

光合成により生じたデンプンの新たな機能を発見

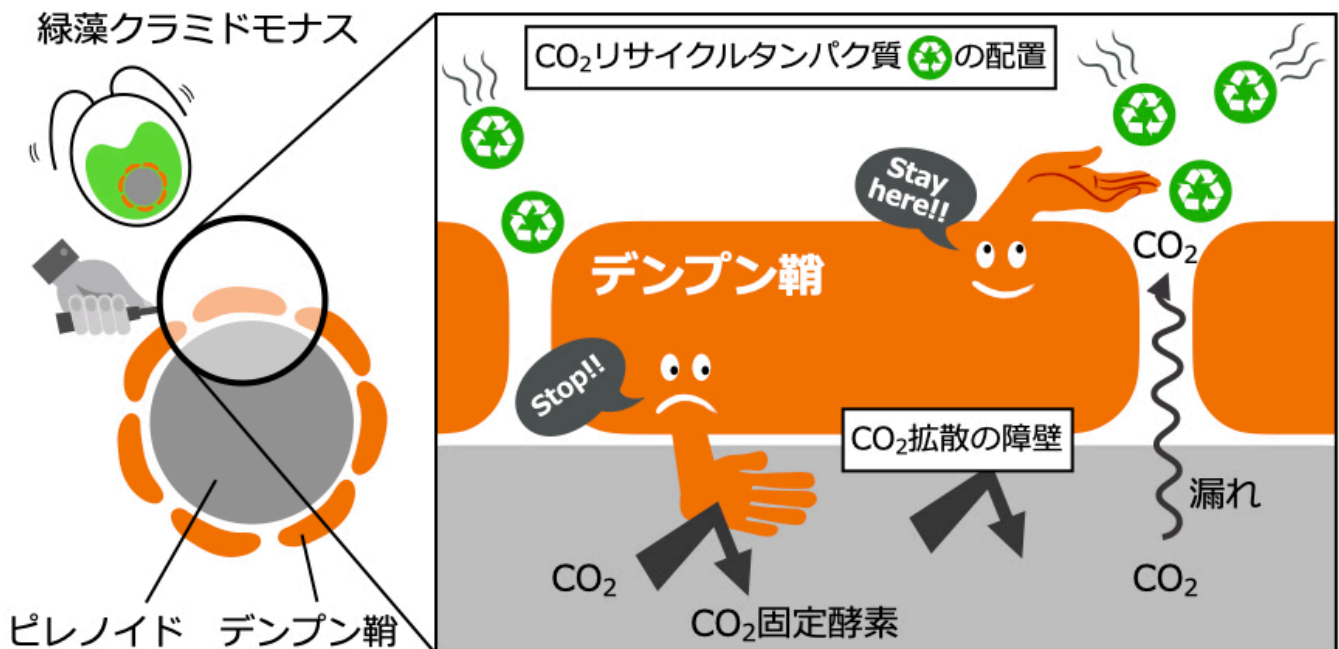
概要

京都大学大学院生命科学研究科 豊川知華 博士課程学生、山野隆志 同講師、福澤秀哉 同教授の研究グループは、光合成により生じたデンプンの新たな機能を発見しました。

植物は太陽光のエネルギーを利用して二酸化炭素（ CO_2 ）を固定し、炭水化物（ショ糖やデンプン）を蓄積します。水中に生息する多くの藻類では、 CO_2 の固定酵素がピレノイドと呼ばれる構造に集積し、光合成によって生じたデンプンがその周囲を取り囲む「デンプン鞘」と呼ばれる構造をとることが知られています。ピレノイドは、約200年前に発見され、今では CO_2 が欠乏する環境で光合成を維持するために必要とされていますが、貯蔵物質であるデンプンがピレノイドの周りに集まる意義については不明でした。

本研究グループは、モデル生物の緑藻クラミドモナスから、ピレノイドの周囲にデンプン鞘を形成できない変異株を調べました。そして、デンプン鞘が、ピレノイドから拡散して漏れ出る CO_2 の物理的な障壁となるだけでなく、漏れ出た CO_2 をリサイクルするタンパク質をデンプン鞘の周りに正しく配置するのにも必要であり、デンプン鞘自身の構造が光合成の効率低下を防ぐ機能を持つことを発見しました。本研究は、貯蔵物質として教科書に記載されてきたデンプンの新しい機能的側面を明らかにした成果であるとともに、藻類のピレノイドを陸上植物に導入し、作物の生産性向上につなげようとする応用研究の礎となることが期待されます。

本研究成果は、2020年4月6日に国際学術誌「Plant Physiology」のオンライン版に公開されました。



1. 背景

植物は、太陽光のエネルギーを利用して空気中の二酸化炭素 (CO_2) と水から炭水化物を作る光合成を行い、地球上の全ての生命活動を根底から支えています。特に、 CO_2 の供給は光合成の反応速度を制限する要素となることから、植物が CO_2 を効率的に細胞の中に取り込み、 CO_2 固定^{注1)} を行うメカニズムを理解することは重要です。地球温暖化に関わる大気中の CO_2 濃度の上昇が問題になっている現在、作物の光合成を改良し CO_2 を固定する能力を向上させることで、 CO_2 削減に貢献しようとする研究も盛んに行われています。

植物細胞の中で、光合成を活発に行う場所は葉緑体です。葉緑体の中にはチラコイドと呼ばれる袋のような構造があり、その膜上に光合成を行う装置がたくさん並んでいます。さらに、葉緑体の中には CO_2 を固定する酵素であるリブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) が大量に存在しており、その頭文字をとって Rubisco (ルビスコ) と呼ばれています。植物が光合成により CO_2 を固定するためには、 CO_2 を細胞の外から葉緑体の中のルビスコへと運ぶ必要があります。

陸上植物では、葉の表皮にある気孔が開閉して、 CO_2 が拡散によって葉緑体の中に取り込まれる量を調節しています。一方、水中では CO_2 の拡散速度は大気中の 10,000 分の 1 に低下するだけでなく、 CO_2 は水と反応して重炭酸イオン (HCO_3^-) の形で多く存在しています。無極性分子である CO_2 とは異なり、電荷を帯びた HCO_3^- は細胞の生体膜 (細胞膜や葉緑体包膜) を通過することができません。従って、水中に生息する藻類は、 CO_2 を拡散によって細胞内に取り込むことが難しく、光合成に不利な CO_2 欠乏環境にさらされます。そのため、水中に生息する多くの藻類は、1) 細胞膜や葉緑体包膜を介して HCO_3^- を能動的に取り込む輸送体、2) 取り込んだ HCO_3^- を葉緑体内で CO_2 へと変換する炭酸脱水酵素、3) 大量のルビスコを狭い区画に閉じ込め、 CO_2 への親和性を上昇させる構造を獲得し、 CO_2 が欠乏した環境においても光合成を維持し生存することができるよう進化してきました。この仕組みは、 CO_2 濃縮機構 (CO_2 -concentrating mechanism, CCM) と呼ばれ、それを持たない陸上植物の光合成を効率よく改変するのに利用できるのではないかと注目されています。

我々は、単細胞緑藻クラミドモナス^{注2)} を CCM のモデルとして研究材料に使い、CCM を駆動するために重要な HCO_3^- 輸送体や (2015年5月27日京都大学プレスリリース「藻類の光合成を支える二酸化炭素濃縮システムを解明」を参照)、 HCO_3^- 輸送体の発現を調節するカルシウム結合タンパク質 (2016年10月28日京都大学プレスリリース「光合成のターボエンジン CO_2 濃縮機構が葉緑体を介して制御される仕組みを新たに発見」を参照) などを発見してきました。クラミドモナスを含む真核藻類では、ルビスコは葉緑体の一区画に密に閉じ込められ、その構造体はピレノイド^{注3)} (pyrenoid) と呼ばれています (図1)。ピレノイドの周囲には光合成の同化産物であるデンプンが集まることから知られています。この構造はちょうど刀の鞘のように見えるため、デンプン鞘 (starch sheath) と呼ばれています。また、炭酸脱水酵素の構造上の特長をもつタンパク質 Low- CO_2 inducible protein B (LCIB) が、CCM の誘導に伴ってピレノイド周囲に移動し、ピレノイドから漏れ出る CO_2 を HCO_3^- へと変換することで CO_2 のリサイクルに関わると考えられています。しかし、LCIB がピレノイドへ局在するために必要な因子や、デンプン鞘の生理学的な意義については明らかではありませんでした。

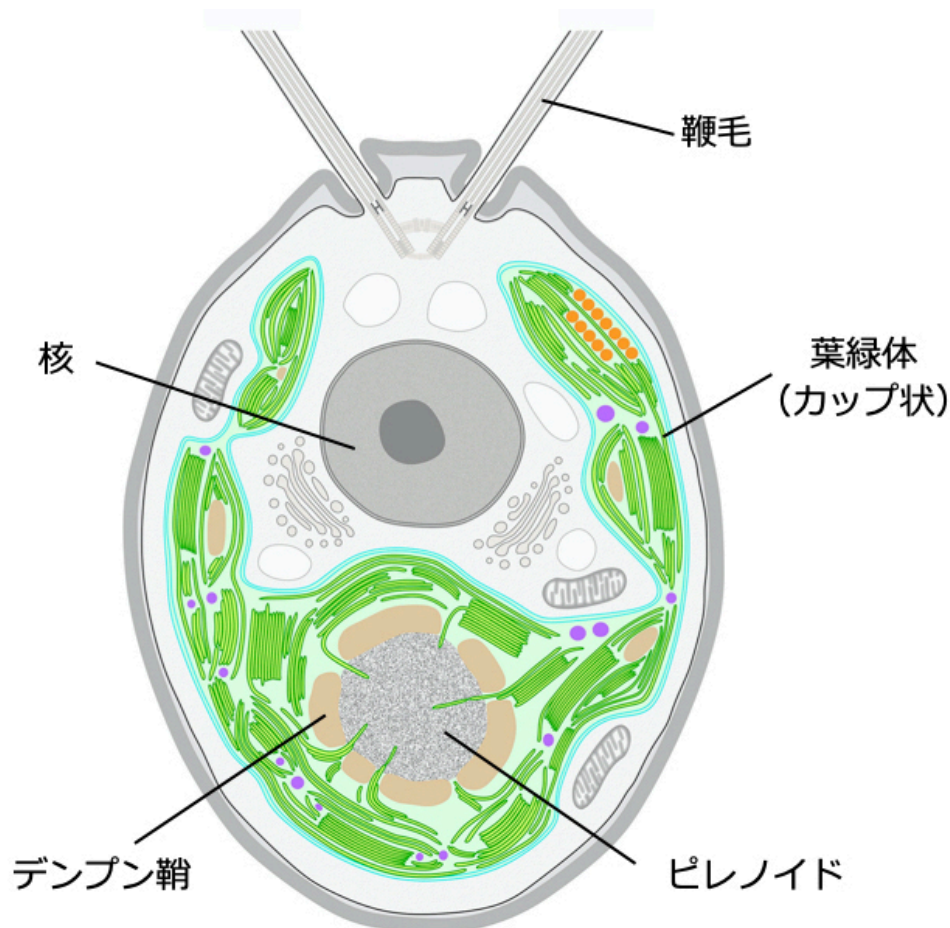


図1. 緑藻クラミドモナスの細胞内構造（ドイツマックス・プランク生化学研究所のBenjamin Engel博士より提供された図を、許可を得て改変）クラミドモナスは葉緑体と核を1つずつ持つ単細胞の真核緑藻である。2本の鞭毛を平泳ぎのように動かしながら遊泳する。カップ状の葉緑体の中に、CO₂固定酵素ルビスコが凝集したピレノイドと呼ばれる構造を1つ持つ。ピレノイドの周りには、光合成により生じたデンプンが取り囲み、デンプン鞘と呼ばれる構造を形成する。

2. 研究成果

本研究では、LCIB がピレノイド周囲に局在化するために必要な因子を明らかにすることを目的とし、順遺伝学的なアプローチにより、LCIB の局在が異常になった変異株のスクリーニングを進めました。LCIB のピレノイドへの移動が遅延し、葉緑体の基底側に LCIB が異常凝集する変異株 4-D1 は、デンプン枝切り合成酵素 isoamylase 1 (ISA1) の遺伝子が破壊されており、ピレノイドの周囲のデンプン鞘が形成されませんでした。また、4-D1 株では光合成における無機炭素に対する親和性が低下し、野生株に比べて生育が遅延しました。さらに、デンプン鞘を形成できない他の変異株についても調べたところ、4-D1 株と同様に、LCIB の局在異常と生育遅延の表現型を示すことが分かりました（図2）。

以上の結果から、これまで役割が理解されていなかったデンプン鞘が、光合成の効率を維持する機能を持つことが分かりました。つまり、デンプン鞘はピレノイドから拡散して漏れ出る CO₂ の物理的な障壁となること、そして、それでも漏れ出た CO₂ をリサイクルする LCIB をデンプン鞘の周りに正しく配置するのに必要であることを明らかにしました。デンプン鞘が形成できない変異株では、デンプン鞘による CO₂ の拡散障壁としての機能が失われただけでなく、LCIB が葉緑体の基底側で凝集するため、CO₂ をリサイクルする機能の一部も失われ、無機炭素に対する親和性が低下し、生育が遅延したと考えられます。

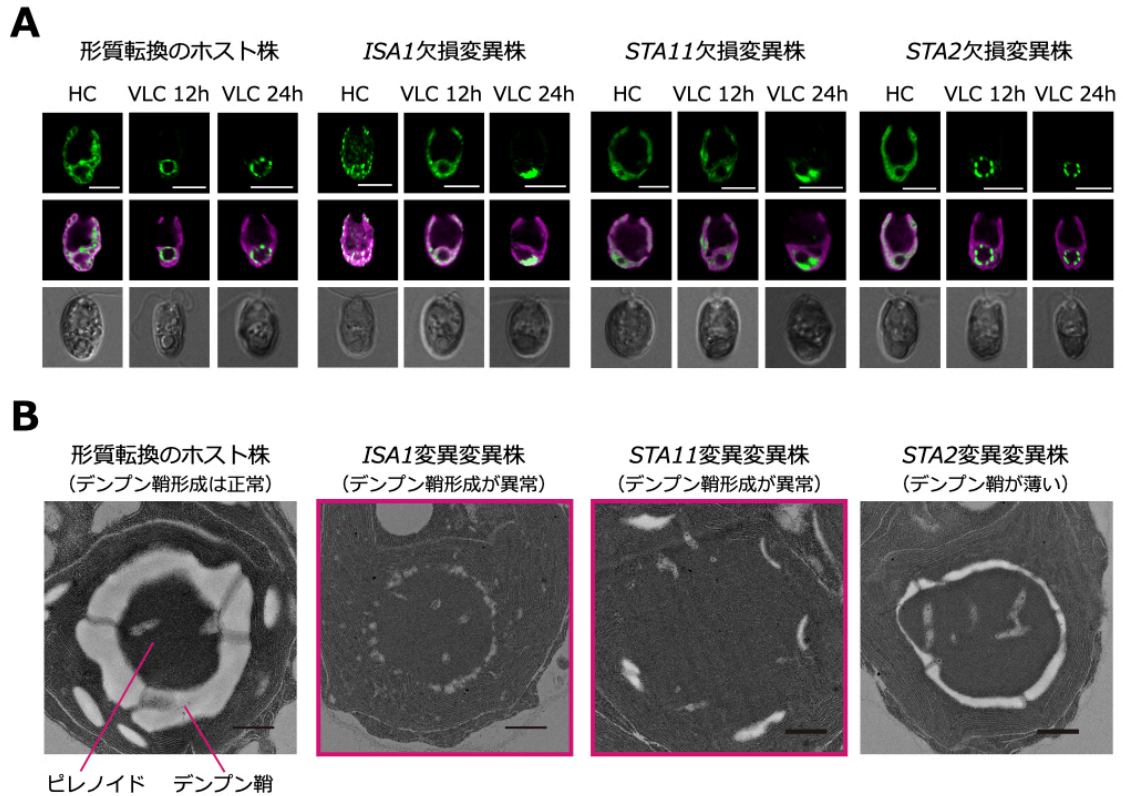


図 2. (A) 形質転換に用いたホスト株、*ISA1*欠損変異株、*STA11*変異株、*STA2*欠損変異株における LCIB の局在を、蛍光タンパク質 Clover と LCIB の融合タンパク質を用いて可視化した。上段：LCIB-Clover の蛍光像。中段：LCIB-Clover とクロロフィル蛍光の重ね合わせ像。下段：細胞の微分干渉像。スケールバーは 5 μm 。HC: 5%の CO_2 を含む空気を通気した培養条件で、 CO_2 濃縮機構は誘導されない。VLC: 0.04%の CO_2 を含む空気を 12 時間 (12h) あるいは 24 時間 (24h) 通気した培養条件で、 CO_2 濃縮機構が誘導される。(B) ホスト株、*ISA1*欠損変異株、*STA11*変異株、*STA2*欠損変異株のピレノイドとデンブン鞘の透過型電子顕微鏡写真。デンブン鞘の形成が異常になった *ISA1*欠損変異株と *STA11*欠損変異株は LCIB の移動が遅延し、葉緑体の基底側に凝集した。*STA2*欠損変異株はデンブン鞘が薄い、LCIB の局在は正常であった。スケールバーは 0.5 μm 。

3. 研究の意義と今後の展開

現在の地球環境は、温暖化・食糧不足・エネルギー枯渇などの様々な問題を抱えています。これに対して、藻類が持つ CCM を利用・改変し、光合成の能力を極限まで高めた植物を創出することで解決しようとする試みが世界的な競争のなか進められています。例えば、イネやコムギなどの主要作物の細胞の中にピレノイドを合成し、CCM を駆動させることで、 CO_2 の吸収量と生産量を高めることを目的とした研究が進められています。そのためには、CCM の「分子設計図」が必要です。本研究の結果から、CCM を駆動するためにはピレノイドの合成だけでは不十分であり、ピレノイドの周りにデンブン鞘を形成させ、LCIB を正しく配置させることが必要であることを示した新しい分子設計図を提案しました。また、植物細胞の中でピレノイドを維持するためには、その分裂や生成に関わる因子の情報も必要であり、その解明にはより多くの変異株を調べる必要があると考えられます。本研究グループは、大規模かつ超高速に藻類の変異株をスクリーニングできる技術である画像活性型細胞選抜法の実証に成功しており(2018年9月5日京都大学プレスリリース「世界初の Intelligent Image-Activated Cell Sorter を開発 -細胞画像の深層学習により高速細胞選抜を実現-」を参照)、今後はこのような技術を用いることで、ピレノイドを中心とした CCM の分子設計図の理解を深める研究が進んでいる

くものと期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、科学研究費補助金、JST「先端的低炭素化技術開発」、ImPACT「セレンディピティの計画的創出による新価値創造」、京都大学リサーチ・ディベロップメントプログラム「いしずえ」の支援を受けました。

<用語解説>

注¹) **CO₂固定**: 炭素固定、炭酸同化とも呼ばれる。植物が光合成で得られたエネルギーを用いて、空気中から取り込んだCO₂を同化する反応で、糖やデンプンなどの有機物を合成する反応を含める事が多い。

注²) **クラミドモナス**: 単細胞の緑藻の一種。クラミドモナスといえば *Chlamydomonas reinhardtii* (和名はコナミドリムシ) を指すことが多い。本研究でもこのコナミドリムシを用いている。細胞の大きさは1 mmの100分の1に相当する約10 μm。光合成、鞭毛運動、生殖などの基礎研究だけでなく、バイオ燃料生産を目指した応用研究を含めたモデル生物として世界中で利用されている。脳研究で使われる手法のオプトジェネティクスでは、眼点に局在するチャンネルロドプシンが利用されている。

注³) **ピレノイド**: 藻類の葉緑体内に見られる構造で、最初の発見は1803年に神学者 Vaucher がアミミドロ (網目の形をした淡水性藻類) を観察したスケッチに遡る。その後 Schmitz (1882) が、藻類の葉緑体を顕微鏡で観察した時に見える屈折率の高い球状の物質をピレノイド (pyrenoid: ギリシャ語で pyren は果実の核、eidos は形を意味する) と名付けた。CO₂固定酵素である Rubisco が密に詰まっている。Rubisco の酵素としての触媒速度の遅さや基質となるCO₂への親和性の低さを解消するために、Rubisco の活性部位をCO₂で飽和させる役割があると考えられている。

<研究者のコメント>

人類の幸福には食糧自給率の向上と、生産性の高い作物が求められています。生産性を左右する光合成は、CO₂を原料とするので、環境中のCO₂濃度に左右されます。本研究は、植物プランクトン (微細藻) の小さな細胞の中身を何千個と観察して、環境中のCO₂濃度変化に対して予想外の振る舞いを示した変異株を偶然見つけたことから始まりました。微細藻の生存に必須であるCO₂濃縮機構を解き明かし、これを利用することで光合成による生産性を向上するという夢を、近い将来実現したいと考えています。詳細は、研究室のHP (<http://www.molecule.lif.kyoto-u.ac.jp>) を参照して下さい。

<論文のタイトルと著者>

タイトル: Pyrenoid Starch Sheath Is Required for LCIB Localization and the CO₂-Concentrating Mechanism in Green Algae. (ピレノイドのデンプン鞘は、緑藻におけるLCIBの局在とCO₂濃縮機構に必要である)

著者: Chihana Toyokawa, Takashi Yamano, Hideya Fukuzawa

掲載誌: Plant Physiology 182(4):1883–1893 (2020)

DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.19.01587>