

光合成炭素代謝の制御機構に関する研究



近畿大学農学部バイオサイエンス学科 准教授 田茂井政宏

光合成生物における炭素代謝は広く知られている一方で、その詳細な制御機構に関しては、いまだ未知な部分が多く残されている。本研究では、植物および藻類の光合成炭素代謝の制御機構を明らかにすることを目的として、(1) 藻類のカルビン回路を構成するチオール酵素は、高等植物のそれらとは異なりレドックスによる活性制御を受けないこと、(2) 藻類のチオール酵素は活性酸素種による酸化失活を受けない（過酸化水素耐性を有する）こと、(3) 藻類の光合成カルビン回路の制御には CP12 という小タンパク質が機能していること、(4) ラン藻には高等植物には存在しない新規酵素フルクトース-1,6-/セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ (FBP/SBPase) が機能していること、を明らかにしてきた。さらにラン藻/真核藻類のカルビン回路酵素は高等植物の酵素とは分子特性が異なることを利用し、これらの遺伝子を導入した形質転換植物を用いて、光合成炭素代謝能（炭素分配）、および窒素を含めた他の代謝系への影響、さらには生産性増大に関する研究成果へと結びつけてきた。その主な成果を以下に述べる。

1. 藻類における光合成カルビン回路の制御機構

藻類の活性酸素消去系酵素システムおよびそれらの局在性の違いなどにより、藻類の光合成カルビン回路の制御機構は高等植物のそれとは異なることが考えられたことから、ラン藻/真核藻類のカルビン回路に関する酵素群の分子特性を明らかにした。高等植物のカルビン回路で機能するチオール酵素であるフルクトース-1,6-ビスホスファターゼ (FBPase), グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH), ホスホリブロキナーゼ (PRK), セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ (SBPase) は、葉緑体内のレドックス状態により活性調節を受けることが知られているが、藻類のチオール酵素には、高等植物のチオール酵素に保存されている活性調節に必要なシステイン残基 (Cys) が欠損しており、フェレドキシン/チオレドキシンによるレドックス調節を受けないことを明らかにした。高等植物葉緑体では、これらの Cys は活性酸素種 (ROS) により容易に酸化され、光合成活性低下をもたらすことが知られてい

る。しかし、ラン藻および真核藻類のチオール酵素は、ROS による酸化失活を受けず、ROS 存在下でも高い光合成活性 (CO₂固定能) を維持している (ROS に対して耐性を有する) ことを明らかにした。一方、レドックスによる活性調節を受けない藻類では、明暗条件下で変化する NADP(H)/NAD(H) 比を感知して、CP12 という小タンパク質が PRK および GAPDH と複合体を形成/解離することによって、細胞内の活性および代謝調節を行うことを明らかにした (図1)。さらに、ラン藻では、真核光合成生物には存在しない新規酵素フルクトース-1,6-/セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ (FBP/SBPase) が機能しており、カルビン回路の二つの律速段階 (FBPase および SBPase) を同調させることにより、カルビン回路を制御していることを明らかにした。このように、高等植物と藻類においては、カルビン回路の制御機構が異なることを明らかにした (図2)。

2. 高等植物における光合成炭素代謝制御機構の解明

高等植物における光合成炭素代謝能の制御機構を明らかにするために、藻類の遺伝子を導入することによるカルビン回路の強化が、光合成能および炭素代謝系に及ぼす影響を検討した。ラン藻由来の FBP/SBPase 遺伝子を核ゲノムに導入し、葉緑体で発現させた形質転換植物 (TpF5) は、大気条件下 (360 ppm CO₂) において光合成能が 1.24 倍に増加していた。形質転換体は野生株よりも生育が速く、最終的な背丈および乾燥重量は 1.5 倍に上昇し、根、茎、葉なども著しく発達してい

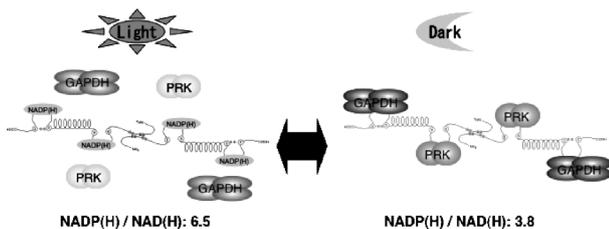


図1 CP12によるカルビン回路酵素の活性制御機構
CP12は明暗のNADP(H)/NAD(H)濃度比の変動により、明期にはNADP(H)と結合しているが、暗期にはPRKおよびGAPDHと複合体を形成することでサイクルの制御を行っている。

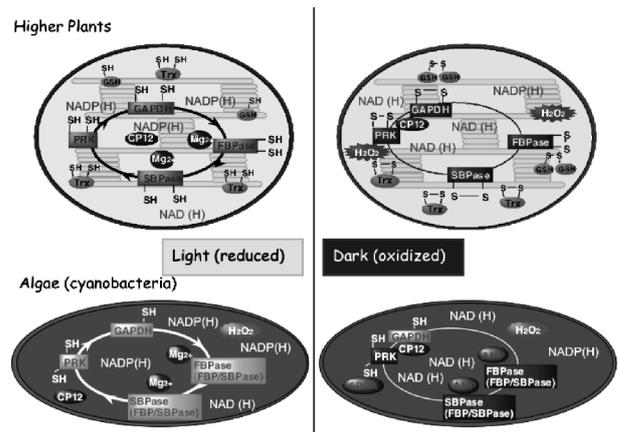


図2 高等植物および藻類の明暗によるカルビン回路制御機構の違い

高等植物葉緑体では、フェレドキシン/チオレドキシン系を介して、明暗条件に伴うレドックス状態によりカルビン回路のチオール酵素活性が制御されている。藻類では、高等植物で機能しているフェレドキシン/チオレドキシン系が機能しておらず、CP12がカルビン回路の制御系として機能していることを明らかにした。また、ラン藻の新規酵素FBP/SBPaseが、二つの酵素として機能していることを明らかにした。

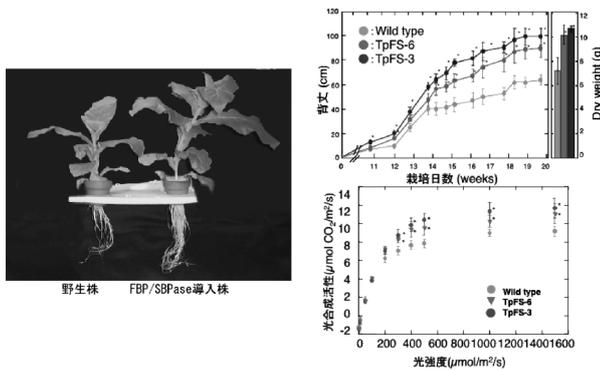


図3 ラン藻 FBP/SBPase を葉緑体に導入することによりカルビン回路を強化した形質転換植物
播種後 18 週目の野生株とラン藻 FBP/SBPase を導入した形質転換タバコ。形質転換体は野生株と比較して生育が速く、平均背丈および乾燥重量が野生株の 1.5 倍に、光合成活性 (CO₂ 固定能) は野生株の 1.24 倍に増加していた。

た (図 3)。光合成最終産物であるヘキソース、ショ糖、デンプンは野生株と比較して有意な増加が認められた。さらに、ラン藻およびクラミドモナスより単離した FBPase および SBPase をそれぞれ単独で葉緑体で発現させた形質転換植物の解析により、FBPase および SBPase のいずれもカルビン回路での炭素の流れの調節に重要であるが、特に SBPase は RuBP 再生に、FBPase はデンプン合成への炭素の流れを制御していることが明らかになった。一方、細胞質で FBP/SBPase を発現させることにより、ショ糖合成系を強化した形質転換タバコは、通常 CO₂ 環境下では植物の生育に大きな影響を及ぼさないが、高 CO₂ 環境下では側枝が増加し、光合成機能および形態形成能に大きく影響を及ぼすこと、すなわち光合成産物の分配比が、植物の生長や形態形成を制御する大きなファクターであることを明らかにした。また、高濃度のショ糖存在下において、発芽時の葉緑体構築に異常を示す変異体を解析することにより、光合成機能と窒素代謝のバランス制御にはプラスチド局在のインペルターゼが機能しており、葉緑体内のショ糖/ヘキソースがシグナルとなり光合成および窒素代謝に関わる遺伝子群の発現制御を行っていることを明らかにした。現在、これらの形質転換植物を用いて、炭素・窒素代謝制御に関わる分子機構解明を試みている。

3. 光合成炭素代謝能改変による植物の生産性向上に関する研究

核ゲノムへのラン藻由来のカルビン回路関連酵素遺伝子の導入により光合成機能増大、生育促進・収量増大が見られたのは、これら酵素遺伝子が高等植物の酵素とは相同性がなく、活性調節機構が異なることから、ジーンサイレンシングなどの負の影響が見られなかったことが原因であると思われる。核ゲノムへの遺伝子導入では、FBPase および SBPase 活性は野生株の 2 倍程度にまでしか上昇させることができなかったが、より活性を増加させることにより、光合成機能の向上が予想された。そこで、導入遺伝子を高発現できる葉緑体形質転換技術の確立により、タバコ葉緑体ゲノムに FBP/SBPase 遺伝子を導入した植物を作出したところ、葉緑体内での高タンパク質蓄積により、光合成能は野生株の約 1.7 倍に、乾燥重量は約 1.8 倍に上昇した。これらの成果は、光合成機能増大、代謝バランス改善による植物バイオマス増産に大きく貢献すると考え、現在レタス、イネ、ジャガイモ、サツマイモなどの作物への応用を検討している。

本研究は近畿大学農学部バイオサイエンス学科植物分子生理学研究室 (旧 食品栄養学科 栄養化学研究室および食品分子生理学研究室) で行われたものです。本研究を行う機会を与えていただくとともに、研究者としての道を拓かせていただき、公私にわたり終始ご指導、ご鞭撻をいただきました近畿大学農学部教授 重岡 成先生に心より感謝申し上げます。長年にわたり、常日頃から数々の激励と暖かいご助言を賜りました近畿大学農学部教授 深溝 慶先生、奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科教授 横田明穂先生、大阪府立大学名誉教授 中野長久先生 (現 大阪女子短期大学学長)、和田野晃先生 (現 羽衣国際大学人間生活学部教授) に深謝いたします。また、共同研究者として多大なご協力をいただいた島根大学生物資源科学部 石川孝博教授、中部大学応用生物学部 吉村和也博士、鳥取大学農学部 藪田行哲博士、近畿大学農学部丸田隆典博士、田部記章博士、多淵知樹博士、東田(宮川)佳子博士、武田 徹博士、横井(西澤)彩子博士、大鳥久美女史、作山治美女史に感謝いたします。さらに、本研究に関わりこれまで支えてくれた近畿大学農学部の院修了生、卒業生ならびに現研究員、院生、学部学生諸氏に感謝いたします。最後に、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会関西支部長・井上國世先生 (京都大学大学院教授) ならびにご支援を賜りました農芸化学会関西支部の諸先生方に厚く御礼申し上げます。