

# 研究報告書

## 「変動する光環境下における光合成制御メカニズムの解明と応用展開」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 25 年 10 月～平成 29 年 3 月

研究者: 矢守 航

### 1. 研究のねらい

光合成は植物のバイオマスを決定する非常に重要な代謝である。しかし、地球上で光合成能力が十分に発揮される環境は限られており、様々な環境ストレスが植物の生産性を低下させている。強光下では、過剰な光エネルギーが蓄積して、光障害が生じる。一方で、弱光下では、光強度が光合成反応を律速する。さらに、植物の受ける光強度は一日を通して常に変動している。個々の葉が置かれた光環境は、晴れ／曇りという天候の影響を直接受ける、また、晴れの日であっても雲の存在や、上部の植物体の葉や茎による相互被陰によって大きく変化する。定常状態下では、光強度と光合成速度との間に一定の関係がある。しかし、葉は光強度の突然変化に応じて、すぐに光合成速度の定常状態に到達することがなく、変動光環境下では、定常状態下での光強度と光合成速度の関係から推定した光合成速度と比べ、光合成速度が著しく低下する。光環境が大きく変動する自然環境を考えると、「変動する光環境下における光合成能力の強化」は、食糧とエネルギー不足および大気 CO<sub>2</sub> 削減などの非常に重要な問題と直結している。

弱光から強光に移したときの光合成速度は、1-2 分の間に急速に上昇し、その後、時間と共にゆっくり光合成速度が上昇する(これを光合成誘導反応と言う)。この際に、1) 電子伝達速度、2) 炭酸固定反応の光活性化、3) 気孔開口の 3 つの要因が光合成を律速すると提案されていたが、その詳細な分子メカニズムについては未解明な点が多かった。そこで本研究課題では、全ての三項目に着目し、変動する光条件下における光合成応答機構を解明すること、また、4) 変動光を利用したハイスループットスクリーニングによって、変動光環境下において光合成制御に働く新奇遺伝子を特定して、自然環境下において植物の光合成効率や生産性を向上するための分子基盤を解明することを研究目的とした。

### 2. 研究成果

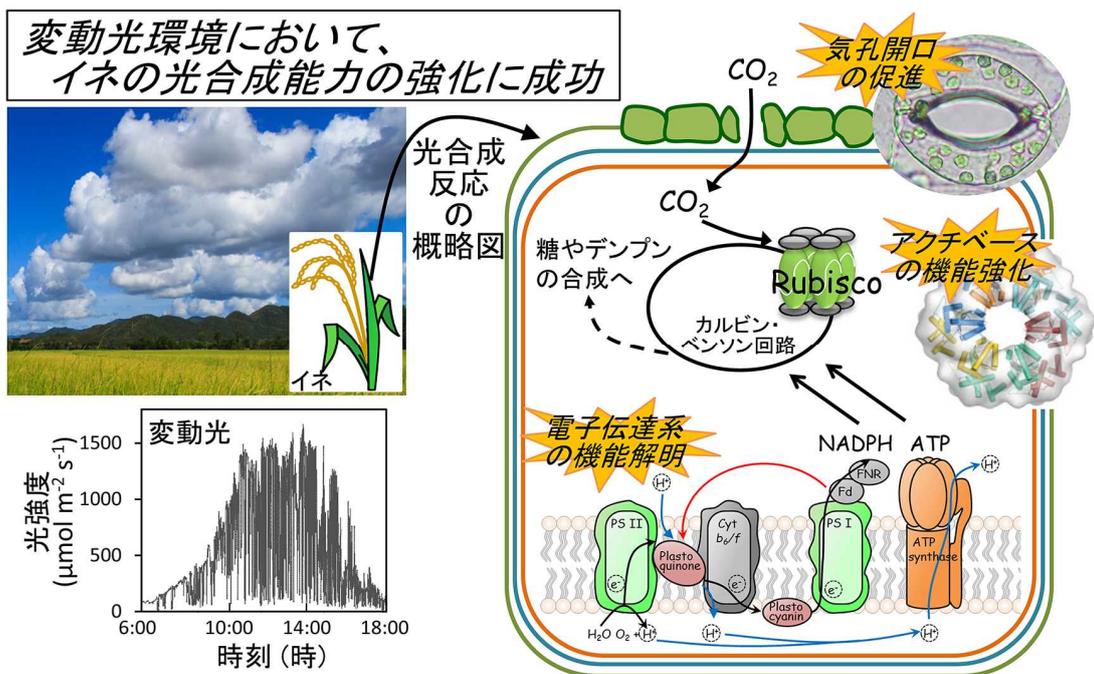
#### (1) 概要

光合成電子伝達に関わる形質転換体を用いた解析結果から、個葉の光合成能力を強化することによって、植物成長および収量を増加させることが可能であることを示した(原著論文 4)。そこで、光環境が大きく変動する自然環境下における光合成能力の強化を目指し研究を行った。光が葉に照射されると、第一に電子伝達系が駆動してチラコイド膜内外のプロトン濃度勾配 ( $\Delta pH$ ) が形成され、その際にサイクリック電子伝達経路が  $\Delta pH$  の形成に重要であることを示した(原著論文 3)。高等植物におけるサイクリック電子伝達には、PGR5 タンパク質と NDH 複合体が関与することが報告されているが、これら二つのサイクリック電子伝達経路が長期的な変動光環境下において重要な役割を果たすことを明らかにし(原著論文 3, 6)、自然環境下における光合成の環境適応能力の強化に向けた分子基盤となった(原著論文 2, 5)。

光照射後の光合成誘導時に電子伝達系が活性化した後、炭酸固定反応を触媒する鍵酵素「Rubisco」の活性化状態が光合成速度を律速することを示した(原著論文 3)。Rubisco 活性化の調節を担うのがアクチベースであると報告されている。そこで、イネにおいてアクチベースの過剰発現体を作製した。アクチベースの過剰発現によって、近未来に予想される高 CO<sub>2</sub> 濃度環境において、変動する光環境下における光合成能力の強化に成功し、最終的に 15%の植物成長の促進につながることを明らかにした(論文投稿準備中)。

さらに、光合成誘導時に気孔が十分に開口していない場合には、炭酸固定が始まると、瞬時に葉内 CO<sub>2</sub> 濃度が減少し、CO<sub>2</sub> 濃度が炭酸固定の大きな律速要因になることを示した(原著論文 3)。また、気孔が開口し続ける *slac1*(sow anion channel1) 欠損変異体イネでは、野生株に比べて、光強度が常に変動する野外環境において、一日を通して高い光合成活性を維持することを明らかにした(論文投稿中)。同様に、気孔が開口し続ける各種シロイヌナズナ変異体/形質転換体を用いた解析結果から、長期的な変動光環境下では、野生株に比べて植物成長が 13~18%促進されることを明らかにした(論文投稿準備中)。

これらの研究成果は、原著論文として国際誌で発表された他、プレスリリースや新聞報道などによっても、一般社会に公開された。

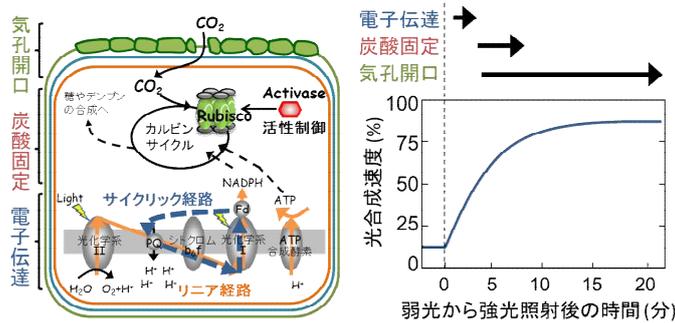


本研究の概要: 変動する光環境下における光合成効率の改善

## (2) 詳細

光照射後の光合成誘導には、1) 電子伝達反応、2) 炭酸固定反応(特にRubisco)の活性化、3) 気孔開口、の3つの要因が関わっていることを明らかにしてきた(原著論文 5)。本研究課題では、それぞれの項目において、変動する光環境下における光合成能力の強化を目指した。また、4) 変動光を利用したハイスループットスクリーニングによって、変動光応答に関連する新奇遺伝子を単離し、自然環境下において植物の光合成効率や生産性を向上するための

分子基盤を解明することも研究目標とした。

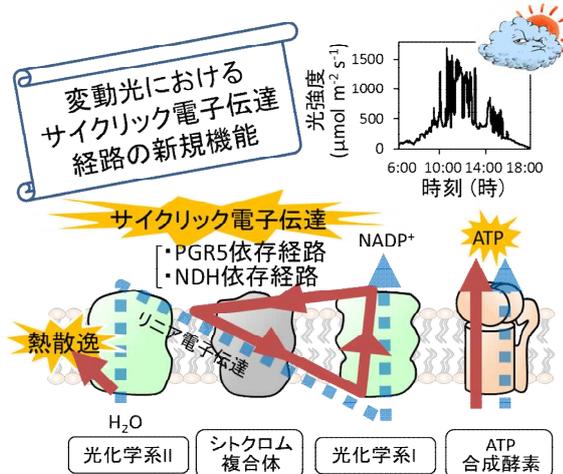


### 光合成反応の概略図

弱光から強光に移したとき、1) 電子伝達、2) 炭酸固定反応の光活性化、3) 気孔開口の3つの要因が光合成を律速する。

### 研究テーマ1「電子伝達系の強化による光合成促進」

光合成における電子伝達系はリニア電子伝達系とサイクリック電子伝達系に大別される。特に、サイクリック経路はチラコイド膜内外の $\Delta H$ の形成を介して、ATPの供給や過剰エネルギーの熱放散過程を活性化すると報告されている。高等植物では、PGR5タンパク質とNDH複合体の二つがサイクリック電子伝達に関与する(原著論文 2)。本研究課題では、NDH依存経路とPGR5依存経路の発現抑制体イネを用いることによって、二つのサイクリック経路が光照射後の光合成誘導のスターターとして機能し、長期的な変動光環境下においては、過剰エネルギーの散逸によって光阻害を軽減する役割があることを明らかにした(原著論文 3)。さらに、弱光と強光を繰り返す変動光環境において、PGR5依存経路は強光下において、また、NDH依存経路は弱光下において重要な役割を果たすことが明らかになり、二つのサイクリック電子伝達において機能が異なる可能性を提案した(原著論文 3, 6)。本研究成果によって、サイクリック経路は変動光環境において光合成制御の中核とも言える役割を果たすことを明らかにし、自然環境下における光合成の環境適応能力の強化に向けた分子基盤となった(原著論文 2, 5)。



### 研究テーマ2「アクチベースの機能強化による光合成促進」

Rubiscoはカルビン-ベンソン回路において炭酸固定反応を触媒する鍵酵素であり、現在の大气CO<sub>2</sub>濃度において光合成を律速すると考えられている。Rubiscoの活性化は、アクチベースという別のタンパク質によって制御されている。先行研究によって、アクチベース量を減少させたタバコやイネの形質転換体では、野生体に比べて、光照射後の光合成誘導時間は遅いことが報告された(Hammond et al. 1998, The Plant Journal; Yamori et al. 2012 The Plant Journal)。そこで、アクチベース量を増加させた形質転換体イネを作製して解析を行ったところ、アクチベース量の増加と共に光照射後の光合成誘導が促進されることを見出した。さらに、アクチベースの過剰発現によって、近未来に予想される高CO<sub>2</sub>濃度環境下において、変

動光環境下における光合成能力の促進に成功し、最終的に 15%の植物成長の促進につながることを明らかにした(論文投稿準備中)。

#### 研究テーマ 3「気孔開度の向上による光合成促進」

気孔開度が定常状態における光合成速度および植物成長における制限因子であることは多くの先行研究において示されてきた。しかしながら、気孔開度が変動光環境下における光合成に及ぼす影響については不明瞭な点が多い。近年、気孔分化に関わる因子(たとえば、気孔の数や密度の決定因子である Stomagen; Sugano et al. 2009, Nature)や、気孔開閉を制御するタンパク質(SLAC1; Negi et al. 2008, Nature、PATROL1; Hashimoto-Sugimoto et al. 2013, Nature Communications)が報告されている。そこで、気孔開閉に関与する変異体イネを用いて、気孔開口が変動光環境下における光合成応答に及ぼす影響について解析した。気孔が開口し続ける *slac1*(sow anion channel) 欠損変異体イネでは、野生株に比べて、光照射後の光合成誘導が著しく促進されることを見出した。また、*slac1* 欠損変異体イネは野生株に比べて、光強度が常に変動する野外環境において一日を通して高い光合成活性を維持することを示した(論文投稿中)。

さらに、気孔開閉に関連するシロイヌナズナの各種変異体/形質転換体を用いて実験を行った。具体的には、CO<sub>2</sub> や ABA などの気孔閉鎖シグナルに応答せず、常に気孔を開いたままの表現型を示す *slac1* 欠損変異体と *ost1*(open stomata 1) 欠損変異体、また、気孔開口に重要な H<sup>+</sup>-ATPase の局在を決定する *patrol1*(proton ATPase translocation control 1) 過剰発現体シロイヌナズナを用いた。その結果、気孔開口の改善によって、変動光環境下において光合成能力が強化され、長期的な変動光環境下において、植物成長が 13~18%促進されることを示した(論文投稿準備中)。

#### 研究テーマ 4「変動する光環境下において光合成制御に働く新奇遺伝子の単離」

変動光環境に対する植物の応答機構を分子レベルで解明し、変動する光環境下における光合成能力を増強する目的で、シロイヌナズナの T-DNA 挿入変異系統集団から大規模な変異体スクリーニングを行った。複数個体の光合成能力を一度に可視化できるイメージング PAM 装置を駆使し、これまでにシロイヌナズナの T-DNA 挿入変異体の種子 50,000 粒以上のスクリーニングを終え、変動光に感受性を示す個体と耐性を示す変異体を 50 系統以上単離した。候補遺伝子の同定を進めることによって、植物の変動光環境に対する新奇応答機構の解明が可能となる。さらに、それらを基に、光強度が変動する自然環境下において、植物の光合成効率をさらに向上させる技術の開発に着実に貢献できるものと考えられる。

### 3. 今後の展開

アクチベースの過剰発現や気孔開度の向上によって、変動する光環境下における光合成能力や植物成長の促進に成功した。また、シロイヌナズナにおいては、気孔開口を促進することによって、変動光環境下における光合成能力と植物成長の促進に成功した。これまでの本さきがけ研究では、変動する光合成応答機構の解明を第一の目標にしているため、人工的に作り出した変動光環境において解析を行ってきた。今後は、光強度が常に変動する野外環境

において、これらの植物が高い光合成能力を有するのか、さらには、成長促進につながるのか、明らかにしていきたい。

シロイヌナズナの T-DNA 挿入変異系統集団から大規模な変異体スクリーニングをおこなうことによって、変動する光環境下において光合成能力が異なる複数の候補株を単離することができた。今後、候補遺伝子の同定を行うことで、変動光環境下における植物の光合成効率を向上させるための分子基盤になると期待できる。また、シロイヌナズナで得られた知見を基に、イネのミュータントパネルから目的遺伝子が破壊された変異体を用いたり、機能強化のために過剰発現することによって、イネにおいて、変動光環境下において高い光合成機能を持つ植物の創出に挑みたい。

#### 4. 評価

##### (1) 自己評価

(研究者)

変動する光環境下における光合成制御メカニズムについては不明な点が多かった。本さがけ研究成果によって、光照射後の光合成誘導には、(1)サイクリック電子伝達による電子伝達系の駆動、(2)アクチベースによる Rubisco 活性化、(3)気孔開口による CO<sub>2</sub> の取り込みのそれぞれが関与することを明らかにすることができた。これらの基盤研究の成果に基づき、変動する光環境下における光合成能力の強化を目指した結果、アクチベースの過剰発現や気孔開度の向上によって、変動する光環境における光合成能力と植物成長の促進に成功した。現在投稿中の論文を除いても、6 報の論文を国際誌に筆頭著者として発表することができた。このように、変動光に対する光合成応答メカニズムの理解に基づいて、光合成や植物成長を促進できたため、本研究課題の当初の目標を達成できたと考えている。

また、シロイヌナズナの T-DNA 挿入変異系統集団から大規模な変異体スクリーニングを行った結果、変動光環境下において重要な役割を果たす候補遺伝子を複数単離することができた。今後、変動する光環境下における光合成応答メカニズムの全貌解明に向けて更なる研究の発展が期待できると考えている。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

矢守氏は、光環境が大きく変動する自然条件下における光合成反応の仕組みを解明し、その成果に基づき、変動光環境下でも高い光合成機能を持つ植物の創出を目指した。その結果、サイクリック電子伝達経路、気孔開口、Rubisco の活性化の寄与を解析することで、変動光環境下での光合成効率を上昇させる要因として Rubisco アクチベースの発現上昇や気孔開度の上昇を見出した。またこれらインパクトのある成果を積極的に論文として公表し、高い引用数を得ており、高く評価される。今後は、さがけ研究で獲得した多くの変異体を用い、人工気象器内ではなく、野外での実際の光変動下での光合成活性の上昇に向けた研究の加速を期待したい。

#### 5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Kono M*, <u>Yamori W</u> , Suzuki Y, Terashima I. Photoprotection of PSI by Far-Red Light Against the Fluctuating Light-Induced Photoinhibition in Arabidopsis thaliana and Field-Grown Plants. Plant & Cell Physiology 2016: 58: 35-45.
2. <u>Yamori W*</u> , Shikanai T. Physiological Functions of Cyclic Electron Transport Around Photosystem I in Sustaining Photosynthesis and Plant Growth. Annual Review of Plant Biology 2016: 67: 81-106. Plant & Animal Science 部門で引用数上位 1%(トムソン・ロイター社)
3. <u>Yamori W*</u> , Makino A, Shikanai T. A physiological role of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis under fluctuating light in rice. Scientific Reports 2016: 6: 20147. Plant & Animal Science 部門で引用数上位 1%(トムソン・ロイター社)
4. <u>Yamori W*</u> , Kondo E, Sugiura D, Suzuki Y, Terashima I, Suzuki Y, Makino A. Enhanced leaf photosynthesis as a target to increase grain yield: Insights from transgenic rice lines with variable Rieske FeS protein content in the Cytochrome b6/f complex. Plant, Cell & Environment 2016: 39: 80-87. Plant & Animal Science 部門で引用数上位 1%(トムソン・ロイター社)
5. <u>Yamori W*</u> . Photosynthetic response to fluctuating environments and photoprotective strategies under abiotic stress. Journal of Plant Research 2016: 129: 379-395.
6. <u>Yamori W*</u> , Shikanai T, Makino A. Photosystem I cyclic electron flow via chloroplast NADH dehydrogenase-like complex performs a physiological role for photosynthesis at low light. Scientific Reports 2015: 5: 13908.

他主要論文4編

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

◎主要な学会発表

- |  |
|--|
| 1. 木村遼希, 橋本(杉本)美海, 射場厚, 寺島一郎, <u>矢守 航</u> . 気孔開度の上昇は光合成誘導反応を短縮する、日本植物生理学会、2017年3月17日 |
| 2. 河野優, <u>矢守航</u> , 鈴木祥弘, 寺島一郎. 遠赤色光による変動光障害に対する PSI 保護機構、日本植物生理学会、2017年3月17日       |
| 3. <u>矢守 航</u> . 変動する光環境下における光合成制御機構の解明と応用展開、日本植物学会、2015年9月6日(招待講演)                  |
| 4. <u>矢守 航</u> . 光合成能力の強化に基づくバイオマス生産性の向上に向けた取り組み、静岡生命科学若手フォーラム、2015年9月11日(招待講演)      |

5. Chihiro K. Watanabe, Wataru Yamori, Shunichi Takahashi, Ichiro Terashima, Ko Noguchi. Roles of the respiratory system in alleviation of photoinhibition via the photorespiratory system 9th International Conference for Plant Mitochondrial Biology(Poland), 2015年5月17日～22日
6. Wataru Yamori. The regulation of photosynthesis under fluctuating light conditions, The 2015 Tokyo Whole Plant Photosynthesis Workshop, 2015年5月15日(招待講演)
7. Wataru Yamori, Eri Kondo, Yuji Suzuki, Amane Makino, The close relationship between leaf photosynthesis and crop yield: Analysis of transgenic rice with reduced content of cytochrome b6/f complex, 日本植物生理学会, 2015年3月18日
8. Wataru Yamori, Regulation of CO<sub>2</sub> assimilation under a fluctuating light environment, 日本植物学会, 2014年9月12日(招待講演)

◎受賞

- ・第12回日本農学進歩賞 (2013/11/25)

◎プレスリリース

- ・2015.09.11 「光合成で働くサイクリック電子伝達経路の新たな生理機能を解明～二酸化炭素濃度の削減や食料増産に期待～」(Yamori et al. 2015 Scientific Reports 論文について)
- ・2016.02.02 「変動する光環境から身を守る植物のメカニズムを解明～植物の生産性を向上させる技術開発に貢献～」(Yamori et al. 2016 Scientific Reports 論文について)

◎その他

- ・平成28年度 新学術領域研究(研究領域提案型)の採択  
「新光合成:光エネルギー変換システムの再最適化」  
領域代表者: 皆川 純 教授、研究期間: 2016.06.30～2021.03.31