているが PSI への結合が弱くなる。これ

らを明らかにするために、各培養条件で発現する FCP のトランスクリプトーム解析を進めている。

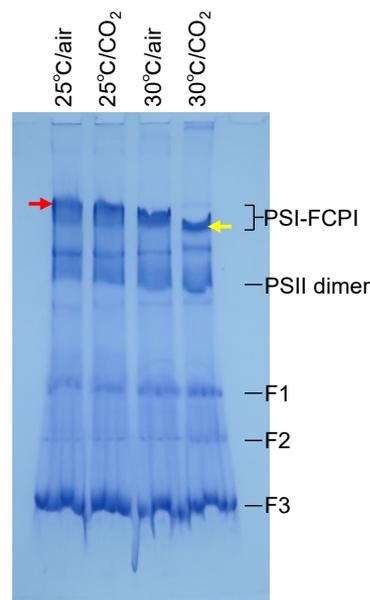


図3. 異なる培養条件による珪藻の色素タンパク質の発現

珪藻 *C. gracilis* を 4 つの条件で培養し、clear-native PAGE に供し、CBB染色したゲルの写真。25°C/air, 培養温度25°Cで空気を通気; 25°C/CO₂, 培養温度25°Cで3% CO₂を通気; 30°C/air, 培養温度30°Cで空気を通気; 30°C/CO₂, 培養温度30°Cで3% CO₂を通気。各タンパク質複合体のバンドは、PSI-FCPI, PSII dimer, F1, F2, F3とラベルした。F1, F2, F3はFCP複合体である。赤矢印と黄矢印は異なる分子量のPSI-FCPI超複合体を示す。CBB染色前の画像および内容の詳細については文献²²⁾を参照。

5. 環境変化による珪藻 FCP の多様な発現

CO₂ および温度の培養条件の変化は、PSI-FCPI のアンテナサイズに影響を与えるのみならず、蛍光スペクトルにも影響を与えた²²⁾。25°C/air、25°C/CO₂、30°C/air の条件では、687 nm および 695 nm に二つのピークを示した (図 4)。この蛍光は、PSII の CP43 および CP47 の low-energy Chl 由来の蛍光である^{23,24)}。しかし、30°C/CO₂ の条件ではこの二つの蛍光ピークが観測されず、692 nm のピークが現れた。また、692 nm ピークのバンド幅は狭くなった。それぞれの細胞から FCP を分画すると (図 3)、25°C/air、25°C/CO₂、30°C/air の条件では F1 および F3 が観測されたが、30°C/CO₂ の条件では F1 と F3 に加え F2 が現れた²²⁾。692 nm 由来の蛍光は新たに発現した F2 由来であることが示唆された。

30°C/CO₂ の条件で見られた蛍光スペクトルの変化は、*C. gracilis* を単色 LED で培養した際にも確認された²⁵⁾。白色 LED および青色 LED で培養された *C. gracilis* の蛍光スペクトルは 25°C/air、25°C/CO₂、30°C/air の条件とほぼ同じ形をしているが、赤色 LED で培養された細胞の蛍光スペクトルは 30°C/CO₂ の条件と似ていた。赤色 LED で培養した細胞の生化学分析を進めると、この特徴的な蛍光スペクトルは F2 由来であることが判明した²⁶⁾。さらに、F2 が発現する二つの条件で培養した細胞のトランスクリプトーム解析を行ったところ、特定の FCP 遺伝子群が顕著に発現していることを見出した (未発表)。これらの研究により、光質・温度・CO₂ 濃度といった生育環境の変化により、*C. gracilis* は FCP の発現調節を行っていることが明らかになった。しかし、F2 がどんな機能を持つのか未だ不明であるため、今後の研究が必要である。

6. 光合成生物の多様な LHC

紅色進化系統には紅藻から進化した二次共生藻の多様な生物群があり、珪藻・褐藻・円石藻・渦鞭毛藻などが確認されている²⁾。本稿で紹介したように、珪藻 PSII に結合した主要な FCP は四量体を形成していたが、他の二次共生紅藻の PSII

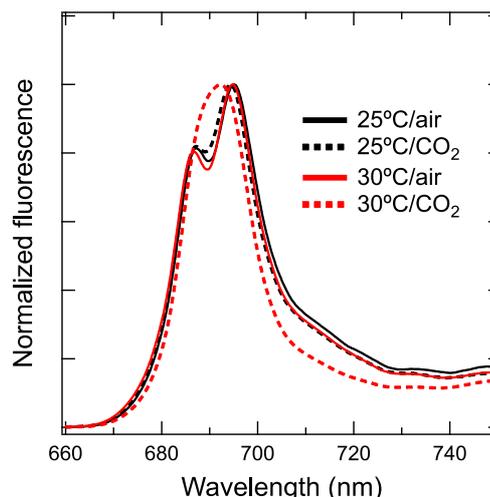


図4. 異なる培養条件による珪藻細胞の低温蛍光スペクトル

珪藻 *C. gracilis* を4つの培養条件で培養し、77Kでの蛍光スペクトルを測定。25°C/air, 培養温度25°Cで空気を通気 (黒実線); 25°C/CO₂, 培養温度25°Cで3% CO₂ を通気 (黒点線); 30°C/air, 培養温度30°Cで空気を通気 (赤実線); 30°C/CO₂, 培養温度30°Cで3% CO₂ を通気 (赤点線)。励起波長は459 nm。詳細については文献²²⁾を参照。

には四量体の LHC が結合しているのだろうか? また、PSI に結合する LHC の数は何個だろうか? 褐藻や円石藻は珪藻と同様にフコキサンチンを主要なカロテノイドとした FCP を持ち、渦鞭毛藻はペリジニンを主要なカロテノイドとしたペリジニクロロフィルタンパク質 (PCP) を持つ。褐藻 FCP や渦鞭毛藻 PCP の研究はいくつか報告があるが^{27,28)}、円石藻やその他の二次共生紅藻の LHC の報告例はほとんど無い。これらの特性解析を進め、紅色進化系統 LHC の特殊性と多様性を解明する予定である。

7. LHC の命名とその定義

話は少しそれるが、LHC の命名について筆者の疑問を提示する。LHC には、フィコビリソームのような親水性タイプと本稿で取り扱ったような膜貫通タイプが存在し、これらを総称して、LHC = Light-harvesting complex であると筆者は理解している。古くは 1960 年代に Light-harvesting complex という言葉が使われているが、ややこしいことに緑色進化系統の場合、PSI 型の LHCI は

light-harvesting chlorophyll protein complex I、PSII 型の LHCII は light-harvesting chlorophyll protein complex II として定義されている。その一方で、LHCI を light-harvesting complex of photosystem I、LHCII を light-harvesting complex of photosystem II とする人もいる。これらの情報だけでも、LHC という言葉の定義が個々の研究者に委ねられていることがわかる。

紅色進化系統の LHC に目を向けると、状況はさらに複雑化（悪化？）する。歴史的に紅色進化系統の LHC は、light-harvesting chlorophyll protein complex や light-harvesting complex of photosystem と定義されてこなかった。上述したように、FCP や PCP と名付けられており、主要なカロテノイドを名前に組み込むようになっている。仮に、この命名方法を緑色進化系統に当てはめた場合、緑色進化系統の LHC はどのような名前になるだろうか？陸上植物や緑藻では、LHC に結合する主要なカロテノイドがルテインであるため、ルテインクロロフィルタンパク質（LCP）でもいいはずである。すべての緑色進化系統が主要なカロテノイドとしてルテインを保有しているのであれば、現行の light-harvesting chlorophyll protein complex や light-harvesting complex of photosystem でも良いかもしれないが、そうならないところが光合成の複雑なところである。二次共生緑藻であるユーグレナは、主要なカロテノイドとしてジアジノキササンチンを持ち、ルテインを持たない^{29,30)}。となると、ユーグレナの LHC は、陸上植物の LHC とはだいぶ異なることが予想されるため、ジアジノキササンチンクロロフィルタンパク質（DCP）とでも呼ぶ必要があるように思える。もしくは緑色進化系統だから、light-harvesting chlorophyll protein complex や light-harvesting complex of photosystem という枠に当てはめるべきなのか、非常に悩ましい。昨今は、光合成研究でも多様な生物を扱うことが当たり前になりつつあるため、LHC の表記についてもどこかで再定義が必要のように思えるが、読者はどう思うのだろうか？ほとんどの読者が陸上植物や緑藻を取り扱っていることを予想すると、どうでもよい問い掛けになってしまう

だろうが、筆者の疑問が特殊な藻類を研究している少数派の読者と共有できれば本望である。

8. 生物系研究者の構造データとの付き合い方

最後に、生物系研究者がタンパク質立体構造データとどのように付き合った方が良いか、珪藻 PSII-FCPII および PSI-FCPI の構造解析を通して学んだ筆者なりの考えを記述する。これから構造データを使って実験計画を練る読者、またはクライオ電子顕微鏡単粒子解析を行う読者にとって参考になれば幸いである。

このセクションの結論は、「論文として掲載された立体構造は必ずしも正確ではない」である。筆者がタンパク質構造研究を始める前は、「構造=正解」という図式が頭にあったが今は全く違う。特に、クライオ電子顕微鏡単粒子解析においては、「マップと原子構造モデルを自分で確認した方が良い」ということを強く述べたい。ここでいうマップとは、実験データに基づく言わば設計図のようなもので、この設計図に対してアミノ酸や色素分子といったモデルを配置し、構造情報を引き出す作業が構造解析である。なぜマップとモデルを確認する必要があるかという点、広義には「マップが無い、もしくはマップ密度が小さいところにモデルを置く」、その中には「マップからは同定できないサブユニットをアサインする」・「アサインしたサブユニットのアミノ酸配列やコファクターが間違っている」、などの不確かさを含んだ構造が見られるためである。もし我々が目にする原子構造モデル（pdb データ）が間違っていたとしたら、その構造をもとに実験計画を練った研究者にはどんな未来が待っているだろうか？悲惨でしかないように思える。

なぜそんなことがまかり通るのだろうか？この点が気になった読者も少なくないと思う。結論を言うと、クライオ電子顕微鏡単粒子解析においては構造評価のための検証方法がしっかりと定まっていないためである。X線結晶構造解析にしろ、クライオ電子顕微鏡単粒子解析にしろ、測定された実験データには少なからず実験誤差が含まれる。この実験誤差は、測定データから計算されたマップの精度に不均一性（マップ密度の大小

や分解能の高低)をもたらす。そのため、マップに基づいて構築された原子モデルの妥当性や確からしさを検証しなければならない。この検証は、多方面から客観的に評価するための統計的な値を指標に行われる。例えば、測定された実験データの信頼性、実験データに基づいて計算されたマップとそのマップに基づいて構築された構造モデルの一致度、そして構築された構造モデルが幾何学的に「まとも」であるかの検証、などが挙げられる。X線結晶構造解析は解析法としての歴史が古いことから、この検証方法がある程度は確立されている(それでも解釈不十分なモデルも登録されているが)。X線結晶構造解析論文では統計値を纏めた Table があり、それが決定した構造の確からしさを示す。しかしながら、クライオ電子顕微鏡単粒子解析を用いた原子レベルでの構造解析はまだ歴史が浅く、決定された構造の検証方法が十分に確立されていない。クライオ電子顕微鏡単粒子解析でも X線結晶構造解析と同様の Table があるものの、マップとモデルの一致度を正確に評価した指標がほとんどない。この指標については、クライオ電子顕微鏡単粒子解析用のものが徐々に作られだしているが(例えば Q-score³¹⁾)、クライオ電子顕微鏡単粒子解析によって得られた構造の確からしさは、「実験者の習熟度」、「実験者の誠実さ」、そして「査読者の力量」に大きく依存するといえる。最近の論文では査読の段階でマップとモデルの両方を査読者に提出するケースも出ている。これは査読者が自身の目で構造が妥当であるか判断するという意味を意味し、今後、本稿の読者にも求められることがあるかもしれない。

9. おわりに

筆者が研究を始めた15年ほど前は、日本の光合成分野においてタンパク質調製を主とする生物学研究は絶滅危惧種であったように記憶している。当時は(今も?)、生理生態学・遺伝学・分子生物学研究が花形であり、それは現在の光合成学会の発表を見ても変わらないように思える。ということで、生きた化石状態の筆者であるが、クライオ電子顕微鏡単粒子解析の技術革新によ

り、状況が一転したように思える。その理由は、①難培養生物の培養方法の確立、②古典的なタンパク質調製技術、というのが構造研究の根幹を支えているためである。このような技術を保有している光合成研究者は「レアキャラ」になりつつあるため、一過性ではあると思うが、今は需要が高いように思える。

話を冒頭に戻すと、筆者の興味は構造そのものではなく「光合成生物の見た目の色の違いの不思議」について機能構造研究を展開し、色素タンパク質の分子進化を見出すことにある。従って、構造研究はあくまでも手法の一つに過ぎない。なぜ色が違う?その意味は?このような疑問を常に抱き、今後も生物学・生化学・分光学・構造生物学・遺伝学的手法を駆使し、研究を続けていきたいと考えている。

謝辞

珪藻研究は東京理科大学の榎並勲名誉教授のご指導から始まり、現所属の沈建仁教授のもとで完成した。また、筆者の研究推進能力は、博士課程時代の池内昌彦名誉教授による熱心なご指導の賜物である。榎並名誉教授、池内名誉教授、沈教授の3名に深く感謝を申し上げますとともに、これまでお世話になった多くの方々のご支援についても同様に感謝申し上げます。また、本稿を纏めるにあたり意見をいただいた岡山大学の加藤公児特任准教授および理化学研究所の川上恵典研究員にお礼申し上げます。

Received Feb 9, 2021; Accepted Jun 23, 2021; Published Aug 31, 2021.

参考文献

1. Blankenship, R. E., *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. 2nd ed.; Wiley-Blackwell: Oxford, U.K., 2014.
2. Falkowski, P. G. et al. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* **305**, 354-360 (2004).
3. Green, B. R. and Pichersky, E. Hypothesis for the evolution of three-helix Chl *a/b* and Chl *a/c* light-

- harvesting antenna proteins from two-helix and four-helix ancestors. *Photosynth. Res.* **39**, 149-162 (1994).
4. Nagao, R. et al. 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 (2007).
 5. Nagao, R. et al. Purification and characterization of a stable oxygen-evolving Photosystem II complex from a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* **1797**, 160-166 (2010).
 6. Nagao, R. et al. 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 (2019).
 7. Kimura, K. Current state of the classification and physiological and ecological study of diatom viruses. *光合成研究* **30**, 26-34 (2020).
 8. Kashino, Y. Diverse strategies of diatom to adapt/acclimate to the environments. *光合成研究* **30**, 46-54 (2020).
 9. Nagao, R. et al. Structural basis for energy harvesting and dissipation in a diatom PSII-FCPII supercomplex. *Nat. Plants* **5**, 890-901 (2019).
 10. Su, X. et al. Structure and assembly mechanism of plant C₂S₂M₂-type PSII-LHCII supercomplex. *Science* **357**, 815-820 (2017).
 11. Pi, X. et al. The pigment-protein network of a diatom photosystem II-light-harvesting antenna supercomplex. *Science* **365**, eaax4406 (2019).
 12. Nagao, R. et al. Structural basis for assembly and function of a diatom photosystem I-light-harvesting supercomplex. *Nat. Commun.* **11**, 2481 (2020).
 13. Qin, X. et al. Structural basis for energy transfer pathways in the plant PSI-LHCI supercomplex. *Science* **348**, 989-995 (2015).
 14. Mazor, Y. et al. Structure of the plant photosystem I supercomplex at 2.6 Å resolution. *Nat. Plants* **3**, 17014 (2017).
 15. Qin, X. et al. Structure of a green algal photosystem I in complex with a large number of light-harvesting complex I subunits. *Nat. Plants* **5**, 263-272 (2019).
 16. Su, X. et al. Antenna arrangement and energy transfer pathways of a green algal photosystem-I-LHCI supercomplex. *Nat. Plants* **5**, 273-281 (2019).
 17. Suga, M. et al. Structure of the green algal photosystem I supercomplex with a decameric light-harvesting complex I. *Nat. Plants* **5**, 626-636 (2019).
 18. Perez-Boerema, A. et al. Structure of a minimal photosystem I from the green alga *Dunaliella salina*. *Nat. Plants* **6**, 321-327 (2020).
 19. Pi, X. et al. Unique organization of photosystem I-light-harvesting supercomplex revealed by cryo-EM from a red alga. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **115**, 4423-4428 (2018).
 20. Antoshvili, M. et al. Structure and function of photosystem I in *Cyanidioschyzon merolae*. *Photosynth. Res.* **139**, 499-508 (2019).
 21. Xu, C. et al. Structural basis for energy transfer in a huge diatom PSI-FCPI supercomplex. *Nat. Commun.* **11**, 5081 (2020).
 22. Nagao, R. et al. Effects of CO₂ and temperature on photosynthetic performance in the diatom *Chaetoceros gracilis*. *Photosynth. Res.* **146**, 189-195 (2020).
 23. Groot, M.-L. et al. Triplet and fluorescing states of the CP47 antenna complex of photosystem II studied as a function of temperature. *Biophys. J.* **68**, 281-290 (1995).
 24. Andrizhiyevskaya, E. G. et al. (2005) Origin of the F685 and F695 fluorescence in Photosystem II. *Photosynth. Res.* **84**, 173-180.
 25. Akimoto, S. et al. Adaptation of light-harvesting and energy-transfer processes of a diatom *Chaetoceros gracilis* to different light qualities. *Photosynth. Res.* **146**, 87-93 (2020).
 26. Ueno, Y. et al. Spectral properties and excitation relaxation of novel fucoxanthin chlorophyll *a/c*-binding protein complexes. *J. Phys. Chem. Lett.* **10**, 5148-5152 (2019).
 27. Katoh, T. et al. Light-harvesting particles isolated from a brown alga, *Dictyota dichotoma*. A supramolecular assembly of fucoxanthin-chlorophyll-protein complexes. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* **976**, 233-240 (1989).
 28. Hofmann, E. et al. Structural basis of light harvesting by carotenoids: peridinin-chlorophyll-protein from *Amphidinium carterae*. *Science* **272**, 1788-1791 (1996).
 29. Casper-Lindley, C. and Björkman, O. Fluorescence quenching in four unicellular algae with different light-harvesting and xanthophyll-cycle pigments. *Photosynth. Res.* **56**, 277-289 (1998).

30. Kato, S. et al. Suppression of the phytoene synthase gene (*Egcr1B*) alters carotenoid content and intracellular structure of *Euglena gracilis*. *BMC Plant Biol.* **17**, 125 (2017).
31. Pintilie, G. et al. Measurement of atom resolvability in cryo-EM maps with *Q*-scores. *Nat. Methods* **17**, 328-334 (2020).

Unique light-harvesting complexes in red-lineage organisms

Ryo Nagao

Research Institute for Interdisciplinary Science, Okayama University

解説特集

収量増加につながる光合成研究

Editor: 古本 強（龍谷大）、高林 厚史（北海道大）、高橋 俊一（琉球大）

序文

古本 強 他（龍谷大） 93

解説 葉緑体集合反応は植物のバイオマスを増大させる

後藤 栄治（九州大） 94

解説 原形質流動の人工的高速化によるバイオマス増産技術

富永 基樹（早稲田大） 102

解説 Rubisco の高活性化によるイネの光合成能力と生産性の改良

深山 浩 他（神戸大） 109

解説特集

序文[†]

¹ 龍谷大学 農学部植物生命科学科

² 北海道大学 低温科学研究所

³ 琉球大学 熱帯生物圏研究センター

古本 強¹、高林 厚史²、高橋 俊一³

世界の人口は増加の一途をたどり、2050年には97億人を超えるとされます。人口増加を支える安定した食糧生産性を確保するための技術知見を提供することは、植物科学の課題の一つです。

これまで光合成のメカニズムは、基礎科学の視点から詳細に理解されてきました。関係する多くの代謝酵素が同定され、葉緑体膜を介した物質輸送の分子実体も明らかにされつつあります。光合成に関わる酵素の活性制御のメカニズムなども研究されてきました。さらに、近年にはPSIIやPSIなどの巨大なタンパク質複合体の結晶構造が解析され、プロテオームやトランスクリプトーム・プロテオーム解析などのオミクス解析によって詳細に関係情報は蓄積されてきています。大きさのスケールで表現すると、Å（オングストローム）からm（メートル）まで、時間では、f秒から年単位までの時空間的な広がりを持って研究が進められてきています。

こうした基礎研究には、その成果を活用して植物の生産力をどのように高めればいいのかについてのヒントを求める思いも副流していますが、現存の植物の機能を強化してバイオマスを増強することに成功した例はそう多くはありません。長い進化の過程で洗練されてきたメカニズムを理解することはできても、それを活用してさらに洗練されたものを作るには、まだ我々の理解が足りないと考えべきなのではないでしょうか。

最近になって植物のバイオマスを増強させることに成功した、あるいは増強への大きなヒントとなる研究が相次ぎました。それぞれにこれまでの光合成基礎研究からは別角度と言っているアプローチでした。この解説特集では、これらの研究成果を報告した3つのグループの研究に焦点を当て、それぞれの取り組みを解説してもらいます。

九州大学の後藤先生には、葉緑体の集合反応の制御によってバイオマス増強が可能となったという研究例を、早稲田大学の富永先生には、原形質流動の速さの調節によってバイオマスコントロールが可能であったこと、そして神戸大学の深山先生・立命館大学の松村先生にはキメラRubiscoの作出によるバイオマスの増強について紹介いただきます。どの研究も、今までの光合成研究にはない視点での研究成果で、まだまだバイオマスを増強させる可能性があることを示すリーディング研究だと思いません。本解説記事をきっかけに、光合成研究が盛んになることを期待します。

本特集の編集にあたっては、コロナ禍の大変な中、執筆者・査読者の方々には大変お世話になりました。心よりお礼申し上げます。

[†] 解説特集「収量増加につながる光合成研究」

*連絡先 E-mail: tfurumoto@agr.ryukoku.ac.jp

解説

葉緑体集合反応は植物のバイオマスを増大させる[‡]

九州大学 大学院農学研究院

後藤 栄治*

光合成の場である葉緑体は、周囲の光環境に応じて細胞内でその位置を変える（葉緑体光定位運動）。葉緑体は、弱光下では光に集まり（集合反応）、強光下では光を避けるように細胞の縁へ移動する（逃避反応）。シロイヌナズナの変異体を用いた解析から、逃避反応が強光下における光障害の回避に必須であることはわかっていたが、集合反応の意義については不明であった。著者らは、シロイヌナズナの集合反応の程度が異なる変異株を用いることで、集合反応は、葉における光の吸収量を増大させることによって光合成を促進し、弱光で生育する植物において重要な役割を担うことを見出した。また、光合成が阻害されない光環境の下では、野生株では弱いながらも逃避反応が誘導されるため、野生株に比べて常に集合反応を示す植物の方が植物のバイオマスが増大することを発見した。本稿では、上記の実験結果を概説し、葉緑体光定位運動の改変による植物生産性の向上の可能性について述べる。

1. はじめに

FAO (国連食糧農業機関: <http://www.fao.org>) の報告によると、2050年には世界人口が現在の70億人から90億人に増えると予想されるが、人口を支えるための食料を生産するための農地や耕地の面積は微増である。したがって、このまま人口が増え続ければ深刻な食糧不足をまねく恐れがある。食料を確保するためには限られた土地で食料生産を増加させる必要があることから、植物のバイオマスを増大させる研究および技術開発は世界各国で盛んに行われている¹⁾。

植物は、光をエネルギー源として水と二酸化炭素(CO₂)から自らの成長に必要な栄養源を産み出す光合成反応をおこなう。したがって、光合成反応を促進し植物の成長に必要な栄養源を増産できれば、植物体のバイオマスの増大や穀物の収量増加といった植物の生産性向上に繋がると考えられる。実際に、光合成反応の炭酸固定反応や光防御機構を改変・改良することにより、植物の

バイオマスや種子の収量の増加が実現している²⁻⁴⁾。

上述の光合成反応自体を改変する研究に加えて、植物の光応答反応を改変し、光合成に必要な光やCO₂の利用効率を最適化することで植物の生産性向上を目指す研究が行われている。例えば、CO₂の取り込み口である気孔の光による開口制御が挙げられる。気孔開口は、植物特有の青色光受容体フォトトロピンにより孔辺細胞のプロトンポンプが活性化されることで誘導される。シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) やイネ (*Oryza sativa*) において、孔辺細胞のプロトンポンプの量や活性を増加させるなど、気孔の開口を人工的に制御することによりCO₂の取り込みを促し、光合成活性を促進することで、植物のバイオマス増大や種子の収量が向上した例がいくつも報告されている⁵⁻¹⁰⁾。これらの技術の一部は、実験室だけでなく圃場レベルでも実証されていることから、今後さらに有用な技術として発展することが期待される。気孔開閉の制御による光合成活性

[‡] 解説特集「収量増加につながる光合成研究」*連絡先 E-mail: eiji.gotoh@agr.kyushu-u.ac.jp

および植物の生産性制御については、迫田&矢守¹¹⁾で詳しく解説されているので、そちらを参考にさせていただきたい。

著者らは、気孔開口と同様にフォトトロピンにより制御される葉緑体光定位運動を改変することで、植物のバイオマスが増大することを見出した。そこで本稿では、葉緑体光定位運動が光合成活性ならびに植物のバイオマスへ与える影響について、解説する。

2. 葉緑体光定位運動

葉緑体光定位運動（以後“葉緑体運動”）とは、細胞内における葉緑体の局在が光強度依存的に変化する現象である。葉緑体は、弱光のもとでは光受容を最大にするために細胞の上面と底面（光に対して垂直の向きに）に集まる（集合反応、図1右側）一方で、強光のもとでは直射光を避けて細胞の側壁側（光に対して平行な向き）に移動する（逃避反応、図1左側）。葉緑体運動の研究の歴史は長く、19世紀後半には現象が報告されている^{12,13)}。また葉緑体運動は、緑藻類から種子植物に至る幅広い植物種において観察される¹²⁻¹⁴⁾。

一般的に、陸上植物の葉緑体運動は青色光によって誘導され、植物特有の青色光受容体フォトトロピンが光受容体として機能する^{13,15)}。シロイヌナズナは、2つのフォトトロピン(*phot1* と *phot2*)をもち、集合反応は *phot1* と *phot2* によって誘導

され、逃避反応は主に *phot2* によって誘導される¹⁴⁻¹⁷⁾。したがって *phot1 phot2* 二重変異株は集合反応と逃避反応両方を完全に欠損している^{15,16)}。

一部の接合藻類やコケ植物セン類、多くの現生シダ植物では、青色光に加えて赤色光によっても葉緑体運動が誘導される¹⁸⁻²⁰⁾。この赤色光反応は赤色光・遠赤色光可逆性を示すので、赤色光・遠赤色光受容体のフィトクロムの関与が示唆されていた。実際に、接合藻類ヒザオリヤシダ植物ホウライシダ(*Adiantum capillus-veneris*)における赤色光依存の葉緑体運動は、フォトトロピンのN末端側に、フィトクロムの光受容ドメインが結合したキメラ光受容体であるネオクロムによって誘導される²¹⁻²²⁾。また、遺伝子配列の相同性から、ネオクロムはコケ植物ツノゴケ類にも存在していることから、現生シダのネオクロムはツノゴケ類から平行進化したものであると考えられている²³⁾。コケ植物の一種であるヒメツリガネゴケ(*Physcomitrella patens*)の赤色光依存的な葉緑体運動は、ネオクロムではなく、普通のフィトクロムによって誘導される^{24,25)}。このフィトクロム依存的な赤色光による葉緑体運動は、青色光受容体であるフォトトロピンによっても制御される²⁶⁾。

葉緑体運動は、アクチン重合阻害剤によって抑制されることから、アクチン繊維依存的な応答である²⁷⁻²⁹⁾。シロイヌナズナのアクチン繊維可視化形質転換植物を用いた解析により、葉緑体運動は、細胞質中でみられるアクチン繊維束に依存しているのではなく、葉緑体周縁に存在する短いアクチン繊維に依存していることが発見された³⁰⁾。この短いアクチン繊維は、*cp*-アクチン繊維(chloroplast-actin filaments)と呼ばれ、葉緑体の静止状態では葉緑体の周縁部に分布するが、葉緑体が移動する場合は移動側前端に偏在する^{30,31)}。また、葉緑体周縁における *cp*-アクチン繊維の偏在の程度と葉緑体運動の速度には正の相関がある³⁰⁾。*cp*-アクチン繊維が偏在した部分の葉緑体外膜は移動方向側に引き延ばされていることから、*cp*-アクチン繊維は葉緑体が移動するための張力を生み出していると考えられる^{30,31)}。シロイヌナズナの *phot1phot2* 二重変異株では光照射による *cp*-アクチン繊維の再編成が生じないことか

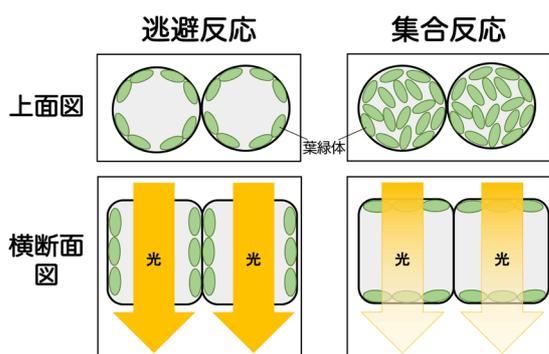


図1. 逃避反応と集合反応の模式図

逃避反応と集合反応誘導時の柵状組織細胞における葉緑体の細胞内局在。緑色の顆粒は葉緑体を示す。逃避反応が誘導されると、葉緑体は、光を避けるように側壁側に局在する（左側）。集合反応が誘導されると、葉緑体は細胞の上面側と底面側に局在する（右側）。

ら、フォトトロピンのシグナル伝達を介した cp-アクチン繊維の再編成および偏在が葉緑体の移動に必要である³⁰⁾。

葉緑体運動を欠く変異株として単離された *chup1* (*chloroplast unusual positioning 1*) 変異株は、細胞質のアクチン繊維束は正常である一方で cp-アクチン繊維を完全に欠いている^{31,32)}。*chup1* 変異株の葉緑体は、細胞膜に固定されていないため、細胞の底面(重力方向)に凝集する^{32,33)}。野生株の葉緑体は、葉緑体運動が誘導されない限り、その細胞内の位置はほとんど変化しない一方で、*chup1* 変異株の葉緑体は、原形質流動により細胞内を活発に動いている^{30,34)}。これらの結果は、葉緑体が細胞膜に固定するためには cp-アクチン繊維が必須であることを示している。

上述のように、葉緑体運動は、アクチン繊維依存的な応答であるが、動物や菌類などでみられるアクトミオシン依存的な応答ではない^{30,35)}。そのため、既知のミオシンやアクチン関連タンパク以外の因子が cp-アクチン繊維と相互作用し、葉緑体運動を誘導していると考えられるが、そのメカニズムはまだ分かっていない。

3. 葉緑体運動による光合成の最適化と植物のバイオマス増大

葉緑体運動の分子機構を解明するために、シロイヌナズナを用いた遺伝学的解析が行われ、葉緑体運動に異常を示す変異株が複数単離されている³⁶⁾。このシロイヌナズナの変異株を利用して、葉緑体運動による光合成の最適化が様々な光環境下での植物の成長や生存において重要な役割を果たすか検証された。

葉緑体運動が葉における光の吸収量に影響を及ぼすことが、モデル植物から作物にいたる様々な植物種で示されている^{37,40)}。弱光下で集合反応が誘導されると、葉緑体は細胞の上面と底面に集まるので、光の吸収量は増加する(図1)。その一方で、強光下で逃避反応が誘導されると、葉緑体は入射光に平行な細胞側壁に移動するので光の吸収量は減少する(図1)。シロイヌナズナの野生株でみられる光依存的な光吸収量の変化は、*phot1 phot2* 二重変異体ではみられない(図2)。したがって、野生株における光依存的な光吸収量の変化は葉緑体運動によると考えられる。

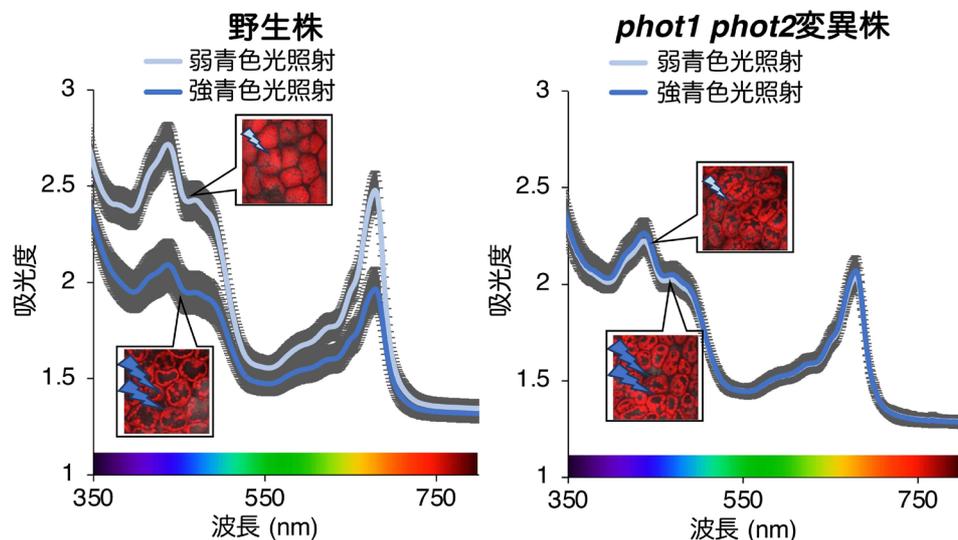


図2. 葉緑体運動による葉における光の吸収量変化

シロイヌナズナの野生株 (*Col-g11*) と *phot1 phot2* 二重変異株の葉における光吸収スペクトル。弱青色光 ($3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を3時間照射した葉の光吸収スペクトルを薄い水色、強青色光 ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を3時間照射した葉の光吸収スペクトルを濃い水色で示す。光照射時の柵状組織細胞の上面における葉緑体の細胞内局在を吹き出しで示す。野生株では、弱青色光の照射により集合反応が誘導されることで光の吸収量が増加する一方で、強青色光照射により逃避反応が誘導されると光の吸収量は低下する。それに対して、*phot1 phot2* 変異株では、青色光強度に依存した葉緑体の局在変化を示さない結果、光の吸収量はあまり変化しない。文献40より抜粋し、一部改変 (www.plantphysiol.org; Copyright American Society of Plant Biologists.)。

phot2 変異株は逃避反応を欠損しているが、*phot1* による集合反応が誘導されるため、強光下でも葉緑体は細胞上面と底面に局在する^{16-18,40}。弱光環境で生育した *phot2* 変異株に強光を照射すると、葉緑体に直接強光が照射される結果、重大な光阻害を生じて最終的には枯死に至る³³。一方で、野生株では強光下で逃避反応が誘導される結果、葉緑体が強光を直接受けにくい細胞の側壁に定位するため、光阻害が軽減される。シロイヌナズナにおいて、光合成反応の熱散逸機構 (NPQ: nonphotochemical quenching) の変異株 (*npq1* 変異株) に比べて、*phot1 phot2* 二重変異株や *chup1* 変異株の方が、実験室条件や野外環境において、光阻害を受けやすく、植物の生長量が減少する⁴¹。これらの結果は、逃避反応は強光下で生育する植

物にとって光阻害を回避するために重要であることを示している。

野生株は弱光環境では集合反応を誘導することで、葉緑体が細胞の上面および底面に局在し、光の受容効率を高めることができる。しかし、集合反応を欠損した *jac1* (*J-domain protein required for chloroplast accumulation response 1*) 変異株⁴² は、弱光環境においても逃避反応を誘導したように葉緑体が細胞の側壁に定位しているため、光合成に有効な光の吸収量が低下する結果、光合成活性が減少し、植物のバイオマスは減少する⁴⁰。つまり、移動能力を欠き固着生活を営む植物にとって、葉緑体運動は変動する光環境下で光の吸収量を調節し最適な光合成を行うために必須である。葉緑体運動における集合反応から逃避反応への切り替えは、青色光の光強度依存的に制御され

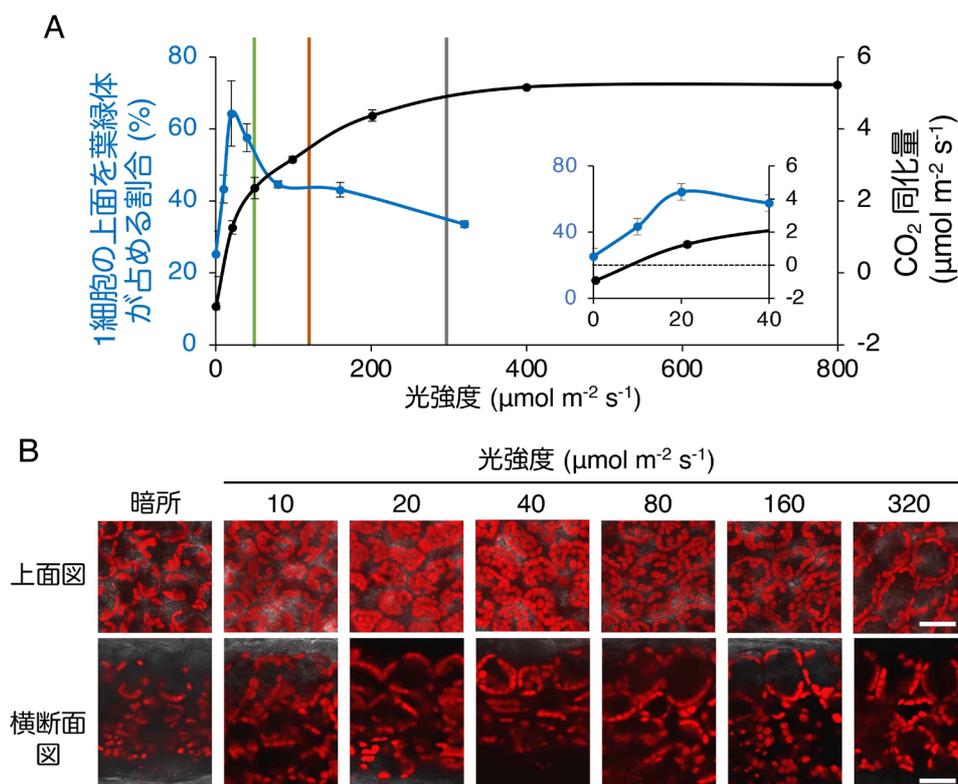


図3. シロイヌナズナにおける強度依存的な葉緑体の細胞内局在

A: シロイヌナズナの葉における光-光合成曲線と細胞上面における葉緑体の局在。シロイヌナズナの野生株における光-光合成曲線 (n=3) を黒線で示す。光-光合成曲線の測定に用いた白色光を3時間照射したときの柵状組織細胞の細胞上面を葉緑体が占める割合を青色で示す。挿入図は、光補償点付近を抜き出した図。集合反応は、光補償点付近で最大となる。図中の緑色、橙色、灰色の縦線は、50、120、300 μmol m⁻² s⁻¹の光強度を示す。
 B: 異なる光強度照射時の柵状組織細胞における葉緑体の細胞内局在。Aと同じ光源を用いて、異なる光強度を3時間照射したときの柵状組織細胞の上面図を上図、柵状組織細胞の横断面図を下図に示す。暗所のサンプルは、14時間暗処理した。Scale bar = 20 μm. 文献40より抜粋し、一部改変 (www.plantphysiol.org; Copyright American Society of Plant Biologists.)。

ており、その光強度は植物種によって異なる⁴³⁾。シロイヌナズナにおいては、集合反応は光補償点付近の非常に弱い光の下で最大となり、光補償点を超える強さの光では弱いながら逃避反応が誘導され始める⁴⁰⁾ (図3)。したがって、光合成反応速度が光強度によって制限される光環境では、葉緑体は集合反応と逃避反応の間のような配置、すなわち葉緑体は細胞の上面と底面にまばらに存在する。光合成が阻害されない比較的弱い光環境下でも逃避反応が誘導される理由の一つとしては、シロイヌナズナは木漏れ日を受けるような場所に生育しているため、林床での木漏れ日のように不意に起こる突然の強光照射による光阻害を軽減することが考えられる⁴⁰⁾。実際に、シロ

イヌナズナにおいて逃避反応の程度に依存して、弱光と強光を繰り返し照射 (変動光) による光阻害は軽減される⁴⁰⁾。

著者らは、野生株に加えて、*phot2* 変異株 (常に集合反応と同じ葉緑体の局在を示す) と、*jac1* 変異株 (常に逃避反応と同じ葉緑体の局在を示す)、*phot2 jac1* 二重変異株 (集合反応と逃避反応の中間の葉緑体局在を示す) を用いて、様々な光強度で生長解析を行った。その結果、光阻害が生じない光環境では、集合反応の程度に応じて植物のバイオマスが増大することを見出した⁴⁰⁾ (図4A、4C)。解析に用いた全ての栽培条件において、野生株では逃避反応が誘導される結果、逃避反応を示さない *phot2* 変異株の方が植物のバイオ

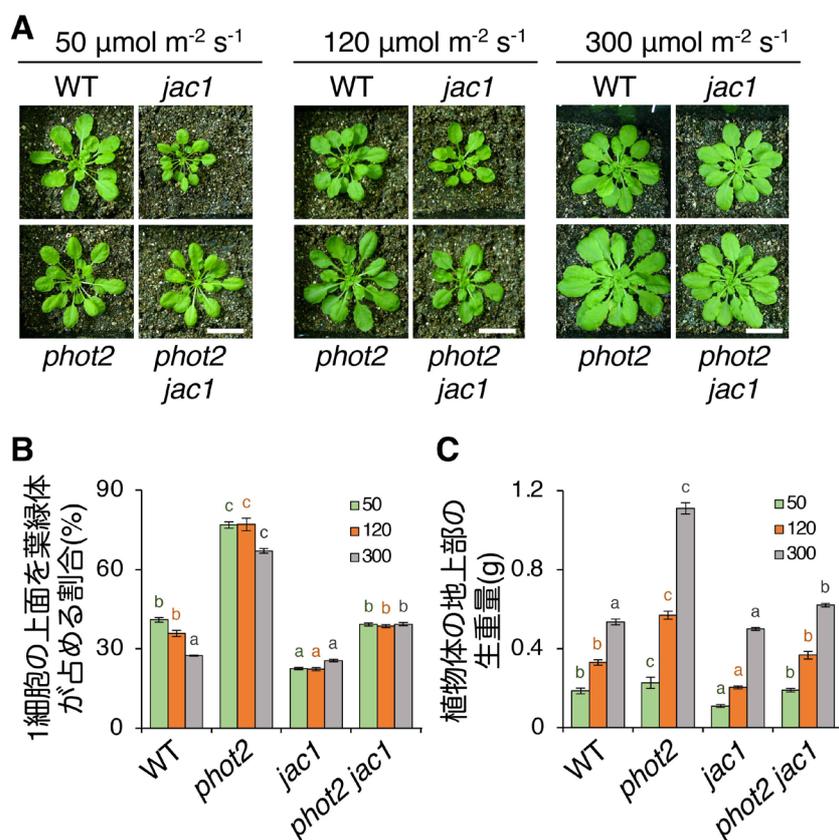


図4. 集合反応による植物のバイオマス増大

A: 異なる光強度の下で35日間生育させた植物の写真。図3Aの緑色、橙色、灰色の縦線に相当する50、120、300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の連続白色光の下で生育させた植物。Scale bar = 2 cm。B: 野生株 (WT) と変異株 (*phot2*, *jac1*, *phot2 jac1*) の柵状組織細胞の上面を葉緑体が占める割合。異なる光強度 (50、120、300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で35日間生育させた植物の柵状組織細胞の上面を葉緑体が覆う割合の平均値と標準誤差 (n = 30 cells)。C: 35日間生育させた野生株 (WT) と変異株の地上部の生重量。異なる光強度 (50、120、300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で35日間生育させた植物の地上部の生重量の平均値と標準誤差 (n = 24; biological triplicates)。異なるアルファベットは、統計的に有意差があることを示す ($P < 0.05$, Tukey-Kramer multiple comparison test)。文献40より抜粋し、一部改変 (www.plantphysiol.org; Copyright American Society of Plant Biologists.)。

マスは大きくなった。また、*jac1* 変異株の地上部のバイオマスは、弱光や弱光と強光の中程度の光環境 ($50, 120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の下では野生株より低下する一方で、野生株において完全に逃避反応が誘導される強光 ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の光強度では野生株と同程度であった (図 3、4A、4C)。 *phot2 jac1* 二重変異株は、集合反応と逃避反応の間のような葉緑体の局在、すなわち葉緑体は細胞の上面と底面にまばらに存在する局在パターンを示し、その地上部のバイオマスは、*phot2* 変異株と *jac1* 変異株の間の値を示した (図 4)。すなわち、集合反応の程度と植物のバイオマスには強い相関がある。弱光と強光の中程度の光強度 ($120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) で育てた植物体の葉における光の吸収量は、葉緑体の集合反応の程度に依存して増加 (*phot2* > 野生株 \approx *phot2 jac1* > *jac1*) する⁴⁰⁾。一方で、変異株や野生株間の葉緑体の細胞内局在の差を無視できる葉肉細胞プロトプラストで酸素発生量を測定したところ、野生株や変異株の間に酸素発生量にほとんど差はなかった⁴⁰⁾。以上の結果は、光合成が阻害されない光環境では、葉緑体の集合反応の程度に依存して、葉における光の吸収量が増加する結果、光合成活性が上昇し、植物のバイオマスが増大することを示す。

最近、光活性化状態が長時間持続する改変型フォトトロピンを発現した形質転換植物体では、青色光に対する光感受性が高まる結果、通常のフォトトロピンを導入した形質転換植物よりも集合反応が促進されることが報告された⁴⁴⁾。また、この改変型のフォトトロピンを導入した形質転換植物体のバイオマスは、通常のフォトトロピンを導入した形質転換植物に比べて、約 2 倍増えることも報告された⁴⁴⁾。以上の結果は、集合反応を人工的に制御することで、植物のバイオマスを増大できることを示している。

4. 将来展望

集合反応が常に誘導される植物体は、太陽光が直接照射されると重大な光阻害を生じるが、光合成が阻害されないような光環境では光を効率的に吸収できるため、植物のバイオマスが増大する^{33,40)}。フォトトロピンによって葉緑体運動が誘導

されるシロイヌナズナにおいて、光合成が飽和するのに十分な強さの赤色光 ($300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) に、集合反応を誘導する弱青色光 ($3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) もしくは逃避反応を誘導する強青色光 ($50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を加えた光の下で植物を生育させると、弱青色をくわえた方がトータルの光の量は少ないにもかかわらず植物のバイオマスは増大する (著者ら未発表)。また、葉物野菜であるレタスにおいて、赤色光に強い青色光を加えた場合よりも、集合反応を誘導する弱い青色光を加えた光環境で生育させることで、レタスの葉重量は増加することが報告されている⁴⁵⁾。したがって、植物工場などの光環境を人工的に制御できる生産現場では、集合反応を常に誘導するような光環境 (例えば、光合成を飽和するのに十分な赤色光に集合反応を誘導する弱い青色光を加える) を作り出すことで、植物のバイオマスを増大でき、種子の収穫量を含めた植物の生産性を向上できると考えられる。

集合反応を常に誘導する植物を作出するためには、*phot2* 変異株を利用することが有効ではあるが、*phot2* は葉緑体運動以外にも、光屈性や、気孔開口、葉の平滑化、葉の定位運動等の誘導にも関与している¹⁵⁾ため、植物種によっては *phot2* の欠損により植物のバイオマスに負の影響を及ぼすことも考えられる。シロイヌナズナを用いた順遺伝学的解析により葉緑体運動に関与する因子がいくつも単離されているが、*phot2* 変異株のような集合反応を常に示す変異株は単離されていない。葉緑体運動の改変による植物バイオマスの増大技術を確立するためには、*phot2* 変異株のように逃避反応を抑制することで集合反応を促進することが必要になる。そのためには、*phot2* の機能改変や葉緑体運動の分子機構の全貌解明が必要である。今後葉緑体運動に関する研究が進み、葉緑体運動を人工的に制御する技術が実際の植物生産の現場で用いられることを期待する。

謝辞

本稿を作成するにあたり、東京大学の末次憲之博士には貴重なご助言を賜りました。この場を借りて厚くお礼申し上げます。

Received Jul 16, 2021; Accepted Jul 20, 2021; Published Aug 31, 2021.

参考文献

1. Long, S. P., Zhu, X. G., Naidu, S. L. & Ort, D. R. Can improvement in photosynthesis increase crop yield? *Plant Cell Environ.* **29**, 315-330 (2006).
2. Kromdijk, J. *et al.* Improving photosynthesis and crop productivity by accelerating recovery from photoprotection. *Science* **354**, 857-861 (2016).
3. 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**, eaat9077 (2019).
4. 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).
5. Hashimoto-Sugimoto, M. *et al.* A Munc13-like protein in *Arabidopsis* mediates H⁺-ATPase translocation that is essential for stomatal responses. **4**, 2215 (2013).
6. 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. U. S. A.* **111**, 533-538 (2014).
7. 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).
8. 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).
9. Zhang, M. *et al.* Plasma membrane H⁺-ATPase overexpression increases rice yield via simultaneous enhancement of nutrient uptake and photosynthesis. *Nat. Commun.* **12**, 735 (2021).
10. Papanatsiou, M. *et al.* Optogenetics manipulation of stomatal kinetics improves carbon assimilation, water use, and growth. *Science* **363**, 1456-1459 (2019).
11. 迫田 和馬 & 矢守 航. 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. *光合成研究* **31**, 14-28 (2021).
12. Senn, G. Die Gestalts- und Lageveränderung der Pflanzen-Chromatophoren. Engelmann, Stuttgart. (1908).
13. Wada, M., Kagawa, T. & Sato, Y. Chloroplast movement. *Annu. Rev. Plant Biol.* **54**, 455-468 (2003).
14. Kagawa, T. *et al.* Arabidopsis NPL1: a phototropin homolog controlling the chloroplast high-light avoidance response. *Science* **291**, 2138-2141 (2001).
15. Christie, J. M. Phototropin blue-light receptors. *Annu. Rev. Plant Biol.* **58**, 21-45 (2007).
16. Sakai, T. *et al.* Arabidopsis nph1 and npl1: blue light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 6969-6974 (2001).
17. Jarillo, J. A. *et al.* Phototropin-related NPL1 controls chloroplast relocation induced by blue light. *Nature* **410**, 952-954 (2001).
18. Suetsugu, N. & Wada, M. Phytochrome-dependent photomovement responses mediated by phototropin family proteins in cryptogam plants. *Photochem. Photobiol.* **83**, 87-93 (2007).
19. Suetsugu, N. & Wada, M. Chloroplast photorelocation movement mediated by phototropin family proteins in green plants. *Biol. Chem.* **388**, 927-935 (2007).
20. Suetsugu, N. & Wada, M. Photoreceptor gene families in lower plants. In *Handbook of Photosensory Receptors*. (eds Briggs, W. R. & Spudich, J. L.) 349-369 (Weinheim, 2005).
21. Kawai, H. *et al.* Response of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. *Nature* **421**, 287-290 (2003).
22. Suetsugu, N., Mittmann, F., Wagner, G., Hughes, J. & Wada, M. A chimeric photoreceptor gene, *NEOCHROME*, has arisen twice during plant evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 13705-13709 (2005).
23. Li, F. W. *et al.* Horizontal transfer of an adaptive chimeric photoreceptor from bryophytes to ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111**, 6672-6677 (2014).
24. Mittmann, F. *et al.* Targeted knockout in *Physcomitrella* reveals direct actions of phytochrome in the cytoplasm. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 13939-13944 (2005).
25. Uenaka, H. & Kadota, A. Functional analysis of the *Physcomitrella patens* phytochromes in regulating chloroplast avoidance movement. *Plant J.* **51**, 1050-1061 (2007).
26. Kasahara, M., Kagawa, T., Sato, Y., Kiyosue, T. & Wada, M. Phototropins mediate blue and red light-

- induced chloroplast movements in *Physcomitrella patens*. *Plant Physiol.* **135**, 1388-1397 (2004).
27. Oikawa, K. *et al.* Chloroplast outer envelope protein CHUP1 is essential for chloroplast anchorage to the plasma membrane and chloroplast movement. *Plant Physiol.* **148**, 829–842 (2008).
 28. Iwabuchi, K., Minamino, R. & Takagi, S. Actin reorganization underlies phototropin-dependent positioning of nuclei in *Arabidopsis* leaf cells. *Plant Physiol.* **152**, 1309–1319 (2010).
 29. Suetsugu, N., Higa, T., Gotoh, E. & Wada, M. Light-induced movements of chloroplasts and nuclei are regulated in both cp-actin- filament-dependent and -independent manners in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS ONE* **11**, e0157429 (2016).
 30. Kadota, A. *et al.* Short actin-based mechanism for light-directed chloroplast movement in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 13106-13111 (2010).
 31. Kong, S. G., Arai, Y., Suetsugu, N., Yanagida, T. & Wada, M. Rapid severing and motility of chloroplast-actin filaments are required for the chloroplast avoidance response in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **25**, 572-590 (2011).
 32. Oikawa, K. *et al.* CHLOROPLAST UNUSUAL POSITIONING1 is essential for proper chloroplast positioning. *Plant Cell* **15**, 2805-2815 (2003).
 33. Kasahara, M. *et al.* Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. *Nature* **420**, 829-832 (2002).
 34. Suetsugu, N. *et al.* Two kinesin-like proteins mediate actin-based chloroplast movement in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 8860–8865 (2010).
 35. Suetsugu, N., Doja, V. V. & Wada, M. Why have chloroplast developed a unique motility system? *Plant Signal. Behav.* **5**, 1190-1196 (2010).
 36. Suetsugu, N. & Wada, M. Two Coiled-Coil Proteins, WEB1 and PMI2, suppress the signaling pathway of chloroplast accumulation response that is mediated by two phototropin-interacting proteins, RPT2 and NCH1, in seed plants. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 1469 (2017).
 37. Inoue, Y. & Shibata, K. Light-induced chloroplast rearrangements and their action spectra as measured by absorption spectrophotometry. *Planta* **114**, 341-358 (1973).
 38. Davis, P.A., Caylor, S., Whippo, C.W. & Hangarter, R.P. Change in leaf optical properties associated with light-dependent chloroplast movements. *Plant Cell Environ.* **34**, 2047-2059 (2011).
 39. Davis, P.A. & Hangarter, R.P. Chloroplast movement provides photoprotection to plants by redistributing PSII damage within leaves. *Photosynth. Res.* **112**, 153-161 (2012).
 40. Gotoh, E. *et al.* Chloroplast accumulation response enhances leaf photosynthesis and plant biomass production. *Plant Physiol.* **178**, 1358-1369 (2018).
 41. Howard, M. M., Bae, A., Pirani, Z., Van, N. & Königer, M. Impairment of chloroplast movement reduces growth and delays reproduction of *Arabidopsis thaliana* in natural and controlled conditions. *Am. J. Bot.* **107**, 1309-1318 (2020).
 42. Suetsugu, N., Kagawa, T. & Wada, M. An auxilin-like J-domain protein, JAC1, regulates phototropin-mediated chloroplast movement in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **139**, 151-162 (2005).
 43. Königer, M. & Bollinger, N. Chloroplast movement behavior varies widely among species and does not correlate with high light stress tolerance. *Planta* **236**, 411-426 (2012).
 44. Hart, J. E. *et al.* Engineering the phototropin photocycle improves photoreceptor performance and plant biomass production. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **116**, 12550-12557 (2019).
 45. Hikawa, M., Nishizawa, K. & Kodama, Y. Prediction of prospective leaf morphology in lettuce based on intracellular chloroplast position. *Sci. Hortic.* **251**, 20-24 (2019).

Chloroplast accumulation response enhances plant biomass production.

Eiji Gotoh

Faculty of Agriculture, Kyushu University

解説

原形質流動の人工的高速化によるバイオマス増産技術[‡]

早稲田大学 教育・総合科学学術院 生物学専修
富永 基樹

藻類から高等植物に至る様々な植物の細胞内では、原形質流動とよばれる活発な細胞内輸送がみられる。原形質流動は、細胞小器官に結合したモータータンパク質ミオシン XI が、アクチン繊維上を滑り運動することによって発生している。しかしながら植物における本質的な役割に関しては、約 250 年前の発見以来の大きな謎であった。筆者らは、シロイヌナズナミオシン XI のモーター領域を、生物界最速のシャジクモミオシン XI のモーター領域と置換することで、人工的な高速型キメラミオシン XI を開発した。興味深いことに、高速型キメラミオシン XI を発現させたシロイヌナズナでは、原形質流動の高速化に伴い、植物が大型化することが明らかとなった。すなわち原形質流動が、植物サイズの決定因子の一つであることが示された。原形質流動は植物細胞内の基本的な輸送システムであることから、原形質流動の高速化は様々な植物に適用可能な、汎用性の高い植物増産技術としても期待できる。

1. はじめに

動物は、運動することによって自身の生存に適した環境へと随意に移動することができる。一方、植物は基本的に一度根を下ろした場所から生涯動くことが出来ない。根ざした環境下で生存しなくてはならない植物にとって、周辺環境を検知し、それに見合った大きさや形に成長する仕組みは不可欠である。そのため植物は、動物にはない様々な環境応答機構を発達させてきた。一見動かない植物であるが、細胞の中を顕微鏡で観察すると、“原形質流動”と呼ばれる動物に比べて非常に活発な細胞内輸送が行われている。原形質流動は、藻類から高等植物までの細胞でみられる現象であることから、植物にとって基本的な輸送システムだと考えられる。原形質流動は今から約 250 年前、1774 年にイタリアの顕微鏡学者 Bonaventura Corti により、シャジクモの節間細胞において初めて見出された¹⁾。20 世紀に入って、神谷宣郎博士らによって、原形質流動は原形質のゾル=ゲル界面での能動的な滑りによって発生すると考

える“滑り説”が提唱された²⁾。その後、原形質流動は細胞小器官に結合した植物特異的なミオシン (クラス XI) が、細胞内に張り巡らされたアクチン繊維上を ATP の加水分解エネルギーを使って、方向性を持って滑り運動することにより発生することが明らかとなった^{3,4)}。

成長した植物細胞では液胞が細胞体積の 90% 以上を占め、その中には様々なタンパク質分解酵素が含まれる。そのため、ミオシン XI のように、発現量が少なく、分子サイズの大きな機能性タンパク質 (~170kDa) を、活性を保ったまま生化学的に単離精製することが非常に難しく、筋肉のミオシン II などと比べ、長らく分子レベルでの研究は進んでいなかった。1994 年に、オウシャジクモ (*Chara corallina*) やユリ (*Lilium longiflorum*) の花粉管から、運動活性が保たれたミオシンを生化学的に精製することに成功した。また同年、モデル植物シロイヌナズナにおいて、原形質流動に関わるミオシン遺伝子が同定され、植物特異的なクラス XI に分類された。遺伝子配列から、ミオ

[‡] 解説特集「収量増加につながる光合成研究」

*連絡先 E-mail: motominaga@waseda.jp

シン XI は動物で細胞内輸送を担っているミオシン V と似た分子形態をもつことが予想された^{3,4,5,6}。2003 年に、筆者らは、タバコ培養細胞から生化学的に単離精製したミオシン XI を用いて、1 分子レベルでの形態や運動メカニズムを明らかにすることに成功した。ロータリーシャドウイングによる電子顕微鏡観察から、タバコミオシン XI は 2 量体で 2 つのモーター領域を持ち、さらに 6 つの IQ モチーフに軽鎖が結合した長いネック領域を持つことが明らかとなった (図 1)。分子形態的には、動物で細胞内輸送を担っているミオシン V と類似していることが示された。さらに、ミオシン XI を結合させたビーズを光ピンセットで補足し、アクチン上を運動させることにより、ミオシン 1 分子の運動をナノメートルレベルで検出することに成功した。タバコミオシン XI は、2 つのモーター領域をアクチン繊維上で交互に結合・解離させることによって、35 nm の歩幅であたかも人が歩くように長距離移動できる高速型 (~7 $\mu\text{m}/\text{sec}$) のプロセッシングモーターであることが明らかとなった。この高速運動は、モーター領域 (エンジン) における高い ATP 分解活性によって発生し、形態的に同タイプの動物ミオシン V よりも 10 倍速い速度を発生できることが分かった^{6,7,8}。ただ、分子レベルでの運動メカニズムは明らかになってきたのだが、原形質流動の役割とは何か? 本質的な機能に関しては、大きな謎として残っていた。

例えば、陸上植物の先祖とされる藻類シャジクモの原形質流動は 50~100 $\mu\text{m}/\text{sec}$ に達し、高等植物の原形質流動速度 (5~20 $\mu\text{m}/\text{sec}$) のさらに 10 倍以上速い。オウシャジクモのミオシン XI のモーター領域を昆虫細胞で発現・精製し、*in vitro* motility assay (ガラス表面にミオシンを結合させ、ATP 存在下で蛍光ラベルしたアクチン繊維を滑り運動させる) により運動速度を測定したところ、生物界最速のモータータンパク質であることが明らかとなった⁹。この高速運動は、モーター領域における非常に高い ATP 分解活性と、アクチン-ミオシン複合体からの速い ADP 解離に依存している^{10,11}。シャジクモの節間細胞は非常に大きく成長して 10 cm 以上に達することから、細胞内における、栄養や代謝産物、細胞壁前駆体、二酸化炭素あるいは植物ホルモンなどの拡散に速い原形質流動が不可欠だと予想されている¹²。加えて、モデル植物シロイヌナズナにおいて、原形質流動の駆動力となっているミオシン XI を多重ノックアウトすると、原形質流動速度の低下に伴い、植物の成長が抑制される^{5,6}。以上のことから、原形質流動が植物の成長に密接に関係していることが推測される。近年、ミオシン XI の細胞内機能を解析するために、シロイヌナズナやタバコにおいて、ノックアウトや RNAi あるいはドミナントネガティブの過剰発現といった手法が用いられている。しかしながら既存の方法論のみでは、原形質流動と植物成長との関係性を直接的に証明することはできなかった。原形質流動の役割

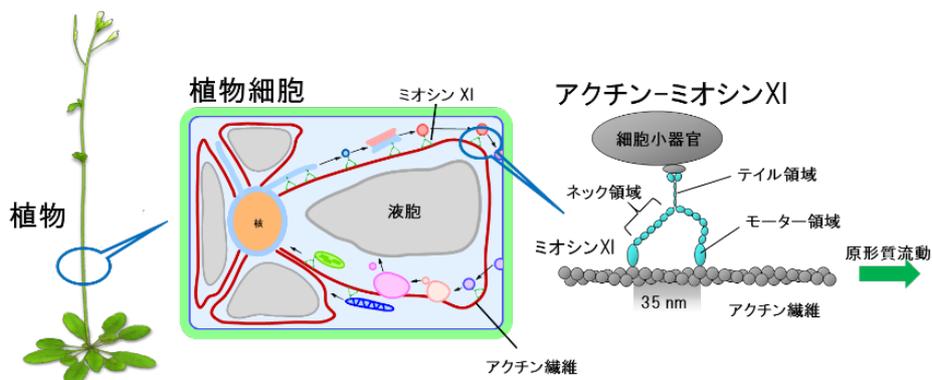


図1 原形質流動の発生メカニズム

原形質流動は、アクチン繊維上を、細胞小器官に結合したモータータンパク質ミオシン XI が運動することによって発生している。

をより直接的に証明できる新しい解析方法はないかと筆者らは考えた。

2. ミオシン XI の人工的高速化

筆者らは、ミオシンの速度を規定しているモーター領域に、人工的高速化を施し、植物で発現させ、植物高次レベルでの影響をみることでミオシン速度（原形質流動速度）の意義を明らかにしようと考えた。シロイヌナズナのみオシン XI には 13 種類のアリソフォーム (XI-1, 2, A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K) が存在する。藻類やコケにはミオシン XI が数種類しか存在しないことから、植物機能の高度化に伴いミオシン分子種も多様化したものと思われる^{13,14,15}。この中で、原形質流動の主要な駆動力の一つと考えられているミオシン XI-2（運動速度約 7 $\mu\text{m}/\text{sec}$ ）のモーター領域を、オウシャジクモ由来の生物界最速シャジクモミオシン XI のモーター領域と分子生物学的に置換することによって、人工的な高速型キメラミオシン XI を開発した（図 2）。ミオシンの「ボディー」であるテイル領域とネック領域はシロイヌナズナ由来で、「エンジン」であるモーター領域のみを置換することで、ネック領域における軽鎖結合能やテイル領域におけるオルガネラ結合能を保持したまま、アクチン繊維上での運動速度のみを変化させることが期待できる。

開発したキメラミオシンで高速化が得られているか否かを、*in vitro*, *in vivo* で検証を行った。

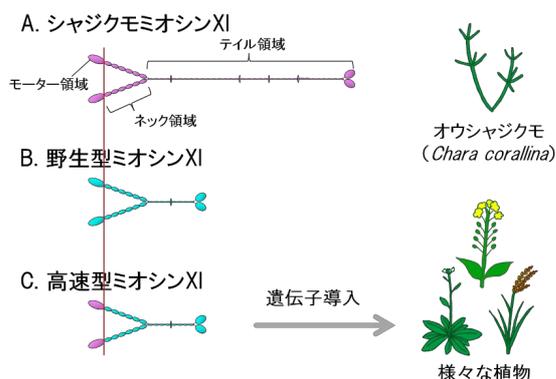


図2 高速型キメラミオシン XI

A. シャジクモミオシン XI。 B. 野生型ミオシン XI。 C. 高速型ミオシン XI (シャジクモ-シロイヌナズナキメラミオシン XI)。

まず、高速型ミオシン XI-2 を昆虫細胞で発現・精製し、*in vitro motility assay* により運動速度を評価した。その結果、野生型ミオシン XI-2 ($7.2 \pm 0.5 \mu\text{m}/\text{sec}$) に対して、高速型ミオシン XI-2 は約 2 倍の高速化 ($16.0 \pm 0.9 \mu\text{m}/\text{sec}$) が明らかとなった。次に、N 末端に蛍光タンパク質 GFP を融合した野生型あるいは高速型ミオシン XI-2 を、シロイヌナズナ培養細胞で一過的に発現させ、*in vivo* における速度性能を評価した。野生型、高速型ミオシン XI-2 共に、同様の膜状のオルガネラに局在していたことから、テイル領域における特異的なオルガネラ結合能は保持されていることが示された。一方、これらのオルガネラの運動速度は、野生型に対し、増加していることが明らかとなった¹⁶。

3. 植物への影響

In vitro, *In vivo* 共に高速化が確認された速度改変型ミオシン XI-2 を、シロイヌナズナで発現させることによって植物の高次構造（成長や形態形成）に及ぼす影響を解析した。高速型ミオシン XI-2 を、内在性の野生型ミオシン XI-2 をノックアウトしたシロイヌナズナ植物体（ミオシン XI-2 シングルノックアウト株の成長や形態は野生株と変わらない）で *native-promoter* により発現させた。その結果、高速型ミオシン XI-2 を発現させた株では、成長促進と共に花茎の高さや葉面積など植物サイズが大型化することが明らかとなった（図 3）。高速型ミオシン XI-2 の発現により大型化した植物の地上部乾燥重量は、野生株に対し約 40% 増加していた。植物サイズ大型化の要因が“細胞数の変化”あるいは“細胞サイズの変化”によるのかを明らかにするため、葉肉細胞（第 1 本葉）のサイズ解析を行った。その結果、高速型発現株では、細胞面積が野生株に対して約 50% 増大しており、葉当たりの細胞数は変わらなかったことから、大型化の要因は、主に細胞サイズの増加であることが示された。また、顕著なサイズ変化がみられた葉柄表皮細胞の原形質流動を観察することで、流動速度への影響を評価した。野生株では、方向性を持った活発な原形質流動 ($4.3 \pm 1.0 \mu\text{m}/\text{sec}$) が観察された。一方、ミオシン XI-2 の



図3 高速型キメラミオシン発現株
(左) 野生株。(右) 高速型発現株

ノックアウト株では流動が阻害され、野生株の1/4 ($1.0 \pm 0.3 \mu\text{m}/\text{sec}$) であった。葉柄表皮細胞における原形質流動には、他の内在性ミオシン XI も関与するがミオシン XI-2 の寄与が大きいと考えられる。この XI-2 ノックアウト株に、野生型ミオシン XI-2 を発現させた植物では、原形質流動が野生株レベルまで回復した ($4.5 \pm 1.0 \mu\text{m}/\text{sec}$)。高速型ミオシン XI-2 を発現する植物では、野生株や野生型ミオシン XI を入れた植物に比べて、原形質流動速度が約 1.5~2 倍速くなっていた ($7.5 \pm 1.2 \mu\text{m}/\text{sec}$)。以上の結果より、原形質流動速度 (ミオシン速度) と植物サイズ (細胞サイズ) に比例的な相関が示されたことから、原形質流動が植物サイズを規定する重要な因子である

ことが明らかとなった^{6,16)} (特許取得済: Patent No.US 10,087,457B2)。

4. ミオシン XI の使い分け (XI-2, XI-B, XI-K)

シロイヌナズナにおけるミオシン XI ノックアウトの解析から、原形質流動の駆動力としてミオシン XI-2 以外にも、XI-1 や XI-B あるいは XI-K といったミオシン XI メンバーが働いていることが分かっている。これらのミオシン XI を多重ノックアウトすると、原形質流動速度や植物サイズが加算的に抑制される^{5,6,8)}。しかしながら多重ノックアウトからは、それぞれのミオシン XI に機能分担があるのか否かが判断できない。そこで、XI-2 以外のミオシン XI にも高速化を施し、植物の成長に対する影響を解析した。

その結果、高速型ミオシン XI-2 発現株が成長初期から大型化するのに対し、高速型ミオシン XI-K 発現株では30日以降の成長後期に大型化が顕著になることが明らかとなった。高速型ミオシン XI-K による大型化は、主に本葉の肥大化として現れ、第5本葉の葉面積は野生型と比べ約40%増加していたが、leaf index (葉身の長さ/葉身の横幅) は低下していた (図4、論文投稿準備中)。

一方、高速型ミオシン XI-B の発現は、抽臺が早期化する早期花成の表現型を示すことが明らかとなった (未発表)。このように、原形質流動の駆動力である、XI-2、XI-K、XI-B の高速化は、植物成長においてそれぞれ異なった形質を示す

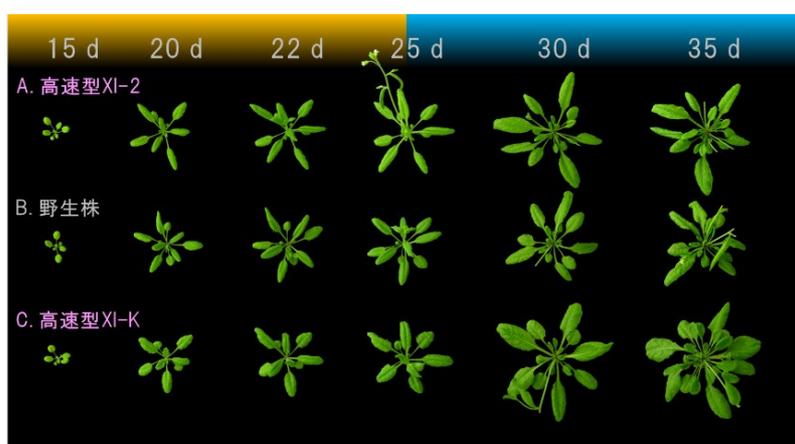


図4. 高速型ミオシンXI発現株の成長
A. 高速型ミオシンXI-2発現株。B. 野生株。C. 高速型ミオシンXI-K発現株。

ことが明らかとなってきた。詳細なメカニズムは現在のところ不明であるが、それぞれの形質の違いは、それぞれのミオシン XI の発現パターンの違いと大まかな一致が認められた。そうしたことから、複数のミオシン XI の発現を時間・空間的に使い分けることで、植物の成長が制御されている可能性が示唆される。最近、ミオシン XI が、分裂装置やオーキシン輸送体 PIN の極性局在に関わることが報告されており、原形質流動だけではない複雑なメカニズムが関わっているかもしれない。また基礎的側面のみならず、例えば、高速化するミオシン XI の組み合わせを工夫することで、人工的に植物の成長を制御できる可能性も考えられる。

5. 新・高速型ミオシン XI の開発

我々は、さらに速い運動速度を発生する新・高速型ミオシン XI の開発も同時に行ってきた。というのも、上記で作製した高速型ミオシン XI (現・高速型) の運動速度 (16 $\mu\text{m}/\text{sec}$) は、野生型シロイヌナズナミオシン XI (7 $\mu\text{m}/\text{sec}$) の2倍であるが、シャジクモの原形質流動速度 (70 $\mu\text{m}/\text{sec}$) からするとかなり遅い。この原因として、「現・高速型で使用しているシャジクモミオシン XI のモーター領域の速度がそもそも遅い」、あるいは、「キメラにした際のつなぎ目に遊びがあるため、運動変換にロスが発生している」、などといった理由が考えられた。もし本来シャジクモミオシンが持つ速度を達成できれば、現・高速型よりも数倍の高速化が期待できる。そこで筆者らは、ゲノム解析が進んでいたシャジクモ (*Chara braunii*) の解析を行った。その結果、*Chara braunii* のゲノム上には4種類のミオシン XI 遺伝子が存在することが分かった。4種類のモーター領域の遺伝子をクローニングした後、昆虫細胞で発現・精製し、*in vitro* motility assay で運動速度を測定した。その結果、2種類はこれまで使用していたオウシャジクモのミオシン XI と同程度の運動速度であったのに対し、残りの2種類はさらに3倍の速度を発生することが分かった。この運動速度は、ネック領域の長さを加味した場合、シャジクモの原形質流動速度 (70 $\mu\text{m}/\text{sec}$) とほぼ一致する値だ

と見積もられた(論文投稿中)。おそらくオウシャジクモにもミオシン XI が複数種類存在するのだが、これまで現・高速型に利用してきたモーター領域は遅い方のシャジクモミオシン XI 由来だったのでだろうと考えられた。筆者らは、真に生物界最速のモーターを手に入れることができた。このモーター領域とシロイヌナズナミオシン XI を融合した新・高速型を作製し、*in vitro* motility assay を行ったところ、野生型 (7 $\mu\text{m}/\text{sec}$) の7倍、現・高速型 (16 $\mu\text{m}/\text{sec}$) の3倍の速度 (50 $\mu\text{m}/\text{sec}$) を発生することが明らかとなった。

6. 資源植物の大型化

シロイヌナズナ以外の植物においても、ミオシン XI の高速化により成長促進や大型化の効果がみられるのかどうかを検証した。まず、イネ科モデル植物であるブラキポディウム (*Brachypodium distachyon*) で、ミオシン XI の高速化を試みた。ブラキポディウムには9種類のミオシン XI が存在するが、その中でユビキタスかつ発現量が多いブラキポディウムミオシン XI-B を原形質流動の駆動力と推測し、新・高速型ミオシン XI-B を作製した。植物体で新・高速型ミオシン XI-B を発現させた結果、野生型に比べ、植物体全体のサイズ(葉や茎の数)と穂数(種子数)が増加することが明らかとなった(図5A)(論文投稿準備中)(国内特許出願済、特願2018-007923)(PCT出願済、PCT/JP2019/001491)。

次に、バイオディーゼル生産植物として注目されるカメリナ (*Camelina sativa*) で、高速型ミオシン XI の発現を試みた。カメリナは、シロイヌナズナと同じアブラナ科であることから、現・高速型シロイヌナズナミオシン XI-2 遺伝子と native-promoter を、そのままカメリナ野生株に導入した。その結果、背丈のみならず種子生産量も約25%増加することが明らかとなった(図5B)。少なくとも近縁種では、共通のプロモーターとミオシンを入れれば効果が出ることを示された¹⁷⁾

7. おわりに

生物界一速いミオシンを持つシャジクモ類は、分子系統学的解析から陸上植物の祖先だとい

ことが示唆されている。淡水産藻類であるシャジクモは、重力の影響の少ない水中で細胞を大きくすることによって高く成長した。大きく成長した細胞内における十分な物質循環を確保するために、シャジクモミオシン XI のような非常に速いミオシンを進化させる必要があったと予想される。おそらく、ミオシン XI の高速化に伴う ATP 消費よりも、細胞を大きくする選択のほうがエネルギー的に有利だったのだろう。一方、陸上に進出した植物は、小さい細胞を層状に積み重ねることによって、高さを確保した。そうすることで、重力のみならず風、雨など、水中には無い物理的外力に対する剛性を獲得したのではないかと考えられる。この過程で、ミオシン XI の速度は小さい細胞サイズに最適化し遅くなったと考えられる。高速型ミオシン XI の発現は、いわば進化の逆行であり、それにより陸上でも植物が大型化することが明らかとなった。したがって逆の解釈も可能かもしれない。すなわち、原形質流動速度を介して、生育環境に適した大きさに植物サイズが調整されているのではないかという仮説である。例えば、ミオシン XI の *in vitro* での運動は、ネック領域の軽鎖カルモジュリンの脱着を介して、カルシウムイオン濃度により制御される¹⁸⁾。この制御から、ミオシン XI の使い分けによる成長制御機構も想像できる。例えば、成長初期には、カルシウム感受性の高いミオシン XI-2 が雨風などの一過的な刺激を感知し、原形質流動を適宜停止させることで、周辺環境に応じた植物サイズが決定される。大きさが決定された後の成長後期には輸送を優先させるために、カルシウム感受性が低く周辺環境の変化に鈍感なミオシン XI-K を主な駆動力として切り替え、原形質流動を停止しにくくする、といった制御機構である。原形質流動は単なる植物全体の恒常的な物質輸送ではなく、成長制御システムとして時間・空間的に高度に制御されているのでは？といった想像を膨らませつつ研究を進めている。

これまで植物バイオマス増産に関する研究開発の多くは、シンクやソース組織に関与する分子や遺伝子の強化に着目し進められてきた。しかしたとえ葉における光合成を人為的に強化したと

しても、局所的に蓄積した光合成産物のネガティブフィードバックにより、植物全体での増産効果が頭打ちとなる場合がある。植物全体のバイオマス増産を考えた場合、代謝や吸収の強化と共に、それらを植物全体に巡らせる物質輸送の強化が不可欠であると考えられる。したがって、シャジクモミオシン XI を利用した原形質流動の高速化技術は、あらゆる植物に適応可能な高い汎用性を備えた、植物増産の基盤システムとなり得るのではないかと期待している。

謝辞

共同研究者である千葉大学の伊藤光二博士、原口武士博士にお礼を申し上げます。また、研究費を助成していただいた文部科学省および科学技術振興機構に感謝いたします。最後に本執筆の機会を与えてくださいました、高橋俊一博士（琉球大学）に深く感謝いたします。

Received Jun 30, 2021; Accepted Jul 26, 2021; Published Aug 31, 2021.

参考文献

1. Corti, B. In *Osservazioni microscopiche sulla tremella e sulla circolazione del fluido in una pianta acquajuola* (Lucca, 1774).
2. Kamiya, N. & Kuroda K. Velocity distribution of the protoplasmic streaming in *Nitella* cells. *Bot. Mag. Tokyo*. **69**, 544–554 (1956).
3. Shimmen, T. & Yokota, E. Cytoplasmic streaming in plants. *Curr. Opin. Cell Biol.* **16**, 68–72. (2004).
4. Yamamoto, K. *et al.* Chara myosin and the energy of cytoplasmic streaming. *Plant Cell Physiol.*, **47**, 1427–1431. (2006).
5. Tominaga, M. & Ito K. The molecular mechanism and physiological role of cytoplasmic streaming. *Curr. Opin. Plant Biol.* **27**, 104–117 (2015).
6. 富永基樹 図解よくわかる植物細胞工学（日刊工業新聞社, 2020).

7. Tominaga, M. *et al.* Higher plant myosin XI moves processively on actin with 35 nm steps at high velocity. *EMBO J.* **22**, 1263-1272 (2003).
8. Tominaga, M. & Nakano, A. Plant-specific myosin XI, a molecular perspective. *Front. Plant Sci.* **3**, 211. (2012).
9. Ito, K. *et al.* Recombinant motor domain constructs of *Chara corallina* myosin display fast motility and high ATPase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **312**, 958-964 (2003).
10. Ito, K. *et al.* Kinetic mechanism of the fastest motor protein, Chara myosin. *J Biol Chem.*, **282**, 19534-19545 (2007).
11. Ito, K., Yamaguchi, Y., Yanase, K., Ichikawa, Y., & Yamamoto, K. Unique charge distribution in surface loops confers high velocity on the fast motor protein Chara myosin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106**, 21585-21590 (2009).
12. Verchot-Lubicz, J. & Goldstein, R.E. Cytoplasmic streaming enables the distribution of molecules and vesicles in large plant cells. *Protoplasma* **240**, 99-107 (2010).
13. Haraguchi, T. *et al.* Functional Diversity of Class XI Myosins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, **59**, 2268-2277 (2018).
14. Haraguchi, T., Duan, Z., Tamanaha, M., Ito, K., & Tominaga M. In *The Cytoskeleton* (eds Sahi, V. and Baluška, F.) 49-61 (Springer, 2019).
15. Duan, Z. *et al.* Characterization of ancestral myosin XI from *Marchantia polymorpha* by heterologous expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, **104**, 460-473 (2020).
16. Tominaga, M. *et al.* Cytoplasmic streaming velocity as a plant size determinant. *Dev. Cell.* **27**, 345-52 (2013).
17. Duan, Z., Ito K., & Tominaga M. Heterologous transformation of *Camelina sativa* with high-speed chimeric myosin XI-2 promotes plant growth and leads to increased seed yield. *Plant Biotechnol.* **37**, 253-259 (2020).
18. Tominaga, M. *et al.* Calcium-induced mechanical change in the neck domain alters the activity of plant myosin XI. *J. Biol. Chem.* **287**, 30711-30718 (2012).

Biomass enhancement technology by artificial acceleration of cytoplasmic streaming

Motoki Tominaga

Department of Biology, Faculty of Education and Integrated Arts and Science, Waseda University

解説

Rubisco の高活性化によるイネの光合成能力と生産性の改良[‡]¹神戸大学大学院 農学研究科²立命館大学 生命科学部深山 浩^{1*}、松村 浩由²

CO₂固定反応を触媒するリブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) は、光合成の主要な律速因子と考えられる。それは、この酵素の触媒速度が非常に遅いこと、CO₂ に対する親和性が低いことに起因する。C₄植物の Rubisco は一般的に C₃植物よりも高い触媒速度を示す。Rubisco は、8つの大サブユニット (RbcL) と8つの小サブユニット (RbcS) で構成されている。これまでの我々の研究から、C₄植物ソルガムの RbcS をイネで高発現させると、イネ Rubisco の触媒速度が増加することがわかってきた。しかし、この Rubisco は内因性のイネ RbcS と外因性のソルガム RbcS で RbcS がキメラとなっており、ソルガム RbcS の効果を詳細に解析するには不十分であった。最近、我々はソルガム RbcS 高発現イネのイネ RbcS 遺伝子族を CRISPR/Cas9 法を用いることで全てノックアウトし、完全なイネ RbcL とソルガム RbcS のハイブリッド Rubisco を発現するイネの作出に成功した。本解説では、そのハイブリッド Rubisco の酵素特性、立体構造について報告するとともに、Rubisco の酵素特性の改変による光合成能力、作物の生産性の改良の可能性について考察する。

1. はじめに

作物の収量は光合成に依存するため、収量を増加させるためには光合成能力の改良が有効である^{1,2}。CO₂固定における初発反応はリブローズ 1,5-ビスリン酸 (RuBP) と CO₂ から 2 分子の 3-ホスホグリセリン酸 (3PGA) を生成する反応 (カルボキシラーゼ反応) である (図 1A)。この反応を触媒するリブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) の触媒速度は非常に遅く、光合成の主要な律速因子となっている^{3,4}。また、Rubisco は CO₂固定反応だけでなく、O₂を基質としたオキシゲナーゼ反応も触媒し、エネルギーコスト的に無駄な光呼吸を引き起こす⁵。イネ、コムギ、ジャガイモなど重要な作物の多くは、光合成様式から C₃植物として分類される。C₃植物の Rubisco は、トウモロコシやソルガムなどの C₄植物の Rubisco と比較して触媒

速度が低く、CO₂に対する親和性が高い (CO₂に対する K_m 値: K_c が低い) という特徴がある^{6,9}。低い触媒速度を補うために、C₃植物は葉に大量の Rubisco (葉の全窒素含量の 15~30%) を蓄積しており、窒素利用効率の制限要因となっている^{10,11}。しかし、CO₂に対する高い親和性は、C₃植物が光呼吸を減らすのに有効である^{7,8}。理想的な Rubisco は、高い触媒速度で低い K_c を持つことであるが、これらのパラメーター間にはトレードオフの関係が認められる^{8,12}。つまり、触媒速度が高いと K_c も高くなり光呼吸が増加することになる。C₄植物は、CO₂濃縮回路を持ち、Rubisco 近傍の CO₂濃度を高めることが出来る。よって、CO₂に対する親和性はそれほど重要ではなく、触媒速度の高い Rubisco を持ち、少ない Rubisco 量で高い光合成能力を発揮するよう進化したと考えられる。C₃植物は、どうだろうか? C₃植物は

[‡]解説特集「収量増加につながる光合成研究」

*連絡先 E-mail: fukayama@people.kobe-u.ac.jp

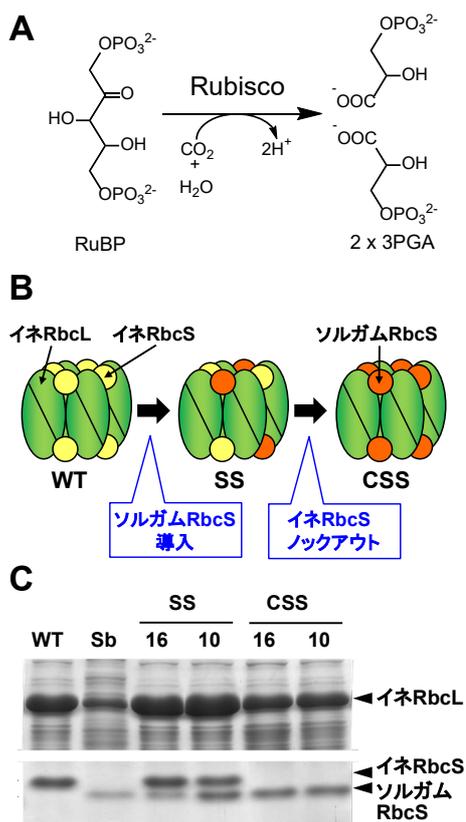


図1. Rubiscoの触媒反応とイネRbcLとソルガムRbcSのハイブリッドRubiscoを発現する形質転換イネの作出

(A) Rubiscoの触媒反応。(B) 形質転換イネの作出。日本型イネ日本晴 (WT) を用いてソルガムRbcSを高発現する形質転換イネ (SS系統) を作出した。続いてCRISPR/Cas9法によりSS系統におけるイネRbcSをノックアウトした (CSS系統)。(C) RubiscoのSDS-PAGE解析。SDS-PAGEにおけるRbcLとRbcSの画分を示す。CSS系統はイネRbcLとソルガムRbcSの完全なハイブリッドRubiscoを発現している。Matsumura *et al.* 2020より改変。

光呼吸を減らすために、触媒速度の低い、CO₂に対する親和性の高いRubiscoを持つよう進化してきたが、現在、大気CO₂濃度は上昇している。近未来の高CO₂環境を考えると、C₃植物もC₄植物のような高活性型のRubiscoを持ち、Rubiscoへのコストダウンを図った方が有利となるはずである。しかし、従来育種や進化のような突然変異と選抜による手法では、現在起こっているような急激な環境変化に迅速に対応することは不可能である。本解説では、我々がやってきた遺伝子組換え技術やゲノム編集技術を用いたRubisco酵素特性の改良の試みについて紹介する。

2. 触媒特性を決めているのは RbcL と RbcS のどっち？

維管束植物のRubiscoは、8つの大サブユニット (RbcL) と8つの小サブユニット (RbcS) からなるヘテロ16量体 (L₈S₈) 構造を形成している (図1B, 図4A)。RbcLは葉緑体ゲノム、RbcSは多重遺伝子族を形成し核ゲノムに存在している。触媒部位はRbcLに存在するため、当然ながらRubiscoの触媒特性に関係する重要なアミノ酸はRbcLに存在している¹³。これを裏付ける研究として、古くは酵素特性の異なる植物の属間交雑実験が行われ、酵素特性が母性遺伝することから葉緑体ゲノムにコードされたRbcLが重要であることが示されている¹⁴。その後、葉緑体形質転換が可能となり、Rubiscoの触媒速度が高いC₄植物 *Flaveria bidentis* のRbcLをC₃植物のタバコに導入した実験からも、RbcLの重要性が示された¹⁵。一方、RbcSも酵素特性を決める重要な因子であることが明らかとなってきた。以前から、クラミドモナスを用いてRbcSのβA-βBループ内の変異がRubiscoのCO₂特異性 (オキシゲナーゼ反応に対するカルボキシラーゼ反応の反応速度比) に効果を及ぼすことが示唆されていた^{16,17}。しかし、クラミドモナスの研究では、光合成の改良に応用できるような有用なRubiscoは得られなかった。おそらく進化的に遠縁な種のRbcSのアミノ酸配列特性をクラミドモナスRubiscoに導入したことに無理があったのかも知れない。我々は、イネと同じ単子葉植物の中でRubiscoのスクリーニングを行い⁸、触媒速度の高いC₄植物ソルガムのRbcSを選択し、過剰発現させることでイネRubiscoの触媒速度を大幅に増加させることに成功した¹⁸。その後、イネの非光合成組織で発現するRbcS、タバコのトライコームで発現するRbcSに触媒速度を増加させる効果や最適pHを酸性化させる効果があることも報告された¹⁹⁻²¹。よって、酵素特性の決定にはRbcLだけでなく、RbcSも関係していることは明らかである。またアミノ酸配列を比較すると、RbcLのアミノ酸配列は植物間で高度に保存されているが、RbcSのアミノ酸配列はRbcLに比べると多様性がある¹³。これらを考えると、酵素特性の種間差の決定においてRbcS

が重要な役割を果たしている可能性は高く、酵素特性の改良のターゲットとなり得ると考えられる。

3. ソルガム RbcS とイネ RbcL の完全ハイブリッド Rubisco を発現するイネの作出

触媒速度を高めることに成功したソルガム RbcS 高発現イネの Rubisco は、ソルガム RbcS とイネ RbcS のキメラとなっており、ソルガム RbcS の効果をより厳密に明らかにするには、完全なソルガム RbcS とイネ RbcL のハイブリッド Rubisco を作成する必要がある。そこで、ソルガム RbcS 高発現イネにおけるイネ *RbcS* を CRISPR/Cas9 法でノックアウトすることを計画した (図 1B)。イネ *RbcS* 多重遺伝子族は 5 つの *RbcS* (*OsRbcS1-5*) で構成されている。その中で、*OsRbcS1* は光合成組織で発現していないことがわかっている¹⁹。したがって、*OsRbcS2-5* の 4 つの遺伝子をノックアウトすれば良いことになる。*OsRbcS2-5* の塩基配列で相同性の高い領域 (20 塩基のターゲット配列で違いが 1 塩基以内) をターゲットに選定し、CRISPR/Cas9 法による多重遺伝子ノックアウトを実施した。ソルガム RbcS はイネ RbcS よりも 5 アミノ酸短く、分子量が小さい (推定分子量はソルガム RbcS が 14.4 kDa、イネ RbcS が 15.0 kDa) ために、SDS-PAGE 解析において分離が可能である (図 1C)。RbcS がソルガム RbcS のみとなり、完全なイネ RbcL とソルガム RbcS のハイブリッド Rubisco (CSS-Rubisco) を発現する系統 (CSS16 および CSS10) を得ることができた²²。

今回は行わなかったが、完全なハイブリッド

Rubisco を得る戦略が他にも考えられる。光合成生物の Rubisco は RbcL と RbcS からなる I 型、RbcL のみで構成される II 型と III 型に分類することができる。維管束植物は全て I 型の Rubisco を持つわけであるが、活性のある正常な植物型の Rubisco を大腸菌で発現させることは、これまで不可能であった。近年、Rubisco の翻訳後会合メカニズムの解明が進み、フォールディングや会合に必要な 5 種類の分子シャペロンを RbcL と RbcS と共に大腸菌に導入することで、活性のある植物型の Rubisco を大腸菌で発現させることが可能となった²³。これは大きなブレイクスルーであり、我々がやっているハイブリッド Rubisco の実験や、*RbcL* や *RbcS* にランダム変異を入れて優良な酵素特性を示す Rubisco をスクリーニングするような指向性進化実験²⁴への応用が期待される。ただし分子シャペロンの RAF1 には種による特異性が報告されているため²⁵、目的の Rubisco に合わせて適切な分子シャペロンを選択し、大腸菌で発現させる必要がある。

4. CSS-Rubisco の酵素特性

CSS-Rubisco の触媒速度の CO₂ 濃度依存性を測定したところ、CSS-Rubisco はソルガム Rubisco に近い酵素特性を示すことが明らかとなった (図 2)。CSS-Rubisco の最大触媒速度 (k_{cat}) は 4.9-5.0 s⁻¹ であり、イネ Rubisco の 1.8-1.9 倍、ソルガム Rubisco の 78% の値であった。単純にソルガム RbcS を高発現させた場合の RbcS がキメラな Rubisco の場合は、ソルガム RbcS の割合が高い Rubisco (ソルガム RbcS が全体の 79%) でも k_{cat}

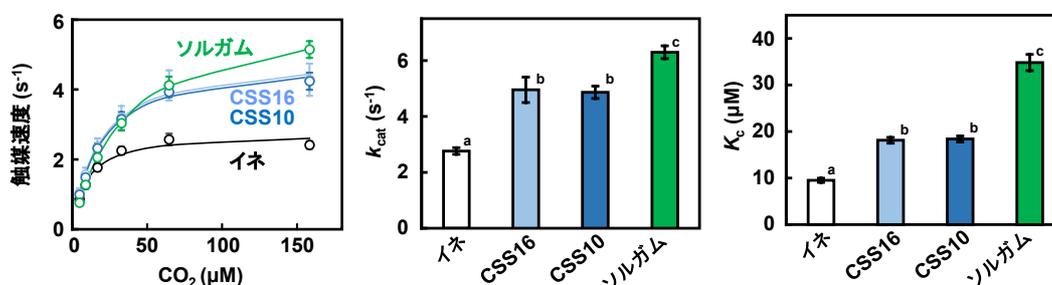


図2. Rubiscoの酵素特性

Rubisco触媒速度とCO₂濃度との関係を測定し (左図)、最大触媒速度 k_{cat} (中央) とCO₂に対するミカエリス定数 K_c (右図) を算出した。グラフ中のアルファベットはチューキー検定による5%水準での有意差を表す。Matsumura *et al.* 2020より改変。

はイネの 1.5 倍以下であったことを考えると¹⁸、完全なハイブリッド Rubisco となったことで k_{cat} がさらに増加したことが示唆される。その他の酵素特性を見ると、イネ Rubisco に比べて CSS-Rubisco は、 K_c が増加、 CO_2 特異性が低下した。一方で、RuBP に対する K_m 値やカルボキシレーション効率 (k_{cat}/K_c) は変化しなかった。これらの酵素特性は C_4 植物の Rubisco に見られる特徴であり²⁶、ソルガム RbcS が組込まれることでイネ Rubisco が C_4 植物の Rubisco に近い酵素特性を獲得できた、つまり高活性化したことを意味している。

Rubisco の翻訳からサブユニットの会合に至る過程や活性調節には、多数の酵素や分子シャペロンとの相互作用を必要とする。よって、イネの Rubisco の酵素特性の改良を目的とするならば、できる限り塩基配列の近いイネ植物の中から導入遺伝子を選抜するべきであることは前述のと

おりである。今回はソルガム RbcS が効果的であったが、ソルガム以外のイネ科 C_4 植物の RbcS や、 C_4 植物ほどではないが高活性型の Rubisco を持つ耐寒性イネ科植物の RbcS は同様の効果をもたらすのだろうか？我々はソルガムと同程度の高い k_{cat} を示す Rubisco を持つ C_4 植物のネピアグラスとギニアグラスの RbcS についてもイネで高発現させた²⁷。今のところ単純に高発現させた形質転換イネの Rubisco しか解析できていないが、ネピアグラスとギニアグラスの RbcS は両方ともイネ Rubisco の k_{cat} を増加させる傾向を示した。一方で、イネ Rubisco の約 1.7 倍の k_{cat} を示す Rubisco を持つ耐寒性イネ科植物のチモシーの RbcS はイネ Rubisco の k_{cat} を増加させる効果を示さなかった²⁸。今後、より多くの種の RbcS を解析する必要があるが、今のところイネの Rubisco の触媒速度を高めるには C_4 植物の RbcS が効果的であることが示唆される。

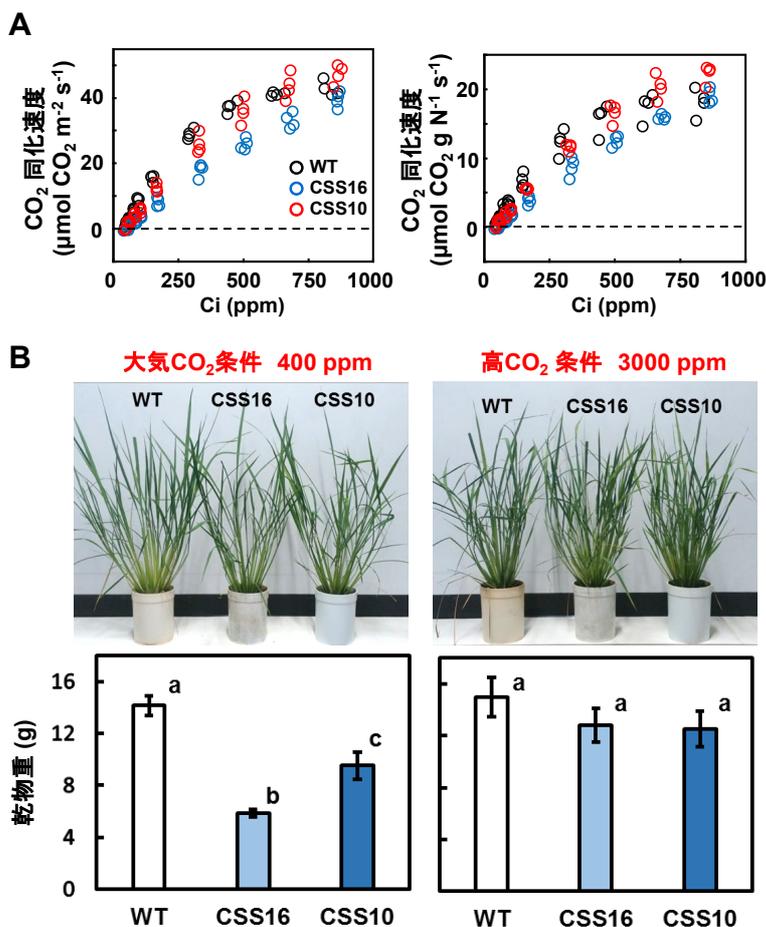


図3. 光合成速度と乾物重

非形質転換イネ (WT) と CSS 系統の葉身の CO_2 同化速度と細胞間隙 CO_2 濃度 (C_i) の関係を測定した (A)。 CO_2 同化速度は葉面積 (左) と窒素含量 (右) を基準として算出した。イネを異なる CO_2 濃度条件 (400 ppm, 3000 ppm) で 40 日間育成し乾物重を測定した (B)。グラフ中のアルファベットはチューキー検定による 5% 水準での有意差を表す。Matsumura *et al.* 2020 より改変。

5. Rubisco が高活性になると光合成や成長は促進される？

我々は、将来的に重要となる高 CO₂ 環境での光合成能力の改良を目指している。高 CO₂ 条件下での光合成は Rubisco 律速ではないので、適度に Rubisco 含量を減少させて、その分の窒素を他の光合成関連タンパク質に分配させることが光合成能力の改良に繋がるはずである。CSS-Rubisco は高活性であり、野生型のイネ Rubisco (WT-Rubisco) より少ない Rubisco 量で光合成を行うことが可能となる。CSS-Rubisco を発現する形質転換イネの Rubisco 含量を測定したところ、CSS10 系統で非形質転換イネの 67%、CSS16 系統で 44%であった。CSS-Rubisco は WT-Rubisco の 1.8-1.9 倍の k_{cat} を示すことから (図 2)、CSS 系統の Rubisco 量は高 CO₂ 条件の光合成を考えると計算上は十分な量と見積もることができる。

我々の予想通り、CSS 系統は低 CO₂ 条件 (500 ppm 以下) では非形質転換イネよりも低い光合成速度を示したが、高 CO₂ 条件 (750 ppm 以上) の CSS10 系統の光合成速度は、非形質転換イネよりも高くなる傾向 (窒素当たりの光合成速度は有意に高い) を示した (図 3)。つまり、高活性型 Rubisco の導入と Rubisco 量のスリム化により高 CO₂ 条件下での光合成能力の改良に成功したと考えられる。CSS-Rubisco のように Rubisco が高活性型となると、CO₂ 特異性が低下して光呼吸が起りやすくなる。CO₂ 特異性が低い Rubisco は電子伝達律速となる弱光下の光合成に不利となることが指摘されている²⁹。そうすると、個体レベル (下位葉は上位葉の陰になる) や自然環境下で変化する光環境 (光強度の日変化、雲の影響、風による葉の角度の変化等) において、CSS-Rubisco を持つことが不利となる可能性がある。そこで、CSS 系統の光合成速度と光強度の関係を解析したところ、高 CO₂ 条件であれば、弱光下においても CSS 系統は非形質転換イネと同等の光合成速度を示すことがわかった²²。これらのことを考えると、高 CO₂ 環境であれば、CSS 系統に不利な要素はなく、CSS 系統の生育は促進されることが期待できる。しかしながら、CSS 系統の乾物重は高 CO₂ 条件においても、非形質転換イネを上回るこ

とはなかった (図 3B)。また、CSS 系統では種子の稔性が大幅に低下していた。この現象は CSS10 系統と CSS16 系統の両方で認められ、高 CO₂ 条件でも回復しないことから、Rubisco 量や光合成能力の問題ではないはずである。原因は判明していないが、我々は CSS 系統を作出する過程で生じた体細胞変異が生育にマイナスの効果をもたらしている可能性もあることから、非形質転換イネとの戻し交配を進めている。一方で興味深い話としては、シロイヌナズナが持つ 4 つの *RbcS* のうちの *RbcS1A* と *RbcS1B* を 2 重欠損させると稔性のある種子が得られないことが報告されている³⁰。非常に不思議な現象であり、今後さらなる検証が必要とされるが、*RbcS* が本来とは異なる機能を有している可能性も想定しておく必要があるのかも知れない。

6. CSS-Rubisco の結晶構造

CSS-Rubisco の酵素特性の変化の理由をその立体構造から説明するため、CSS-Rubisco の X 線結晶構造解析を行った。また比較対象として、WT-Rubisco も同じ方法で構造解析した。最終的に、CSS-Rubisco と WT-Rubisco の立体構造をそれぞれ 1.75Å と 1.70Å の分解能で決定することができた (図 4)。

一般に Rubisco の触媒サイクルの過程では、*RbcL* の 4 つの触媒ループ (①N 末端セグメント、1~20 (番号はアミノ酸番号、以下同様) ; ②60s ループ、64~67 ; ③ループ 6、332~337 ; ④C 末端テール、464~475) が、開閉を繰り返す。これは活性部位に基質 RuBP と CO₂ が結合したときに閉じ、触媒反応後 2 分子の 3PGA が生成したときに開くとされている³¹。具体的には、RuBP と CO₂ が反応して 2 分子の 3PGA を生成すると、2 つのリン酸基間の距離が離れ (図 1A, 図 5)、そのリン酸基に結合しているアミノ酸 (例えば K334 や W66) のコンフォメーションが変化し、それがきっかけとなり相互作用が連続的に変わって閉じていた 4 つの領域が全て開くと考えられている。今回の CSS-Rubisco および WT-Rubisco の結晶化溶液には硫酸イオンを加えており、3PGA のリン酸基結合部分に硫酸イオンが結

合していた (図 4A)。そのため 4 つの触媒ループはそれぞれ開いたコンフォメーション、あるいは乱れた構造を示すディスオーダー状態を示していた。

CSS-Rubisco と WT-Rubisco の立体構造を比較したところ、RbcL 間に大きな構造の違いは見られなかったが (428Ca 原子の rmsd は 0.234-0.340Å)、RbcS 間の構造の違いは比較的大きかった (119Ca 原子の rmsd は 0.330-0.424Å)。その最大の理由は RbcS の 122 アミノ酸のうち 28 アミノ酸が異なるためであるが、それだけではなく Rubisco の分子を貫く溶媒チャンネル (図 4A, 左下の Rubisco 立体構造中央の穴) を形成している RbcS の 48-49 (2 つの C α 原子で 0.73Å の rmsd) が占有率ほぼ 50% で二つのコンフォメーションで存在すること、また同じく溶媒チャンネルを形成している一部 7~9 (3 つの C α 原子で 0.92Å の

rmsd) に顕著な構造の差が見られたことが原因であった。これらは活性部位から遠く離れているが、本当に触媒特性に影響を与えるのだろうか? これまで具体的な説明はされていないものの、過去のクラミドモナスの RbcS 変異体の研究によると、溶媒チャンネル周辺の領域である RbcS の β A- β B ループのアミノ酸残基の置換によって確かに Rubisco の触媒特性は影響を受けるようである^{17,32,33}。例えば、 β A- β B ループの R53 と R65 が触媒特性に影響を与えるという報告があるが^{16,34}、イネ RbcS とソルガム RbcS を比較するとこれらのアミノ酸は保存されているため、今回の CSS-Rubisco のケースには当てはまらない。その代わり、同じく溶媒チャンネルを形成し、顕著な構造の違いのあった 7~9 が、CSS-Rubisco と WT-Rubisco の触媒特性の違いに関係しているのかもしれない。また、ソルガム RbcS の β A- β B ループの E48

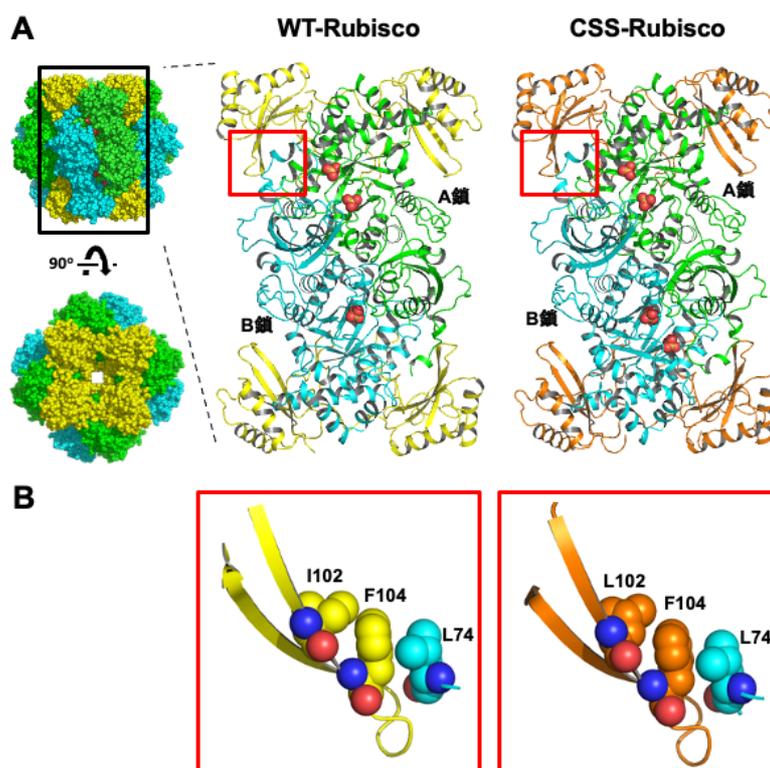


図4. Rubiscoの構造

(A) イネRubiscoの全体構造。イネRubiscoのヘテロ16量体構造 (左図)。下図のRubisco立体構造の中央の穴が溶媒チャンネルである。RbcLの2量体とRbcSのリボンモデル (右図)。RbcLは緑色と水色、RbcSはWTでは黄色、CSSでは橙色で示す。赤四角はRbcSの β C- β Dループを示す。(B) RbcSの β C- β Dループの構造。RbcSの β Cの102番目のアミノ酸がイネではイソロイシン (I102)、ソルガムではロイシン (L102) である。L102の場合は隣のフェニルアラニン (F104) との間の隙間が大きくなる。Matsumura *et al.* 2020より改変。

は OsRbcS2-5 とは異なり、イネの Rubisco の触媒速度を増加させる OsRbcS1 に共通している¹⁹。この E48 も溶媒チャンネルの表面に位置することから、ソルガム RbcS の中央溶媒チャンネル周辺のアミノ酸残基の違いにより、CSS-Rubisco の触媒速度が増加した可能性がある。

さらに、今回の構造解析で溶媒チャンネルとは異なる領域が酵素特性に影響を与えている可能性も示唆された。今回解析した硫酸イオン結合型 WT-Rubisco と以前に報告した 2-カルボキシアラビニトールビスリン酸 (2CABP) 結合型 WT-Rubisco³⁵ の立体構造を比較すると、触媒サイクル中、Rubisco のコンフォメーション変化は、上述の 4 つの触媒ループ (N 末端セグメント、60s ループ、ループ 6、C 末端テール) だけでなく、 β ヘアピンの残基 102~114 の領域の主鎖 (RbcS の β C から隣接する β D、 β C- β D) にも見られることが分かった (図 4)。先にも述べたが、基質の結合は触媒ループの閉鎖を引き起こし、それによって RbcL の 60s ループ上の L74 の側鎖の方向が僅かに変化する (図 5)。その結果、L74 と I102 に挟まれた隣接する RbcS の F104 の側鎖が大きく倒れ、 β C- β D の主鎖に大きな構造変化が生じる。興味深いことに、WT-Rubisco では、F104 は I102 と L74 に挟まれているが、ソルガム RbcS を含む CSS-Rubisco では I102 の残基がロイシンに置換されている (図 4B)。WT-Rubisco では、I102-F104 の炭素間距離は 3.58~3.72Å であったが、CSS-Rubisco の L102-F104 のそれは 4.11~4.28Å であった。つまり、炭素間距離から判断すると、僅かではあるが CSS-Rubisco の L102 と F104 の相互作用は WT-Rubisco よりも弱いと考えられ、それにより 60s ループの柔軟性が変わり、Rubisco の触媒ターンオーバーに影響を与えた可能性が予想された。

ゲノムデータベースを利用して RbcS のアミノ酸配列を調べたところ、145 種の C_3 植物のうち 141 種は I102 であり、L102 は 4 種 (*Dichanthelium oligosanthes*、*Ipomoea batatas*、*Ipomoea triloba*、*Thyridolepis mitchelliana*) のみであった。その中の *Ipomoea batatas* (サツマイモ) は C_3 植物の中でも高い k_{cat} を示すことが報告されている²⁶。また、

Ipomoea triloba はサツマイモと同じヒルガオ科の植物である。*Dichanthelium oligosanthes* と *Thyridolepis mitchelliana* は両者とも C_4 種を多く含むキビ亜科に属する植物である。 C_4 植物に関しては塩基配列情報が少ないが、34 種のうち 15 種 (44%) が L102 であった。一般的に、単子葉 C_4 植物は、双子葉 C_4 植物よりも高い k_{cat} を示す Rubisco を有している³。単子葉 C_4 植物に限定すると、L102 の割合は 64% となる。したがって、L102 は k_{cat} が高い単子葉 C_4 植物の Rubisco に多く含まれている傾向があり、それが Rubisco が高い k_{cat} を示す要因である可能性が示唆される。しかしながら、Rubisco の k_{cat} が高いことが報告されている単子葉 C_4 植物のトウモロコシやネピアグラス⁸は I102 であった。特にネピアグラスの RbcS に関してはイネで高発現させており、 k_{cat} が増加する傾向を示している²⁷。これらのことから、 k_{cat} を高めるアミノ酸として L102 は有力な候補であるが、植物によって異なる領域のアミノ酸が触媒作用に効果をもたらしている可能性も考える必要がある。今後、I102 型のネピアグラス RbcS の効果についても詳細に解析したいと考えており、完全ハイブリッド Rubisco を発現するイネの作出を進めている。

7. Rubisco はつづくよどこまでも

Rubisco の研究は歴史が長く、膨大な研究結果の蓄積がある。そのため、いまだに Rubisco の研究をしている我々は他分野の研究者から「Rubisco ってまだ研究することあるんですか？」と質問されることがある。植物の成長、さらには農作物の生産性のボトルネックは Rubisco であり、それに対して科学は何も貢献できていない。近年のライフサイエンス分野の研究技術の発展は目覚ましく、遺伝子配列情報は充実し、遺伝子組換、ゲノム編集、また大腸菌でのリコンビナント Rubisco の合成も可能となった。これらの技術を駆使すれば、何らかの貢献ができるはずであると筆者らは考えている。我々が作出した CSS 系統は、解決すべき問題もあるが、高 CO_2 環境での作物生産に貢献できる可能性はあると期待している。

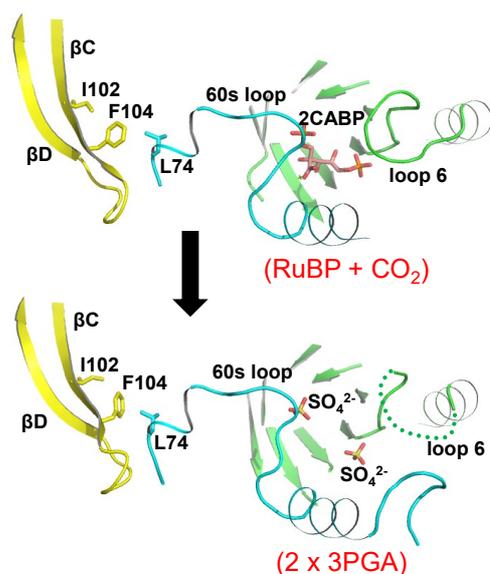


図5. Rubiscoの活性部位の構造変化

Rubiscoの活性部位に基質であるRuBPとCO₂が結合して遷移状態となると触媒ループ(ここでは60s loopとloop 6)が閉じることが、遷移状態アナログ2CABPとの結合構造によって示されている(上)。触媒反応後、3PGAが生成すると触媒ループが開くと同時に、小サブユニットのF104の側鎖の方向も変わる(下)。Matsumura *et al.* 2020より改変。

さらなるRubiscoの改良を考えた場合、Rubiscoは非常に完成された酵素であり改良の余地は少ないとの考え方もある。これまでのRubiscoの研究は限られた種に限定されていて、その中で酵素の進化が議論されてきた。近年、これまで解析されてこなかった幅広い種でRubiscoの酵素特性が解析され、*Gallionella*属で世界最速の k_{cat} (22 s⁻¹)を示すRubiscoが見つかった³⁶。また、維管束植物ではC₄植物のテフのRubiscoが、私の知る限り最速の k_{cat} (7.1 s⁻¹)を示すことも報告されている^{37,38}。紅藻にはCO₂特異性が非常に高く光呼吸をほとんど起こさないRubiscoを持つ種が存在することは有名である³⁹。このように自然界には多様な酵素特性を示すRubiscoが存在しており、より優れたRubiscoを人工的に作出できる可能性を期待させる。ただ、Rubiscoの分子進化の障壁の中に複雑な翻訳後会合メカニズムがあることを忘れてはいけない。酵素特性に有用な変異を導入できたとしても、多数あるフォールディングや会合に必要な分子シャペロンとの相互作用に不具合が生じるとRubisco量が確保できなくて失敗となる。Rubiscoの活性化に必要なRubisco activase

との相互作用も同様である。これがRubiscoの難しいところであり、進化を妨げてきた原因の1つと考えられている。さらに*RbcL*が座上する葉緑体ゲノム上の遺伝子の進化は、核ゲノム上の遺伝子の進化の約10倍も遅いと推定されている⁴⁰。これらのことが複合的に作用した結果、遺伝的な要因がRubiscoの進化を制限してきたと考えられる⁴¹。しかしポジティブに捉えると、Rubiscoには改良の余地が多く残されている可能性が高いとも言える。Rubiscoの酵素特性の改良は重要な研究テーマであり、今後も研究を続けなければならない。

Received Jul 12, 2021; Accepted Jul 30, 2021; Published Aug 31, 2021.

参考文献

- Peterhansel, C. & Offermann, S. Re-engineering of carbon fixation in plants - challenges for plant biotechnology to improve yields in a high-CO₂ world. *Curr. Opin. Biotechnol.* **23**, 204-208 (2012).
- Andralojc, P.J., Carmo-Silva, E., Degen, G.E. & Parry, M.A.J. Increasing metabolic potential: C-fixation. *Essays Biochem.* **62**, 109-118 (2018).
- Sharwood, R.E. Engineering chloroplasts to improve Rubisco catalysis: prospects for translating improvements into food and fiber crops. *New Phytol.* **213**, 494-510 (2017).
- Galmés, J., Capó-Bauçà, S., Niinemets, Ü. & Iñiguez, C. Potential improvement of photosynthetic CO₂ assimilation in crops by exploiting the natural variation in the temperature response of Rubisco catalytic traits. *Curr Opin Plant Biol.* **49**, 60-67 (2019).
- Fernie, A.R. & Bauwe, H. Wasteful, essential, evolutionary stepping stone? The multiple personalities of the photorespiratory pathway. *Plant J.* **102**, 666-677 (2020).
- Seemann, J.R., Badger, M.R. & Berry, J.A. Variations in the specific activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase between species utilizing differing photosynthetic pathways. *Plant Physiol.* **74**, 791-794

- (1984).
7. Sage, R.F. Variation in the k_{cat} of Rubisco in C₃ and C₄ plants and some implications for photosynthetic performance at high and low temperature. *J. Exp. Bot.* **53**, 609-620 (2002).
 8. Ishikawa, C., Hatanaka, T., Misoo, S. & Fukayama, H. Screening of high k_{cat} Rubisco among Poaceae for improvement of photosynthetic CO₂ assimilation in rice. *Plant Prod. Sci.* **12**, 345-350 (2009).
 9. Sharwood, R.E., Ghannoum, O. & Whitney, S.M. Prospects for improving CO₂ fixation in C₃-crops through understanding C₄-Rubisco biogenesis and catalytic diversity. *Curr. Opin. Plant Biol.* **31**, 135-142 (2016).
 10. Evans, J.R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia* **78**, 9-19 (1989).
 11. Makino, A. *et al.* Distinctive responses of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and carbonic anhydrase in wheat leaves to nitrogen nutrition and their possible relationships to CO₂-transfer resistance. *Plant Physiol.* **100**, 1737-1743 (1992).
 12. Tcherkez, G.G., Farquhar, G.D. & Andrews, T.J. Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all ribulose bisphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 7246-7251 (2006).
 13. Andersson, I. & Backlund, A. Structure and function of Rubisco. *Plant Physiol. Biochem.* **46**, 275-291 (2008).
 14. Evans, J.R., and Austin, R.B. The specific activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in relation to genotype, *Planta* **167**, 344-350. (1986)
 15. Whitney, S.M. *et al.* Isoleucine 309 acts as a C₄ catalytic switch that increases ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (rubisco) carboxylation rate in *Flaveria*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 14688-14693 (2011).
 16. Spreitzer, R.J. Role of the small subunit in ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Arch. Biochem. Biophys.* **414**, 141-149 (2003).
 17. Genkov, T., Meyer, M., Griffiths, H. & Spreitzer, R.J. Functional hybrid rubisco enzymes with plant small subunits and algal large subunits: engineered rbcS cDNA for expression in *Chlamydomonas*. *J. Biol. Chem.* **285**, 19833-19841 (2010).
 18. Ishikawa, C., Hatanaka, T., Misoo, S., Miyake, C. & Fukayama, H. Functional incorporation of sorghum small subunit increases the catalytic turnover rate of Rubisco in transgenic rice. *Plant Physiol.* **156**, 1603-1611 (2011).
 19. Morita, K., Hatanaka, T., Misoo, S. & Fukayama, H. Unusual small subunit that is not expressed in photosynthetic cells alters the catalytic properties of rubisco in rice. *Plant Physiol.* **164**, 69-79 (2014).
 20. Laterre, R., Pottier, M., Remacle, C. & Boutry, M. Photosynthetic trichomes contain a specific Rubisco with a modified pH-dependent activity. *Plant Physiol.* **173**, 2110-2120 (2017).
 21. Lin M.T., Stone, W.D., Chaudhari, V. & Hanson, M.R. Enzyme kinetics of tobacco Rubisco expressed in *Escherichia coli* varies depending on the small subunit composition. bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/562223> (2020).
 22. Matsumura, H. *et al.* Hybrid Rubisco with complete replacement of rice Rubisco small subunits by Sorghum counterparts confers C₄ plant-like high catalytic activity. *Mol. Plant* **13**, 1570-1581 (2020).
 23. Aigner, H. *et al.* Plant RuBisCo assembly in *E. coli* with five chloroplast chaperones including BSD2. *Science* **358**, 1272-1278 (2017).
 24. Wilson, R.H., Martin-Avila, E., Conlan, C. and Whitney, S.M. An improved *Escherichia coli* screen for Rubisco identifies a protein-protein interface that can enhance CO₂-fixation kinetics. *J. Biol. Chem.* **293**, 18-27 (2018).
 25. Whitney, S.M., Birch, R., Kelso, C., Beck, J.L. & Kapralov, M.V. Improving recombinant Rubisco biogenesis, plant photosynthesis and growth by coexpressing its ancillary RAF1 chaperone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112**, 3564-3569 (2015).
 26. Hermida-Carrera, C., Kapralov, M.V. & Galmés J. Rubisco catalytic properties and temperature response in crops. *Plant Physiol.* **171**, 2549-2561 (2016).
 27. Fukayama, H. *et al.* Rubisco small subunits of C₄

- plants, Napier grass and guinea grass confer C₄-like catalytic properties on Rubisco in rice. *Plant Prod. Sci.* **22**, 296-300 (2019)
28. Fukayama, H., Koga, A., Hatanaka, T. & Misoo, S. Small subunit of a cold-resistant plant, timothy, does not significantly alter the catalytic properties of Rubisco in transgenic rice. *Photosynth. Res.* **124**, 57-65 (2015).
 29. Long, S.P, Zhu, X.-G. & Ort, D.R. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant Cell Environ.* **29**, 315-330. (2006)
 30. Khumsupan, P., Kozłowska, M.A., Orr, D.J., Andreou, A.I., Nakayama, N., Patron, N., Carmo-Silva, E. & McCormick, A.J. Generating and characterizing single- and multigene mutants of the Rubisco small subunit family in Arabidopsis. *J. Exp. Bot.* **71**, 5963–5975. (2020)
 31. Duff, A.P., Andrews, T.J. & Curmi, P.M. The transition between the open and closed states of rubisco is triggered by the inter-phosphate distance of the bound bisphosphate. *J. Mol. Biol.* **298**, 903-916 (2000).
 32. Esquivel, M.G., Genkov, T., Nogueira, A.S., Salvucci, M.E. & Spreitzer, R.J. Substitutions at the opening of the Rubisco central solvent channel affect holoenzyme stability and CO₂/O₂ specificity but not activation by Rubisco activase. *Photosynth. Res.* **118**, 209-218 (2013).
 33. Karkehabadi, S. *et al.* Chimeric small subunits influence catalysis without causing global conformational changes in the crystal structure of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Biochemistry* **44**, 9851-9861 (2005).
 34. Spreitzer, R.J., Esquivel, M.G., Du, Y.-C. & McLaughlin P.D. Alanine-scanning mutagenesis of the small-subunit β A- β B loop of chloroplast ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: substitution at Arg-71 affects thermal stability and CO₂/O₂ specificity. *Biochemistry* **40**, 5615-5621 (2001).
 35. Matsumura, H. *et al.* Crystal structure of rice Rubisco and implications for activation induced by positive effectors NADPH and 6-phosphogluconate. *J. Mol. Biol.* **422**, 75-86 (2012).
 36. Davidi, D. *et al.* Highly active rubiscos discovered by systematic interrogation of natural sequence diversity. *EMBO J.* **39**, e104081 (2020).
 37. Orr, D.J., Alcântara, A., Kapralov, M.V., Andralojc, P.J., Carmo-Silva, E. & Parry, M.A. Surveying Rubisco diversity and temperature response to improve crop photosynthetic efficiency. *Plant Physiol.* **172**, 707–717. (2016)
 38. Flamholz, A.I. *et al.* Revisiting Trade-offs between Rubisco Kinetic Parameters. *Biochemistry* **58**, 3365–3376 (2019).
 39. Uemura K, Anwaruzzaman, Miyachi S, Yokota A. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from thermophilic red algae with a strong specificity for CO₂ fixation. *Biochem Biophys Res Commun.* **233**, 568-571. (1997)
 40. Smith, D.R. Mutation rates in plastid genomes: they are lower than you might think. *Genome Biol. Evol.* **7**, 1227-1234. (2015)
 41. Bouvier, J.W. *et al.* Rubisco Adaptation Is More Limited by Phylogenetic Constraint Than by Catalytic Trade-off. *Mol. Biol. Evol.* **38**, 2880-2896 (2021)

Improvement of photosynthetic capacity and crop productivity by the enhancement of Rubisco catalytic activity in rice

Hiroshi Fukayama¹ and Hiroyoshi Matsumura²

¹Graduate School of Agricultural Science, Kobe University

²Department of Biotechnology, College of Life Sciences, Ritsumeikan University

表紙の紹介

植生反射光のリモートセンシングとアストロバイオロジーへの応用

¹ 自然科学研究機構アストロバイオロジーセンター

² 基礎生物学研究所、³ 国立天文台

滝澤 謙二^{1,2}、日下部 展彦^{1,3}

表紙は初夏の晴天下、愛知県岡崎市の湖水に繁茂するスイレンの浮水葉の写真と、湖全域をドローンに搭載したマルチスペクトルカメラ (RedEdge-M) により上空から撮影した反射率画像。一定高度、速度で飛行中のドローンから直下の湖面と周辺植生を等間隔で撮影し、得られた連続画像から解析ソフトウェア (Pix4Dmapper) により起伏やカメラアングル、歪曲収差等による誤差を取り除き組み合わせることでオルソモザイク画像を合成した。歪みの無い 2D 平面上のピクセル間で誤差無く距離の測定と反射率の比較ができる。左半分のカラー画像は可視域の 3 波長 (475, 560, 668 nm) の反射率を表し、右半分の白黒画像は近赤外線 (840nm) 反射率を表す。カラー画像で黄緑色に表示されるスイレン浮葉は濃緑色の森林と同等に強い近赤外線反射を示す。

ドローンを利用したリモートセンシングは急速に普及しており、建築・土木分野での測量・施工管理の他、農業分野ではマルチスペクトルカメラにより作物の反射光を解析することで施肥、灌水、病虫害発生状況などを詳細に調べることが可能になっている。植生反射光のリモートセンシング技術が発展する先にある、究極目標の一つとして、地球とは異なる惑星上に光合成生物を見つけることができるかもしれない。今年初飛行に成功した NASA の火星ヘリコプター Ingenuity から送られてくる画像にそれを期待することはできないが、次世代の地上望遠鏡、宇宙望遠鏡、超小型恒星間探査機などにより、太陽系外の地球に似た惑星の直接観測が数十年以内に可能になるとされている。天文と惑星科学、生物の分野間融合により 2015 年に発足した自然科学研究機構アストロバイオロジーセンターでは次世代の超大型望遠鏡による分光観測を念頭に、太陽系外惑星に光合成生物が存在する場合に検出可能なシグナルの推定を進めている^{1,2,3}。地球と同じ環境にある惑星では地球の植生と同様に赤色光を吸収し、赤外線を強く反射する特徴的な反射スペクトルが期待できる。陸地面積が少ない海洋惑星では森林による光反射は期待できないが、水面上に浮遊する光合成生物が存在する場合には、スイレンの浮葉の反射光が示すように、強い近赤外反射が観測される可能性がある。こうしたアストロバイオロジーからの光合成研究へのアプローチについて、いずれ本誌の中で紹介していきたい。

文献

1. Narita, N., Enomoto, T., Masaoka, S. et al. (2015) Titania may produce abiotic oxygen atmospheres on habitable exoplanets. *Sci Rep* **5**, 13977.
2. Takizawa, K., Minagawa, J., Tamura, M. et al. (2017) Red-edge position of habitable exoplanets around M-dwarfs. *Sci Rep* **7**, 7561.
3. Komatesu, Y., Takizawa, K. (2021) A quantum chemical study on the effects of varying the central metal in extended photosynthetic pigments. *Phys Chem Chem Phys* **23**, 14404-14414.

若手の会特別企画：若手研究者の海外留学レポート！

第13回「海外での研究経験、オーストラリア」

東北大学理学研究科化学専攻有機物理化学研究室
博士課程3年
藤田 祐輝

私は現在、東北大学理学研究科化学専攻有機物理化学研究室に所属しており、柴田稯准教授のご指導のもと光合成タンパク質の膜内移動を *in vivo* で観察することを目指した研究を行っています。修士課程二年次の6月から9月までの3ヶ月間、オーストラリアのメルボルン大学の研究室で研究活動を行いました。本稿では、海外研究を通して自分が感じたことなどをざっくばらんに皆様にお伝えしたいと思います。

1. オーストラリアビクトリア州メルボルンでの生活

私はメルボルン大学の Trevor Smith 准教授が主宰する研究室で3ヶ月間研究活動を行いました。メルボルンはオーストラリアの南部に位置し、2018年英誌エコノミストで「世界で最も住みやすい都市」に選出されています。中心部は近代的で美しい造形のビルが立ち並ぶ一方、市内の各所にはイギリス風の建物や庭園が多く残り、それらがうまく調和・共存することで独特の風情を醸し出しています（写真1）。また市内には大型の市場が複数あり、良質で安い食材をいつでも調達することができました。市外にはグレート・オーシャン・ロードを始め自然豊かな観光スポットが多数あり、多くの面でオーストラリアを満喫できました。メルボルンのもう一つの魅力は、多様な文化が定着し寛容性にあふれるという点です。あらゆる国籍の人達が住んでおり、街中には中華、インド、イタリア、ベトナム等々挙げるにはきりがなほどの各国料理のレストランが存在しています。一つの都市に滞在しただけで世界中の料理や文化に触れることができたのはとても貴重な経験でした。宿泊先のシェアハウスで、同居人の韓国人とインド人と共に毎晩英語の勉強をしたのも良い思い出です。



写真1 メルボルンの街並み

近代的な建物（上写真）とヨーロッパ風のシックな建物（下写真）が共存している。

2. 研究活動

私は所属する研究室で独自開発した極低温光学顕微鏡を用いて、光合成光捕集アンテナタンパク質の光環境変化に応じた分布の変化について検証しています。その顕微鏡システムの空間分解能の向上を目指して、超解像光学顕微鏡技術である STED (Stimulated Emission Depletion Microscopy) を導入することを計画していました。一方、Trevor Lab は別の超解像光学顕微鏡である SIM (Structured Illumination Microscopy) を独自に設計、開発しており、新たな取り組みとして SIM と STED を組み合わせた新規の超解像光学顕微鏡システムの開発に着手していました。私の指導教員と Trevor 先生は面識があり、今後の研究方針に共通点があったため、この留学のチャンスに恵まれました。研究活動は主に、ポスドクの Ben 先生と日々ディスカッションしながら、光学系の構築、数値計算ソフトウェア MATLAB を用いたシステム全体の制御を行いました。私は化学科出身の学生ですが、装置開発にも興味があったため、デバイスを制御、連動させるアルゴリズムの開発から携われたのは非常に新鮮で貴重な経験でした。レーザー光を大きな紙で遮っていたのですが、高い光強度により紙が燃えて大惨

事になりかけたことがあり、これはレーザーを扱う際の教訓として今でも鮮明に脳裏に焼き付いています。

3. 研究活動における日本との違い

研究活動の経験を通して感じた日本との違いとして、「ディスカッションを重んじる」精神が強い点が挙げられます。週に一回行われるラボ内セミナーでは、全ての学生が必ず一回は発言しており、活発な議論が繰り広げられていました。私も発言しようと試みたのですが、英語が早すぎて理解が追いつかず、委縮してしまったのが非常に心残りです。大学敷地内にはおしゃれなカフェ、整備された



写真2 週末のドライブ
グレート・オーシャン・ロードの近くで撮影した
Ben先生とのツーショット。

広場などが点在しており、多くの学生や教員が研究や授業の課題について伸び伸びとディスカッションしていました。日本の大学は、図書館など一人で集中して作業をする環境は整っているが、一方でこのように複数人と快適にディスカッションできるスペースは不足しているのではないかと感じました。

また研究活動とは少し異なりますが、来訪者に対する手厚いおもてなしの精神も感じました。Trevor先生を始めポスドクや学生の方は皆フレンドリーに接して下さり、郊外の観光地に連れて行ってくれたり、高級なオーギー・ビーフをご馳走してくれたりしました。ある日ふと「南十字星」を観てみたいと伝えると、その週末に夜空がきれいなスポットまで車を出してれたこともあり、人の温かさ、優しさを感じながら日々を過ごしていました(写真2)。友好的な関係の構築は、その後のディスカッションをより活発にするためにも必要であり、日本での普段の研究室メンバーとの接し方も考え直さなければと感じました。

4. 海外生活で重要なこと

今回の留学は、人生で初めて一人で海外に行くということもあり、常に大きな不安を感じながら過ごしていました。留学当初は食べ物や生活必需品を確保する方法すら分かりませんでした。また留学の途中でシェアハウスのオーナーの都合で部屋を退去しなければならず、現地で2ヶ月分の宿泊先を探すというトラブルに見舞われました。このような出来事に際し、現地で必要な情報を入手する能力が強く要求されました。私はたまたまシェアハウス先に日本人がいたため、多くの面でアドバイスをもらいながら乗り越えることができましたが、それがなければ研究活動どころではなかったかもしれません。渡航前の準備もちろん大事ですが、渡航後に現地で情報収集する力、調べる力がとても重要だと感じました。

5. 終わりに

本稿では、留学を通して私が感じたことや経験したことをざっくりとお伝えしました。私にとってこの3ヶ月間の留学は、STED法に関するスキルを学べただけでなく、未経験の土地、文化の中で生活したという点で、今後の大きな自信に繋がることは間違いないです。このような貴重な機会を与えてくださった Trevor Smith 先生、指導教員の柴田穰先生に、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。COVID-19の影響で渡航しづらいご時世ですが、本稿を通して一人でも多くの学生が海外での研究に興味を抱いて頂けたら幸いです。

報告記事

第 11 回日本光合成学会年会・公開シンポジウム開催報告

¹ 東京都立大学 理学部生命科学科¹ 静岡大学 理学部生物科学科² 静岡大学 農学部応用生命科学科成川 礼^{1*}、粟井 光一郎²、本橋 令子³

2021年5月28日(金)–29日(土)に第11回日本光合成学会年会・公開シンポジウムをオンラインにて開催しました。200人以上の参加があり、盛会にて恙無く終了しました。オンラインでの開催であったため、ポスター発表を全て一般口頭発表とし、シンポジウムはメイン会場、一般発表はブレイクアウトルーム2会場で同時進行という形で運営しましたが、幸い特に大きなトラブルもなく、順調に開催できました。座長やタイムキーパーの皆さんが時間通りの進行に協力してくれたお陰です。運営は、オーガナイザー3人とタイムキーパー3人に加え、発表の裏側で学会会長の久堀先生と事務局の園池先生と Slack で相談しながら進めるというスタイルでした。オンサイトでの開催の場合、受付やマイク係など、さらに運営にマンパワーが必要なことを考えると、オンラインだからこそ、この人数で運営できた印象です。参加・発表申し込みや優秀賞投票などは全て Google form を活用しました。これは、今後オンサイトの開催となった場合も活用できるかもしれません。また、要旨集への広告掲載に加え、オンラインでの企業出展も2社が応募してくれました。企業出展は、初日の懇親会前に商品紹介プレゼンをしてもらう形式をとり、その後の懇親会ではメيوفォーシス株式会社の担当の方がブレイクアウトルームで実機のデモンストレーションまでしてくれました。色々と苦労はありましたが、オンライン学会の運用について勉強する良い機会となりました。

シンポジウム1では、「酸いも苦いも乗り越えて：光合成と酸化還元」というタイトルで、最前線で活躍されている3人の女性研究者(桶川友季博士、高橋拓子博士、上妻馨梨博士)にご講演いただきました。光合成と酸化還元の密接な関係性について、酸っぱかったり、苦かったり、色々な思いと共に進められた研究について、わかりやすく解説していただきました。シンポジウム2は、オンラインのメリットを最大限に生かした、久堀会長の発案による海外研究者による講演でした。「光合成研究の最先端」というタイトルで、David Kramer 博士、Andreas Weber 博士、John R Evans 博士、Benjamin D. Engel 博士にご講演いただきました。David Kramer 博士には夜遅く、Andreas Weber 博士、Benjamin D. Engel 博士には朝早くであるにもかかわらず、講演をご快諾いただき、光合成業界は素晴らしいコミュニティであると再確認できました。質疑応答も非常に盛り上がり、演者の方々からも好評を頂きました。一般発表では学生や若手研究者の方の発表が多く、質疑応答において活発な議論が展開されていました。今後の年会において、一般口頭発表の枠組みを設けるのも良いかもしれません。

昨年予定していた静岡でのオンサイト年会が中止となり、今年こそオンサイトでの開催を目指しましたが、コロナの状況が改善せず、オンラインでの開催となりました。しかし、企業出展や海外の研究者の講演など「オンラインだからこそ」できることも発見できたと思います。次回の開催形態がどのようになるかは分かりませんが、今回のオンライン年会での経験を踏まえ、新しい年会のあり方が形成されていくことを願っています。



Zoom オンライン年会の様子

報告記事

第 22 回光合成学会若手の会オンラインセミナー開催報告

東京大学 大学院総合文化研究科
神保 晴彦

2021 年度最初の光合成学会若手の会セミナーは、本会翌日の 5 月 30 日（日）に zoom において開催されました。若手の会セミナーにおいては、台湾・米国・ドイツからそれぞれ海外の若手研究者 3 名をゲストスピーカーとして招きました。今回のセミナーでは 37 名の事前登録があり、国内外の若手研究者が、それぞれ相互作用することによって、ここ数年間で失われていた若手研究者の交流の機会が得られたと思います。運営の力不足で一部演題がキャンセルされてしまった点については、参加者の皆様に大変ご迷惑をおかけいたしました。海外との zoom 会議における問題点を反省して、次回以降活かして参ります。特別企画「PI に聞いてみよう」では、国内で活躍する若手 PI として、大阪府立大学の小林康一先生にお話を伺いました。詳しいセミナーの様子については、大阪府立大の吉原晶子さんが報告記事としてまとめましたので、そちらをご覧ください。

光合成若手の会では、長引くコロナ禍においても若手研究者の交流を図れるように、会長（私）を含む幹事会構成員全員が全力で運営をしていくつもりです。本年度もオンライン開催を基本としますが、国内の感染状況を注視しながらサテライトや対面での開催も考えております。今回のように海外の若手研究者との交流も予定しておりますので、多くの学生・若手研究者・若手と話したい研究者の皆様幅広くご参加いただければと思います。また常時、幹事会に参加したい若手研究者も募集しています。若手の会でやってみたい企画などがあれば、ぜひ一度幹事会メンバーにご相談ください。

次回の光合成若手の会セミナーは 8 月 28 日（土）に、zoom によるオンライン開催にて行います。次回セミナーでは、「研究者の多様なキャリアパスについて考える。」と題して、博士取得後のキャリアについて、企業と大学それぞれのキャリアパスを歩んだ先輩方からお話を伺います。研究職に少しでも興味のある方は、キャリアパスについて非常に役に立つ情報が多いと思いますので、ぜひご参加ください。詳細は光合成若手の会ホームページ

(<https://sites.google.com/site/photosynwakate/>) をご覧ください。



(写真) セミナー後の懇親会では、若手研究者と学生との間で活発な研究交流が行われました。ぜひ、次回セミナーでも懇親会にご参加ください。

報告記事

光合成学会 若手の会 第 22 回セミナーに参加して

大阪府立大学 理学系研究科 生物科学専攻 植物生理学グループ
博士前期課程 1 年
吉原 晶子

2021 年 5 月 30 日に「光合成学会若手の会 第 22 回セミナー」が Zoom にて開催されました。オンライン開催ならではのアメリカ、台湾、ドイツ 3 か国からの研究発表、そして最後には、大阪府立大学の小林康一先生による特別シンポジウムが行われました。また、セミナーの中盤には参加者の自己紹介タイム、終了後には SpatialChat にてオンラインミキサーが開かれ、参加者同士の交流の場も大変充実していました。

個人的にシアノバクテリアのフィコビリソーム(PBS)について興味があったので、渡邊麻衣博士(Freiburg University)による、CpcL-PBS の PSI 環状電子伝達を介した NADPH/ATP バランスの制御についてのご発表が、特に印象に残っています。また、ご自身のキャリアについても話してくださり、海外で活躍されている女性研究者の方から、子育てと研究のバランスや日本との環境の違いなどについてのお話を聞ける貴重な機会となりました。

特別シンポジウムでは、小林康一先生(大阪府立大学)が“Are large budgets essential for modern biological studies?”という演題で講演され、現在に至るまでの研究室のご紹介も交えつつ、取り組まれてきたご研究について楽しくお話していただきました。ご講演を通して、工夫次第では予算の限られた環境であっても面白い報告ができるということを学ばせていただきました。また、個人的には、実験室内に留まらず身の周りの植物などに対しても、些細な変化に気がついたり、疑問を抱いたりできるような視点を大切にしていきたいと思いました。

私は、今回初めて光合成学会若手の会に参加したのですが、様々な角度から意見交換することの価値を再認識する機会となりました。自己紹介では、幅広いポジションの方々の多様な関心を知ることができ、大変刺激を受けました。情報交換の場としても盛り上がり、様々な興味深いお話を聞くことができました。また、参加者同士で顔を見ながら自己紹介をしたことで、その後のセッションでも質問しやすい雰囲気になったと感じました。セミナー終了後のミキサーでは、初対面の方々ともお話することができ、自分の研究について多面的に捉え直すことができました。このような交流を通して、本セミナーから得られるものは非常に多いと実感するとともに、学生でも気軽に参加できるような場を提供して下さっていることに大変ありがたく感じました。本セミナーの主催および本稿を執筆する機会を与えてくださいました神保晴彦先生をはじめ、セミナー関係者の方々と、セミナー参加者の皆様にこの場をお借りしてお礼申し上げます。

事務局からのお知らせ

★入会案内

本会へ入会を希望される方は、会費（個人会員年会費：¥1,500、賛助法人会員年会費：¥50,000）を郵便振替（加入者名：日本光合成学会、口座番号：00140-3-730290）あるいは銀行振込（ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290 名前：ニホンコウゴウセイガツカイ）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。

日本光合成学会会則

第1条 名称及び所在地

本会は日本光合成学会（The Japanese Society of Photosynthesis Research）と称する。会の住所を会長の所属所在地とする。

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、学術誌の発行などの事業を行う。

第4条 会員

1. 定義

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

2. 権利

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

3. 会費

会員および賛助会員は本会の定めた年会費を納めなければならない。

第5条 組織および運営

1. 役員

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

2. 幹事

本会の運営のため、幹事をおく。幹事の任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

3. 編集委員会

本会の発行する学術誌の編集のため編集委員会を置く。編集委員会については別に定める。

4. 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。

5. 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。

6. 事務局

事務局をおき、本会の会計事務、サーバー管理および名簿管理を行う。

7. 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。

8. 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。選挙管理委員会については別に定める。

9. 関連組織

学会に、光合成に密接にかかわる関連組織を置くことができる。関連組織については別に定める。

第6条 総会

1. 招集・構成・議長

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. 報告事項

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. 承認事項

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。

第5 本会則の改正を平成30年5月27日から施行する。

第6 本会則の改正を令和3年5月29日から施行する。

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宰者である等、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。

日本光合成学会役員選出に関する申し合わせ

平成27年5月27日 幹事会

平成30年5月26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。選挙管理委員の任期は2年とし、再任を妨げない。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。

「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。投稿論文として下記の3つのタイプを受け付ける。
「解説」：国際学術誌などに発表された該当分野の研究に関して近年の動向をより網羅的に広い視点で紹介する総説
「トピックス」：国際学術誌などに発表された研究内容で「解説」より狭い範囲の研究に焦点を当て紹介する総説
「研究紹介」：国際学術誌などの専門誌に掲載された原著論文の研究内容を原著論文の筆者が紹介する記事
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. 投稿された原稿について、編集委員会は査読の可否を判断する。査読可と判断された原稿については、編集委員が適切な査読者を選んで査読を依頼し、査読結果に基づいて編集委員が掲載の可否を判断する。編集委員会が不適切と判断した場合には、査読なしで投稿された原稿を却下することがある。
5. 過去に査読を受けて掲載不可と判断された原稿を改訂して再投稿する場合には、編集委員と査読者宛に、各査読コメントを改訂稿にどのように反映したか、また反映しなかった場合はその理由を明確に記載し、投稿する原稿に添付する必要がある。
6. 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。
7. 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。
8. 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、冊子体ではグレイになる場合がある。
- (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7月22日改訂

幹事会名簿

秋本 誠志	神戸大学大学院理学研究科	高林 厚史	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 歩	北海道大学低温科学研究所
池内 昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	田中 寛	東京工業大学化学生命科学研究所
石北 央	東京大学大学院工学研究科	田中 亮一	北海道大学低温科学研究所
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	谷口 光隆	名古屋大学大学院生命農学研究科
伊藤 繁	名古屋大学	民秋 均	立命館大学総合理工学院
井上 和仁	神奈川大学理学部	田茂井 政宏	近畿大学農学部生物機能科学科
伊福 健太郎	京都大学大学院生命科学研究科	都筑 幹夫	東京薬科大学生命科学部
梅名 泰史	名古屋大学シンクロトロン光研究センター	出羽 毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
得平 茂樹	東京都立大学院理工学研究科	寺内 一姫	立命館大学生命科学部
大岡 宏造	大阪大学大学院理学研究科	寺島 一郎	東京大学大学院理学系研究科
太田 啓之	東京工業大学生命理工学院	輿 達也	東京理科大学理学部
大友 征宇	茨城大学理学部	仲本 準	埼玉大学大学院理工学研究科
大政 謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科	永島 賢治	神奈川大学
小川 健一	岡山県農林水産総合センター生物科学研究所	成川 礼	東京都立大学大学院理学研究科
小俣 達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	南後 守	大阪市立大学大学院理学研究科
垣谷 俊昭	名古屋大学	西田 生郎	埼玉大学大学院理工学研究科
菓子野 康浩	兵庫県立大学理工学部	西山 佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
柏山 祐一郎	福井工業大学環境情報学部	野口 航	東京薬科大学生命科学部
金井 龍二	埼玉大学	野口 巧	名古屋大学理学研究科
神谷 信夫	大阪市立大学複合先端研究機構	長谷 俊治	大阪大学蛋白質研究所
木下 俊則	名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所	林 秀則	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
熊崎 茂一	京都大学大学院理学研究科	華岡 光正	千葉大学大学院園芸学研究科
栗栖 源嗣	大阪大学蛋白質研究所	原 登志彦	北海道大学低温科学研究所
小池 裕幸	中央大学理工学部	彦坂 幸毅	東北大学大学院生命科学研究科
小林 康一	大阪府立大学高等教育推進機構	久堀 徹	東京工業大学研究院化学生命科学研究所
小林 正美	筑波大学大学院数理物質科学研究科	日原 由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
坂本 亘	岡山大学資源生物科学研究所	福澤 秀哉	京都大学大学院生命科学研究科
佐賀 佳央	近畿大学理工学理学部	藤田 祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
櫻井 英博	早稲田大学	古本 強	龍谷大学農学部
佐藤 公行	岡山大学	牧野 周	東北大学大学院農学研究科
佐藤 直樹	東京大学大学院総合文化研究科	増田 真二	東京工業大学生命理工学院
鹿内 利治	京都大学大学院理学研究科	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
篠崎 一雄	理化学研究所植物科学研究センター	松浦 克美	東京都立大学都市教養学部
嶋田 敬三	東京都立大学	松田 祐介	関西学院大学理工学部
沈 建仁	岡山大学異分野基礎科学研究所	真野 純一	山口大学農学部
杉浦 美羽	愛媛大学プロテオサイエンスセンター	皆川 純	基礎生物学研究所
杉田 護	名古屋大学遺伝子実験施設	宮尾 光恵	東北大学大学院農学研究科
杉山 達夫	名古屋大学	宮下 英明	京都大学大学院地球環境学堂
鈴木 祥弘	神奈川大学理学部	宗景 (中島) ゆり	関西学院大学生命環境学部
園池 公毅	早稲田大学教育学部	村田 紀夫	基礎生物学研究所
高市 真一	東京農業大学生命科学部	本橋 健	京都産業大学総合生命科学部
高橋 俊一	琉球大学熱帯生物圏研究センター	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	山本 善治	岐阜大学応用生物科学部
		矢守 航	東京大学大学院農学生命科学研究科
		和田 元	東京大学大学院総合文化研究科

編集後記

5月末に開催された第11回日本光合成学会&シンポジウムは、コロナ禍のためオンライン開催となりましたが、年会の準備・企画委員のご尽力によりスムーズに行われ非常に有意義な年会となりました。パラレルセッションでは学生を含めた若手研究者の多くの発表があり最新データについての活発な議論が行われました。また、シンポジウムではオンラインを活かして、ヨーロッパ、アメリカ、オーストラリアから著名な研究者に参加していただきました。時差のため早朝だったり夜だったりしたにもかかわらず快く講演を引き受けてくださったことに感謝します。また、年会運営に尽力いただいた研究者の皆様にお礼を申し上げます。

さて、今号の表紙は“アストロバイオロジーからの光合成研究へ”のアプローチを手がける滝澤さんに提供いただきました。光合成研究の新しい方向性を感じさせる印象的な写真です。本編では、前号の表紙を飾った長尾さんのトピックス記事、解説特集「収量増加につながる光合成研究」の3報の解説記事を掲載しています。また、若手の会も逆境に負けずオンラインで活動を広げていますので報告記事もご覧ください。ここで紹介する「若手研究者の海外留学レポート」のような国際交流活動が再開されることを願っています。

「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（munckage@kwansei.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2号 (通巻91号) 2021年8月31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
