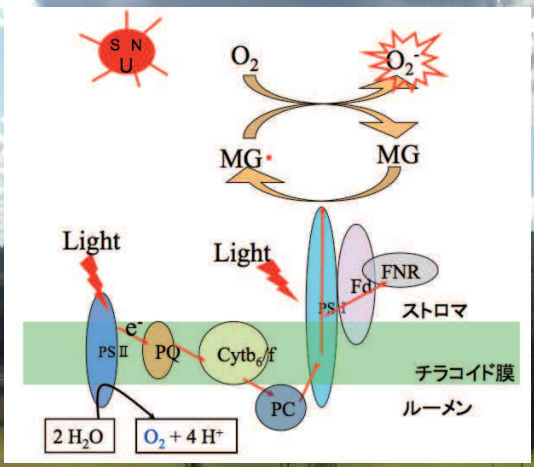
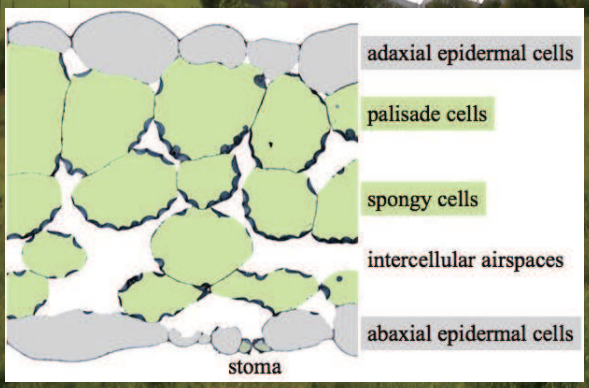
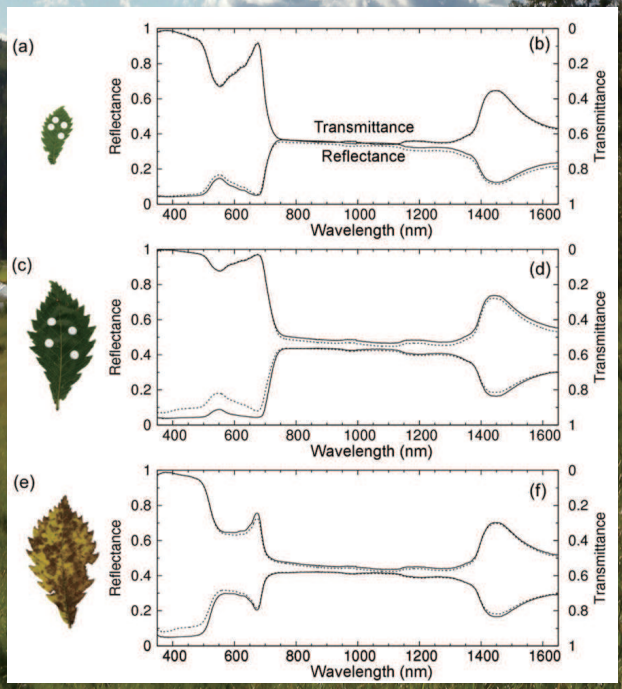
ニュースレターVol. 8
2013年 8月

植物高CO_2応答







新学術領域研究
「植物生態学・分子生理学コンソーシアムによる
陸上植物の高CO_2応答の包括的解明」

目次

Contents

巻頭言：暑中お見舞い申し上げます　1

新学術領域からのニュース　2

新学術領域研究班からの論文紹介　3

研究班紹介

高木班　葉緑体分布パターン決定における二酸化炭素の役割　5

森班　高二酸化炭素環境下における二酸化炭素透過型アクアポリンの活性制御　7

若手研究者研究紹介　9

アウトリーチ活動　15

学術集会案内　16

新学術領域総括班からの案内　18

表紙について：　残り短い夏の日を植物たちは楽しんでいるかのようです（撮影：アラスカ）

著作権は執筆者本人にございますので、複製･転載の場合は各執筆者にご確認ください。

巻頭言：暑中お見舞い申し上げます

Announce

東京大学 大学院理学系研究科　寺島一郎

暑い日が続いておりますが、みなさん、お元気でお過ごしでしょうか。

この領域も最終年となり、優れた成果がどんどん出版されています。論文が出たら、ホームページに概要を載せてくださるよう、お願いいたします。これを読むだけでずいぶん勉強になります。是非、みなさんもご利用ください。

今年は、３年に一度の国際光合成学会の年です。航空料金が高いさなかの８月 11 － 16 日、アメリカはセントルイスでの開催です。領域からは、牧野さんと長谷川さんが招待講演、小口さんもオーラルに選ばれています。寺島の研究室からも５人が参加します。寺島もハツカダイコンを使ったシンクーソース関係のポスター発表をします。参加される皆さん、領域の研究を世界にアピールしましょう！セントルイスでお目にかかるのを楽しみにしております。

９月 13 － 15 日に札幌で開かれる植物学会では、２つのシンポジウムを行います。伊藤さんと野口さんがコンビナーの「環境変動への植物の呼吸の応答」と、寺島がコンビナーの「植物と流れ」です。ご期待ください。

最後になりましたが、適度（！）に暑気払いしながら、この夏を元気に乗り切りましょう。

新学術領域研究からのニュース

News

寺島班からの論文が日本生態学会論文賞を受賞

寺島班の岡島さん、種子田さん、野口さん、寺島さんの論文 "Optimum leaf size predicted by a novel leaf energy balance model incorporating dependencies of photosynthesis on light and temperature." が、掲載誌 Ecological Research の Ecological Research 論文賞を受賞しました。授賞式が 3 月 8 日に日本生態学会全国大会（静岡）にて行われました。

小口理一さん文部科学大臣表彰若手科学者賞を受賞

廣瀬班で研究されている小口理一さん (東北大・院・生命科学) が平成 25 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞を受賞しました。科学技術分野の文部科学大臣表彰は、科学技術に関する研究開発、理解増進等において顕著な成果を収めた者の功績を讃えるものであり、その中でも若手科学者賞は、萌芽的な研究、独創的視点に立った研究等、高度な研究開発能力を示す顕著な研究業績をあげた 40 歳未満の若手研究者を対象としています。表彰式は平成 25 年 4 月 16 日　文部科学省にて行われました。

http://www.mext.go.jp/b_menu/houdou/25/04/1332785.htm

「化学と生物」で植物の高 CO_2 応答に関する総説を連載中

公益社団法人日本農芸化学会が発行する学術雑誌「化学と生物」に、新学術研究参画者のオムニバス形式の連載を掲載しています。

化学と生物ウェブサイト（http://www.jsbba.or.jp/pub/journal_kasei/）

新学術領域研究からの論文紹介

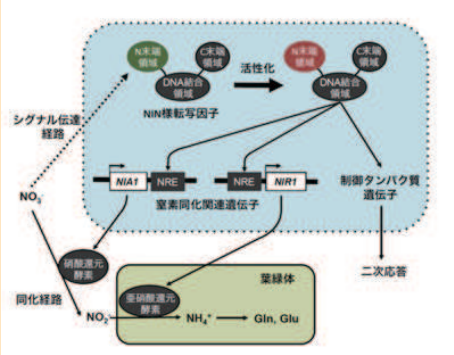
Research manuscripts

新学術領域研究班が最近発表した論文の一部をご紹介します。

植物の硝酸応答を司る転写因子の同定

植物の主たる窒素源である硝酸は、窒素同化に用いられるだけでなくシグナル分子としても働き、窒素同化や炭素代謝に関わる酵素遺伝子や成長制御に関わる遺伝子などの発現調節に関わっていることが知られていましたが、その分子機構は不明でした。今回、モデル植物のシロイヌナズナを用いて、硝酸シグナルを受容して活性化した NIN 様転写因子が様々な硝酸誘導性の遺伝子の発現を制御していることを明らかにしました。硝酸シグナル伝達と硝酸応答の実体を担う転写因子が同定されたことにより、今後、硝酸シグナルによる成長制御の分子機構が解明されることが期待されます。

マメ科植物における根粒形成に必須な遺伝子である NODULE INCEPTION (NIN) 遺伝子の産物と構造的に類したタンパク質はマメ科植物以外にも存在しており、機能不明なタンパク質として NIN 様タンパク質（NIN-Like Protein；NLP）と呼ばれていました。今回、このタンパク質は転写因子であることが明らかとなったので、これを NIN 様転写因子と呼んでいます。共生窒素固定のための根粒形成は硝酸によって抑制されることから、今回の発見は、硝酸による根粒形成の制御の観点からも興味が持たれます。

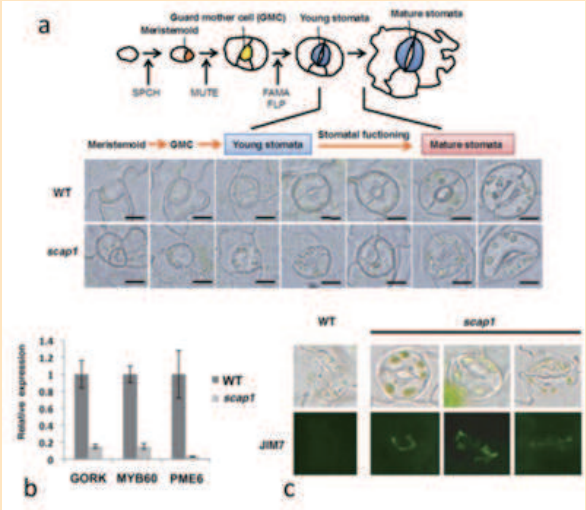


植物の硝酸応答機構のモデル図。硝酸シグナルをうけて活性化した NIN 様転写因子は窒素同化関連遺伝子の発現と制御タンパク質遺伝子の両方の発現を制御することにより、窒素応答の鍵因子として働いている。硝酸による NIN 様転写因子の活性化は N 末端側領域を介して行なわれる。

Konishi M, Yanagisawa S (2013) Arabidopsis NIN-like transcription factors play a central role in the nitrate signalling. *Nature Communications* 4: 1617

Dof 転写因子 SCAP1 はシロイヌナズナの気孔の機能分化に必須である

植物の気孔は２つの孔辺細胞が向かい合った構造からなり、その開閉は、孔辺細胞壁の可逆的な形状変化によって調節されます。これまで、孔辺細胞の初期分化についての研究は進んでいましたが、最終的に孔辺細胞が開閉機能を発揮するための分化メカニズムは未解明でした。本研究では、その最終過程を調節する転写因子，SCAP1 の同定に成功しました。この SCAP1 が気孔開閉因子や細胞壁を構築する酵素 (PME6 など) の発現を制御することで、気孔は成熟化を進めていることが考えられます。



(a) SCAP1 を欠失した突然変異体 (*scap1*) では、機能的な孔辺細胞が形成できない。(b) SCAP1 は PME6 など気孔の形成や機能に必須の遺伝子の発現を制御している。(c) *scap1* では細胞壁ペクチンの脱メチルエステル化が滞ることが JIM7 による抗体染色で分かる

Negi J, Moriwaki K, Konishi M, Yokoyama R, Nakano T, Kusumi K, Hashimoto-Sugimoto M, Schroeder JI, Nishitani K, Yanagisawa S, Iba K (2013) Dof transcription Factor, SCAP1, is essential for the development of functional stomata in *Arabidopsis*. *Current Biology* 23: 479-484

高 CO_2 環境下で光合成のダウンレギュレーションが生じた状態でも温度に依存する光阻害感受性は変化しない

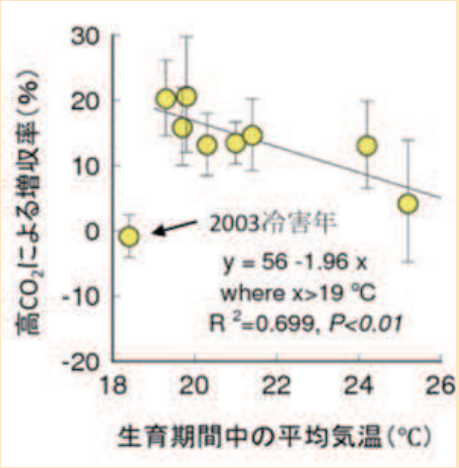
シラカンバは北海道を代表する落葉広葉樹であり、先駆樹種の特性として、養分が乏しいところにも侵入することができる樹種です。シラカンバ苗木を高 CO_2・貧栄養（低窒素）条件の下で生育させると、光合成の能力が低下するダウンレギュレーションが生じました。15° C から 40 ° C まで温度を変えて光合成速度を測定した結果、25° C 以下では高 CO_2 で生育した個体とコントロールとの間に違いは見られませんでしたが、30° C 以上の高温域では高 CO_2 で生育した個体でコントロールに比べて光合成速度が高くなることがわかりました。一方で、光合成にも使われず、熱としても放散されずに残る過剰な光エネルギーの割合は、温度が低くなるほど大きくなりましたが、CO_2 処理間で違いは見られませんでした。過剰な光エネルギーは光阻害の一因として考えられています。高 CO_2 環境での光合成のダウンレギュレーションは、温度に依存する光阻害感受性に影響を与えないことが示唆されました。

高 CO_2 制御の自然光型人工気象室で生育したシラカンバ苗木
高 CO_2 処理は通常大気の約２倍の800ppmに設定しました。光合成測定は、光強度が 1000 μmol m^{-2} s^{-1} で、それぞれの生育 CO_2 濃度（コントロールの苗木は 400ppm、高 CO_2 で生育した苗木は 800ppm）で行いました。

Komatsu M, Tobita H, Watanabe M, Yazaki K, Koike T, Kitao M (2013) Photosynthetic downregulation in leaves of the Japanese white birch grown under elevated CO_2 concentration does not change their temperature-dependent susceptibility to photoinhibition. *Physiologia Plantarum* 147: 159-168.

高 CO_2 濃度によるコメの増収効果は高温条件で低下 ー２地点の FACE 実験から予測、品種による違いも確認ー

大気 CO_2 濃度の上昇は、光合成を促進して作物の収量を増加させることが知られています。しかし、その増収がどの程度か、どのような要因で変化するのかは、十分検討されていませんでした。そこで、温度条件が大きく異なる岩手県雫石町と茨城県つくばみらい市で FACE 実験を行い、高 CO_2 濃度による増収効果の変動を調べました。雫石（7 年間）と、つくばみらい（2 年間）で使用した「あきたこまち」の収量は、高 CO_2 濃度によって平均で 13％増収しましたが、その増収効果は、冷害年を除くと高温条件で低い傾向にあり、温暖化条件では高 CO_2 濃度による増収が、期待されるほど大きくない可能性が示されました（図）。さらに、来歴・形態特性の異なる品種を２地点で比較したところ、高 CO_2 濃度による増収効果は品種によっても大きく異なりました。特に、つくばみらい FACE で使用した８品種の増収率には、3% から 36% まで大きな違いがあり、品種改良を通じて高 CO_2 濃度による増収効果を向上できる可能性が示されました。



FACE 実験を実施した９年（雫石７年、つくばみらい２年）の生育期間中の平均気温と、共通品種として用いた「あきたこまち」の玄米収量の高 CO_2 濃度（外気＋ 200ppm）による増加率との関係

Hasegawa T, Sakai H, Tokida T, Nakamura H, Zhu C, Usui Y, Yoshimoto M, Fukuoka M, Wakatsuki H, Katayanagi N, Matsunami T, Kaneta Y, Sato T, Takakai F, Sameshima R, Okada M, Mae T, Makino A (2013) Rice cultivar responses to elevated CO_2 at two free-air CO_2 enrichment (FACE) sites in Japan. *Functional Plant Biology* 40: 148-159

研究班紹介

Research groups

研究班の研究内容を紹介します。本号では、高木班、森班の研究内容を紹介します。

葉緑体分布パターン決定における二酸化炭素の役割

研究代表者：高木慎吾　研究協力者：石田泰浩、小松原彩加

私たちの研究室では、「細胞レベルでの環境応答」を大きなくくりとして、メンバー自らが興味に従って設定したテーマに取り組んでいます。最近は、葉緑体の細胞内アンカー、葉緑体とミトコンドリアとの接着、核の運動や形態維持など、オルガネラの動態に注目した解析が進展しています。本領域では、CO_2 が葉緑体の細胞内分布パターンを決定する要因であることの証明を目指しています。このテーマは、博士後期課程に在籍している石田泰浩が取り組んできたものです。

植物体や個葉のレベルで光合成を最適化するために、環境の変化に応じて葉緑体が細胞内での存在場所を変えることはよく知られるようになりました。光の入射方向や強さの変化に応じて葉緑体が位置を変え、受光量を調節する光定位運動については、昔から知見も多く、光受容には植物特異的な青色光受容体であるフォトトロピンが機能していること（Suetsugu and Wada 2007）、葉緑体の運動がアクチン細胞骨格に依存すること（Kong and Wada 2011）などが明らかにされています。現在、フォトトロピンからのシグナル伝達経路や葉緑体の運動機構の詳細について研究が進められています。

一方、光合成に適した条件下では、葉緑体が細胞間隙に接する場所に定位することが知られています（図１参照）。この現象を、私は寺島一郎さんに教えていただきました。石田は学部生時代に寺島さんの講義を聴いて、研究テーマのヒントを得たのではないかと思います。彼は、「葉緑体は CO_2 濃度の高い細胞壁に沿って定位するのではないか」という仮説を立て、卒業研究時代からこのテーマに取り組んできました。当時の研究室では、葉緑体や核の光定位運動の解析、それらのアクチン細胞骨格による制御機構などをテーマにするメンバーが多く、彼のプログレスレポートを聴くたびに、「これがモノになるんかいな」と、期待よりは不安の方が大きかったことを想い出します。いろいろなアイディアをひねり出して実験系に工夫を凝らし、彼がプログレスレポートで、「気孔が閉じにくいシロイヌナズナ突然変異体（Negi et al. 2008, Vahisalu et al. 2008）では、葉緑体の暗黒位が外気 CO_2 濃度の影響を受ける」とか、「ゲルに埋めた葉肉細胞プロトプラスト中の葉緑体が炭酸水素カリウ

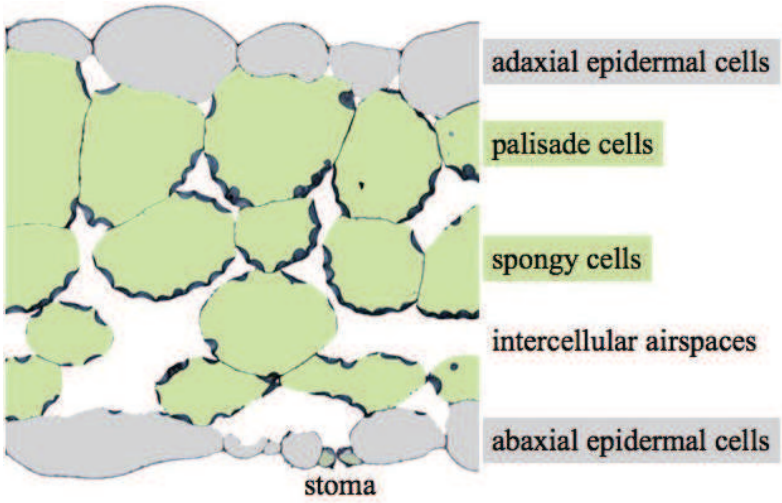


図１　シロイヌナズナロゼット葉の横断面図
葉緑体は、細胞同士が隣り合う場所ではなく、細胞間隙に接する場所に定位する。　石田原図

ム溶液側へ動く」とか喋りだして、ようやく「サイエンスの俎上に載るかも」という感触を得るにいたりました。

本領域に加えていただいたことにより、念願の光合成測定装置を手に入れました。個葉の細胞間隙 CO_2 濃度を調節しながら照射光強度を変え、葉緑体の細胞内分布がどのように変化するかを解析中で、興味深い結果が得られつつあります。博士前期課程の小松原彩加がプロトプラストをゲルに埋める実験系に興味を持ち、定量的な解析系を完成させようと奮闘していますが、なかなか細胞がいうことをきいてくれず、条件闘争に明け暮れています。石田の手と眼に追いつくには、もう少し修行が必要なようです。これらの研究を通して、「CO_2 と光は、葉緑体のレドックス状態を介して分布を決定するのではないか」という新しい仮説を導き、今後これの検証に精進する所存です。また、昨年度の班会議で報告しましたが、アクチン細胞骨格に依存した葉緑体アンカーが異常になっているかもしれない変異体を用いて、植物科学最先端研究拠点ネットワークの共同研究として、CO_2 の葉肉コンダクタンスの測定を進めています。

寺島さんが大阪大学におられた間、野口航さんと共に研究室をご一緒させていただきました。生態学、生理学、細胞生物学を（できれば分子生物学も）融合したユニークな研究分野を開拓しましょうと（飲んでは）意気を揚げていましたが、ようやく今頃になって、そのようなアプローチが現実化してきた気がして、とてもやりがいのある研究を楽しく進めさせていただいています。何としてもポジティブな成果を残したいと考えています。

高二酸化炭素環境下における二酸化炭素透過型アクアポリンの活性制御

研究代表者：森 泉　　連携研究者：且原 真木、白武勝裕

大気から光合成の場である葉緑体へ二酸化炭素を供給するまでの過程には、二酸化炭素供給の障壁となるいくつかのステップがあります。気孔抵抗と葉肉抵抗は植物によってコントロールされる二酸化炭素供給の障壁です。他に風の強さによって影響される境界層抵抗があります。気孔抵抗は気孔の開口度と関連があります。開口度が下がるにつれ、気孔抵抗は高くなります。一方、葉肉抵抗の制御については様々な機構が想定されていますが、詳細は未だ不明なことが多くあります。高二酸化炭素条件での葉肉抵抗を規定する植物側の機構については全く理解されていません。

二酸化炭素を透過するアクアポリン

アクアポリンは 1992 年に発見されたタンパク質の名前です。最初は脂質二重層でできた細胞膜の水透過性を上昇させるタンパク分子として報告されました。アクアポリン遺伝子は一つの生物種にひとつという訳ではなく、生物種によっては複数のアクアポリン遺伝子を持っていることが知られています。その後、アクアポリンの中にはグリセロールや尿素など水以外の様々な分子も透過させるものもあることが明らかとなってきました。1998 年にはアクアポリンが二酸化炭素も透過させることが報告されています。

植物においても、タバコのアクアポリンのひとつである NtAQP1 が二酸化炭素を透過すると報告されています。しかしながら、アクアポリンの発現場所およびその生理機能が結びつけられた研究の報告はわずかで、今後の理解が必要です。また、二酸化炭素透過性を有するアクアポリン分子と透過性を有さないアクアポリン分子の区別も進んでおらず、たまたま二酸化炭素を透過した、特定の分子種について研究が進められているのが現状です.

酵母発現系を使った二酸化炭素透過性測定

シロイヌナズナという植物には、アクアポリン関連遺伝子が約４０種存在します。このうち、原形質膜に局在すると考えられている PIP 型アクアポリンは１３種です。私たちは、植物の原形質膜における二酸化炭素透過性アクアポリンの生理学的な機能を解析するために、まず始めにパン酵母でアクアポリンを発現させて、次から次へと網羅的に PIP 型アクアポリンの二酸化炭素透過性を測定する実験系の構築を進めました。

図１のように、パン酵母の染色体に二酸化炭素と重炭酸イオンが速やかに平衡化するようにカーボニックアンヒドラーゼ遺伝子を導入し、さらに細胞内 pH を蛍光でモニターできるように pH 感受性の緑色蛍光タンパク質（GFP）を導入しました。また、遺伝子発現を誘導できるプラスミドにアクアポリン遺伝子を組換えて遺伝子を導入する実験系を構築しました。この実験系を用いて、オオムギの PIP 型アクアポリン１０種，イネの PIP 型アクアポリン１０種，シロイヌナズナのアクアポリン１３種の二酸化炭素透過性を定性的に測定しました。PIP 型アクアポリンは、DNA 塩基配列から進化的に分化した PIP1 型と PIP2 型に分類され、それぞれ機能が異なると予想されています。二酸化炭素を透過するアクアポリンは PIP1 型にも PIP2 型にも存在し、またどの PIP 型アクアポリンでも二酸化炭素を透過させる訳ではないことが分かりました。これまでの研究では PIP2 型アクアポリンは二酸化炭素を透過せず、おもに PIP1 型が二酸化炭素を透過させると予想されていたために、驚くべき結果となりました。

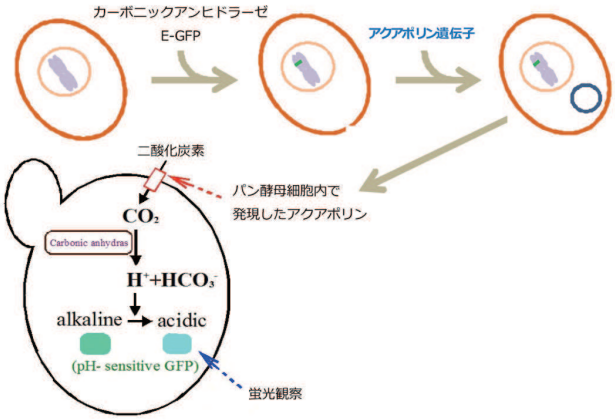


図１　パン酵母発現二酸化炭素透過性試験の概要
パン酵母の細胞にカーボニックアンヒドラーゼ，E-GFP，アクアポリンの各遺伝子を導入し，細胞膜の二酸化炭素透過性を蛍光プローブを使って検出する。

二酸化炭素透過性アクアポリンの生理的役割

葉肉抵抗にアクアポリンが関わっているという証拠がいくつか報告されています。しかしながら，それに関わるアクアポリン分子の同定は進んでいません。Kaldenhoff らはシロイヌナズナの PIP1;2 が葉肉抵抗に関わるアクアポリンだとしていますが、二酸化炭素透過性を直接測定してはいません。私たちは、網羅的なアクアポリンの二酸化炭素透過性測定の結果とシロイヌナズナのアクアポリン遺伝子欠損株の光合成能力をそれぞれ比較することで，葉肉抵抗の調節に関わるアクアポリン分子の

確定をすべく研究を行っています。

気孔開閉の制御

気孔は蒸散による水の損失とともに植物の全身的な水の分配に重要な役割を果たす一方、光合成のために二酸化炭素を取り込む重要な陸上植物の器官です。このため、光や二酸化炭素、水分など多種の環境要因によって開閉運動をします。気孔はそれ以外にも、病原菌の侵入口となるため、細菌やカビなどに応答して閉口するなど、広範な環境刺激に応答します。乾燥ストレスは生理学的にも重要な植物ストレスのひとつであるとともに、農業上も大変損失の多いストレスであり、これまでに多くの気孔研究者の興味を引いてきました。

孔辺細胞のアブシシン酸認識機構

植物は乾燥時にアブシシン酸という植物ホルモンを合成し、全身的な乾燥応答を行います。アブシシン酸により気孔は閉口しますが、気孔を構成する一対の孔辺細胞がどのようにアブシシン酸を認識するのかは長年の謎でした。2009 年に同時に二つの研究室から植物のアブシシン酸受容体遺伝子の発見の報告がありました。一方、注意深く文献をひもとくと、1994 年を中心に気孔の運動に関して興味深い記述が見つかります。それは、アブシシン酸が気孔閉口を誘導するときと気孔開口を阻害する場合でアブシシン酸受容体が異なるという結論につながる一連の論文です。

PYR1 PYL1PYL2 PYL4 アブシシン酸受容体

2009 年に発見されたアブシシン酸受容体遺伝子のグループは遺伝子グループを形成しており、PYR/PYL/RCAR と呼ばれ、シロイヌナズナでは 14 個の関連遺伝子が存在しています。ひ

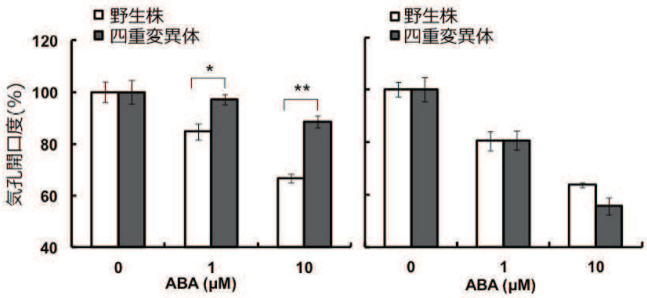


図２　アブシシン酸 (ABA) 受容体変異体の気孔応答
（左）ABA 誘導性気孔閉口.（右）ABA 阻害気孔開口. $n = 5$, $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$.

とつの遺伝子を破壊してもアブシシン酸に対する感受性に違いがありませんが，関連遺伝子を４つ破壊した *pyr1 pyl1 pyl2 pyl4* 変異体ではアブシシン酸に対する感受性が顕著に低下したことが報告されています。

私たちは気孔の閉口と開口に関与するアブシシン酸受容体が違うと予想した過去の研究を参考に，*pyr1 pyl1 pyl2 pyl4* 四重変異体の気孔のアブシシン酸応答性を詳細に解析しました。図２右はアブシシン酸による気孔閉口誘導を調べた結果です。左は気孔開口阻害を調べた結果を示しています。四重変異体においてアブシシン酸誘導気孔閉口は顕著に抑制されているにも関わらず、気孔開口阻害は野生株と変わっていませんでした。この研究において、開口阻害と閉口誘導に関わるアブシシン酸受容体が同一ではないとする過去の研究結果を支持する実験証拠が得られました（投稿中）。

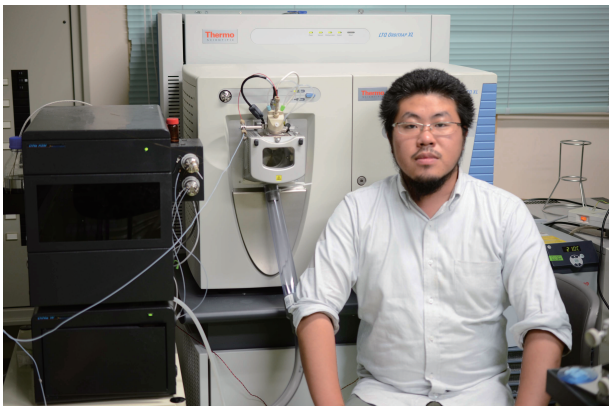
光合成に必要な二酸化炭素供給に関わる因子を同定し、それらの高二酸化炭素環境への応答における役割を解明していきたいと考えています。

若手研究者研究紹介

Young Researchers

金古 堅太郎　Kentaro Kaneko

（新潟大・農・特任助教）



本領域での担当

質量分析装置 (LC-MSn)（図１）を用いた定量的プロテオミクス解析により、高 CO_2・高温条件がイネの糖、デンプン代謝にどのような変化をもたらすかを解析しています。特に高温・高 CO_2 おけるイネのデンプン生合成前駆体の ADP- グルコース分解酵素変異体の leaf における解析を行っています。また高温・高 CO_2 条件は農業的にコメの商品価値を下げる乳白米の発生を引き起こすことが知られており、この乳白米発生メカニズム解明を目指しています（図２）。

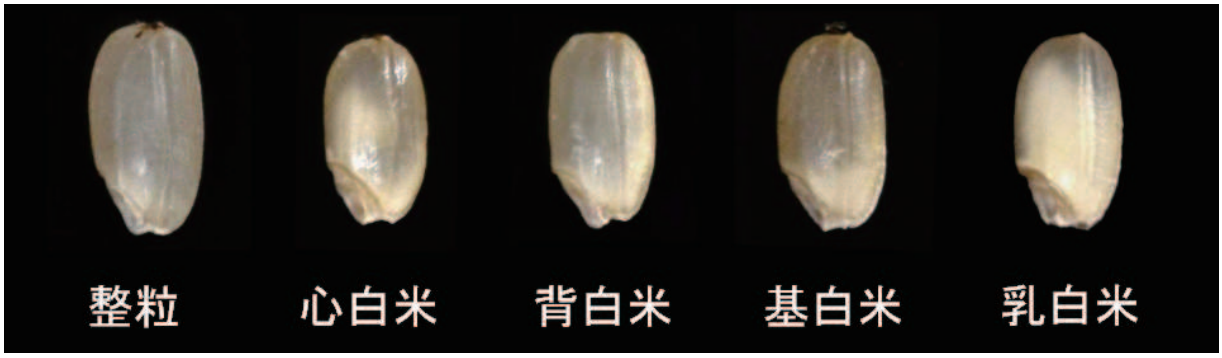
過去・現在の研究内容

プラスチド局在型糖タンパク質 NPP

光合成によって固定された炭素は、葉緑体やアミロプラストにおいて代謝され、最終的にデンプンが合成されて貯蔵されます。このときデンプンの生合成速度を限定しているのが ADP- グルコース量といわれ、合成によって調製されていると考えられてきましたが、私たちのグループでは、イネにおいて ADP- グルコースを分解し、ADP- グルコースの量調節を行い、デンプン生合成を制御する NPP(Nucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase) について報告しました (Nanjo et al., 2006)。また、この NPP は、糖タンパク質でありながら、葉緑体に局在することも明らかになりました。一般的な葉緑体タンパク質ターゲッティングメカニズムは、前駆体タンパク質の N 末端にあるトランジットペプチドを葉緑体外膜と内膜にある Toc-Tic 複合体が認識し、葉緑体に取り込む、というプロセスです。しかし糖タンパク質である NPP の葉緑体局在メカニズムは謎を多く残しています。しかし、葉緑体糖タンパク質の糖鎖のほとんどは複合型糖鎖をもち、ゴルジ体膜成分ごと葉緑体に局在することが明らかになりつつあります。つまり、糖タンパク質である NPP は通常の Toc-Tic 複合体を介さず、新しいメカニズムによって局在化しているようです。

NPP の高温・高 CO_2 に対しての応答

NPP をノックアウトした変異体 (*npp*) は、ADP- グルコースを分解する活性からデンプン蓄積を促進すると思われましたが、



通常温度 (明期／暗期：28℃／ 23℃) では、デンプンの蓄積がみられませんでした。そこで、さらに通常温度と高温 (33℃／ 28℃)、CO_2 条件として通常 CO_2 条件 (400ppm) と高 CO_2 条件 (1600ppm) を設定しました。上記条件を組み合わせ、野生型（WT）と *npp* における応答を解析しました。WT ではデンプン、糖成分が増加しましたが、その増加は限定的でした。*npp* ではデンプン、糖成分と共に生重量も大きく変動しました。また定量的プロテオミクス解析を行ったところ、WT に比べ *npp* の方が CO_2 ストレスに対して多くのタンパク質が変動していました。このことより、*npp* は高 CO_2 ストレスに対して WT よりも敏感に応答していることが示されました。

イネ登熟期に対する高温・高 CO_2 影響

イネが登熟期に高温に曝されるとコメの一部または、全部が白くなる乳白米ができます。収穫されたコメのうち乳白米が、一定数超えるとコメの等級が下がり、取引価格の低下、農家の減収になってしまいます。この乳白米の発生メカニズムを明らかにするために定量的プロテオミクス解析したところ、AmyII-3 の発現量が増加していました。乳白米の発生には、デンプンを分解するアミラーゼの関与が示唆されました。一方で、この乳白米は高 CO_2 条件で発生することも知られています。そこで、高温によって発生する乳白米と高 CO_2 で発生する乳白米についてプロテオーム解析を通じてそのメカニズムを明らかにしていきたいです。

齊藤 亮太　Ryota Saito

（神戸大・農・博士研究員）

本領域での担当

私は本領域において、高 CO_2 環境下における植物と糖代謝、特に糖から生成する毒性アルデヒド化合物との関係を明らかにしようとしています。高 CO_2 環境は植物にとって有利な環境だと考えられていますが、それは光合成能力が増大し糖が蓄積することを意味しています。私は、高 CO_2 環境下における毒性アルデヒド化合物代謝メカニズムを解明し、植物が生きていくための戦略を明らかにしたいと考えています。

これまでの研究

植物は、大気中の CO_2 を固定することで光合成を行い、エネルギー物質である糖を産生します。我々人間はその糖を摂取して生命活動を維持していますが、過食や糖代謝に異常が起こると細胞内に糖が蓄積します。グルコースなどの糖は、アルデヒド基を持つため自動酸化を引き起こし活性酸素が生成します (Wolf and Dean 1987, Chetyrkin et al. 2011)。さらに、グルコースからはメチルグリオキサール (MG)、グリオキサール (GLY)、3- デオキシグルコソン (3-DG) などの毒性アルデヒド化合物が生成します (Dalle-Donne et al. 2003, Oppermann 2007) (図 1)。これらの毒性アルデヒド化合物もその構造内にアルデヒド基、ケト基を有し、グルコースより非常に反応性に富む化合物です。毒性アルデヒド化合物は、DNA 塩基、タンパク質のアミノ酸残基、脂質を修飾し、生体内代謝を阻害することで細胞機能障害をもたらします。そしてこれらの毒性アルデヒド化合物は、ヒトにおける糖尿病、その合併症と深く関わっていることが明らかとなっています (Thornalley 2008)。我々の細胞内では、これらの毒性アルデヒド化合物による障害を避けるため、グリオキサラーゼシステムやアルド・ケトレダクターゼ (AKR) などの酵素群を有し、毒性アルデヒド化合物の無毒化を行っています (Kang et al. 2008)。

植物は光合成を行いその細胞内に糖をため込みます。従って植物はヒト以上に糖毒性の危険にさらされていると考えられます。私たちの研究室では、毒性アルデヒド化合物による細胞機能障害を「植物における糖尿病」と定義しています。近年、植物にもヒトと同じようにグリオキサラーゼシステムや AKR な

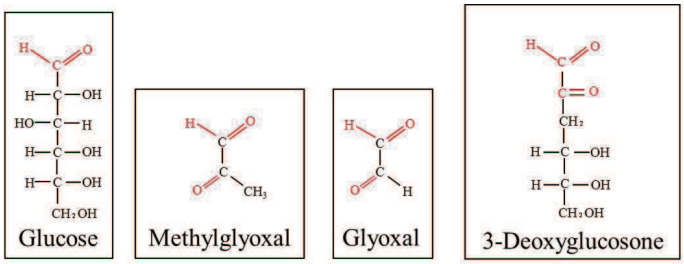


図１　グルコース、MG、GLY、3-DG の構造

どの酵素群が存在し、毒性アルデヒド化合物の解毒に働いていることが明らかとなっています (Singla-Pareek et al. 2003, Simpson et al. 2009)。また塩、乾燥ストレスなどの環境ストレス下で植物細胞内にMGが蓄積する報告もされており (Yadav et al. 2005)、グリオキサラーゼが過剰発現した植物はこのような環境条件下において野生型（WT）に比べ生育が向上したという報告もされています (Singla-Pareek et al. 2003)。これらの事実は、植物においても毒性化合物の解毒が健全な生育に必要であることを示しています。

また、高 CO_2 環境下において ROS や毒性アルデヒド化合物による修飾をうけたタンパク質である、カルボニル化タンパク質が蓄積しているという報告もあります (Qiu et al. 2009、図2)。このメカニズムはまだ解明されていませんが、近い将来訪

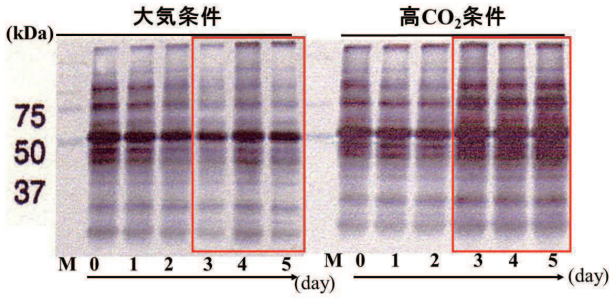


図２　シロイヌナズのタンパク質を抽出後、カルボニル化タンパク質を特異的に認識する抗体を用いて、ウエスタンブロットを行った結果（Qiu et al. 2008）。

れる高 CO_2 は植物にとって危険な環境であるかもしれません。従って、高 CO_2 環境下における、植物の毒性アルデヒドの生成・解毒システムを明らかにすることは重要だと考えられます。

葉緑体内における MG 代謝に関する研究

まず始めに私は葉緑体内における MG の代謝メカニズムの解明を試みました。ホウレンソウ葉緑体ストロマ画分を抽出し、MG 還元活性測定を行なった結果、ストロマ画分に NADPH を電子供与体として MG を還元する酵素が存在することが明らかとなりました (図 3)。この反応で MG が解毒され続けるためには $NADP^+$ は再生されなければなりません。$NADP^+$ は光合成

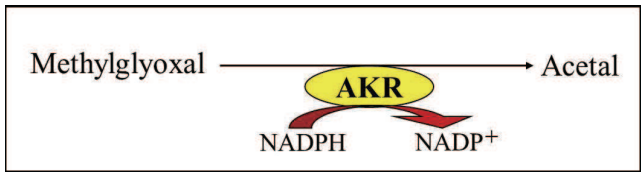


図３　Aldo keto reductase（AKR）による MG 解毒システム。AKR は NADPH を電子供与体として MG を Acetal へと無毒化する。

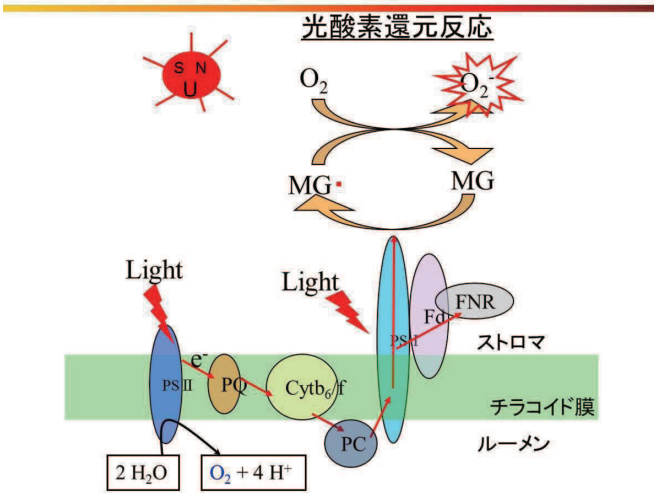


図４　MG による葉緑体内での活性酸素発生メカニズム。葉緑体内で生成した MG は、PS Ⅰ複合体から電子を受け取り、電子を受け取った MG が酸素を一電子還元することにより O_2^- の生成を誘導する。

電子伝達反応が駆動することにより再生され、それに伴い PS Ⅱで酸素が発生します。そこで光照射下葉緑体に MG を添加し、酸素発生の有無を検証しました。その結果、私の予想を反し光照射下、葉緑体に MG を添加すると酸素吸収が大きく促進されました。またこの酸素吸収は、光合成電子伝達阻害剤である DCMU、DBMIB によって阻害されました。これらの結果から、私は光合成電子伝達系複合体 I から電子を受け取った MG が酸素に電子を渡し、スーパーオキシドラジカルの生成を誘導することを見出しました (図 4)。この研究から、ヒトと同様に植物に MG が蓄積すると危険であることが明らかとなり、植物糖尿病の一因を特定することができました (Saito et al. 2011)。

アルデヒド解毒機構に関する研究

植物はヒト以上に毒性アルデヒド化合物による障害を受けやすい環境で生育していると考えられます。従って、植物はそれらのアルデヒド化合物に対する防御機構を有しています。シロイヌナズナは約 21 個の aldo-keto reductase(AKR) を有しており、中でも AKR4C sub-family に属する AKR4C8、AKR4C9 は糖由来のアルデヒド化合物である MG、GLY を還元することが明らかとなっています (Simpson et al.2009)。シロイヌナズナには他にも AKR4C10、11 が存在しており、私はシロイヌナズナにおける AKR4C sub-family の全容解明のために、それらの酵素学的解析を試みました。その結果、AKR4C10、AKR4C11 が AKR4C8、9 と同様に糖アルデヒド化合物を解毒することを見出し、さらにこれらの酵素がトリオースリン酸 (TP) である、グリセルアルデヒド -3- リン酸 (GAP)、ジヒドロキシアセトンリン酸 (DHAP) を還元することを見出しました。GAP と DHAP からは酵素、非酵素学的に MG が生成することが知られてい

ます。このことは、植物体内で危険な物質である MG が蓄積しないように、GAP や DHAP を還元する必要があることを示唆しています (Saito et al. 2013)。

次に、AKR4C 遺伝子の発現が、光合成が促進する強光、高 CO_2 環境下でどのように応答するのかを検証しました。このような環境下では光合成が促進し、糖が蓄積するため、これらの遺伝子の発現量は増大すると考えられます。その結果、AKR4C 遺伝子が強光、高 CO_2 下で発現量が増大することを見出しました (図 5)。

これらの結果は、光合成が促進する環境下では、毒性アルデヒド化合物の解毒が必要であることを示唆しています。今後は、これらの遺伝子が欠損した変異体を使用し、生体内での機能解析を行っていく予定です。

今後の展望

現在、植物の高 CO_2 環境下における毒性アルデヒド代謝メカニズム解明のため、AKR と同じように毒性アルデヒド化合物を解毒する酵素を欠損した変異体を使用し解析を行っています。今までの解析結果では、変異体の光合成速度は WT に比べて低下していますが、大気条件と高 CO_2 環境下での光合成速度には差は認められませんでした。そして、高 CO_2 環境下では WT、変異体において、毒性アルデヒド化合物が蓄積することが明らかとなってきています。不思議なことに、高 CO_2 環境下では、WT も変異体も大気条件と同じように生育しています。この結果は、植物が高 CO_2 環境下で生きていくための戦略が存在することを示唆しています。

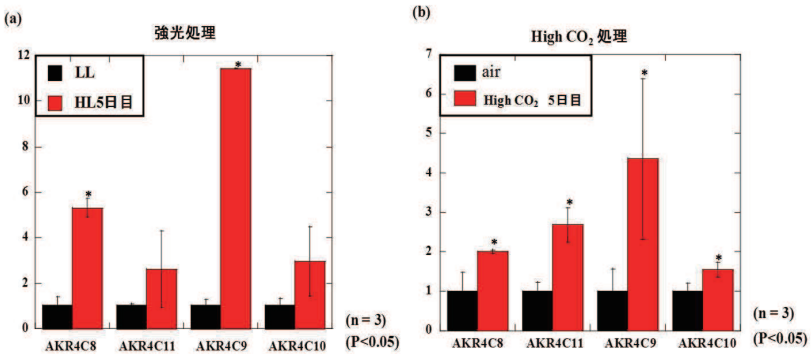


図５　シロイヌナズナにおける強光、高 CO_2 処理が AKR sub-family 遺伝子の発現に及ぼす影響

(a) LL(光 強 度：100 μmol photons m^{-2} s^{-1}) か ら HL(光強度：500 μmol photons m^{-2} s^{-1}) へ移　し、5 日目の葉をサンプリングし、Real-time PCR により解析した。(b) 大気条件 (CO_2 濃度：400 ppm) から高 CO_2 条件 (CO_2 濃度：2000 ppm) へ移し、5 日目の葉をサンプリングし、Real-time PCR により解析した。

野田 響　Hibiki Noda

（国立環境研究所・特別研究員）

本領域での担当

私が所属する伊藤班では、陸域生態系物質循環モデル VISIT に、このコンソーシアムで得られた知見を取り入れることで、CO_2 上昇が生態系物質循環に与える影響を評価することを目標としています。私は、特に窒素の植物個体内での利用と分配を中心に取り組むことを計画しています。

これまでの研究

種の保全や生態系物質循環研究、さらには生態系のリモートセンシング研究などの学際的な分野で、植物の個体・個葉スケールでの生理生態学的特性を中心とした研究を行ってきました。これらの研究を通じて、生態系モデルやリモートセンシングなど、様々な分野の研究者の方々との共同研究を行ってきました。

１．絶滅危惧種サクラソウの種生態学的研究

サクラソウはクローン成長を行う多年生草本です。早春に展葉し、開花・結実後、夏には地上部を枯らして、翌年の春まで地下部の芽の状態で過ごすという生活史を持っています。サクラソウは絶滅危惧種であることから、効果的な保全策を提案することを目的として、異なる光・土壌環境下で生育させ、生理生態学的特性の測定および成長解析を行いました。その結果、サクラソウは強光・湿潤条件で大きなバイオマス成長を示すものの、特に個葉レベルの光合成特性の馴化により、実際の野外での生育環境よりも幅広い光・土壌水分条件での生育が可能な種であることが明らかになりました (Noda et al. 2004 Ecological Research)。また、季節ごとに地上部・地下部の呼吸速度を測定したところ、呼吸速度は非常に大きな季節変動を示しました。特に、夏から冬にかけての地上部を持たない期

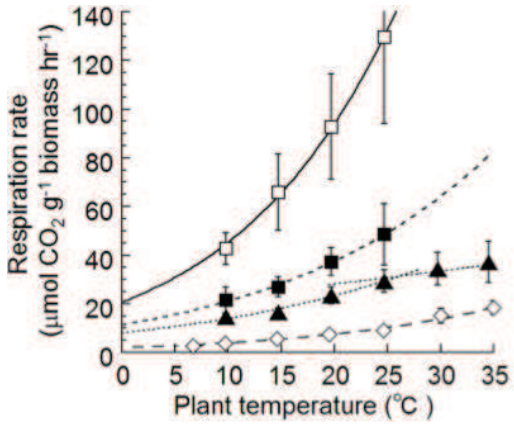


図１　サクラソウの呼吸速度の季節変化
それぞれ、□ , 春の地上部全体；■ , 春の地下部；◇, 夏の地下部；▲，早春の地下部の呼吸速度を示します。春植物のサクラソウは地上部が枯れた後にあたる夏の期間、地下部の呼吸速度を低く抑えていました（Noda et al. 2007 より改変）。

間には、地下部の呼吸速度が非常に低い値となりました（図１）。個体の年間の物質収支をシミュレートしたところ、この低い呼吸速度が年間の物質消費を抑え、物質収支をプラスにすることに寄与していることが示されました（Noda et al. 2007 Journal of Plant Research）。

２．高緯度北極圏ツンドラ生態系における維管束植物の分布の解明

高緯度北極圏に位置するニーオルスン（スバールバル諸島、ノルウェー領）のツンドラでは、近年、急激に氷河が後退しつつあります。ここでは氷河の末端に近くの遷移初期のエリアから、海岸に近い植被の発達したエリアまでの遷移勾配があり、順 に Saxifraga oppositifolia、Dryas octopetala、Salix polaris の３種が優占しています。これら３種の分布が生態系の純一次生産（NPP）の空間的分布に与える影響を明らかにするため、それぞれの個葉の光合成特性や窒素含量を測定しました。その結果、３種は光飽和時の光合成速度および窒素含量が大きく異なり、窒素利用特性がこれらの種の分布を決定していることが示唆されました（Muraoka et al. 2008 Journal of Plant Research）。

3. 冷温帯落葉広葉樹林における個葉の光合成特性の季節・年変動の解明

岐阜大学高山試験地の落葉広葉樹林では、長期にわたる観測から、森林全体の NPP は季節的変動だけでなく、大きな年変動をすることが知られています。しかし、NPP の年変動に対して、葉のバイオマス量や土壌呼吸速度はほとんど年変動をしません。すなわち、森林を構成する植物の個々の葉の生産量の年変動が、森林全体の NPP の年変動の要因であると考えられます。そこで、落葉広葉樹林において、優占しているミズナラおよびダケカンバについて個葉の生理生態学的特性を、季節を通じて５年間観測しました。その結果、落葉広葉樹の生理生態学的特性が顕著な季節・年変動を示し、さらに、通常の生態系モデルでは無視されているこれらの季節・年変動が，森林全体の物質生産量の年変動に大きく寄与していることが明らかになりました (Muraoka et al. 2010 Journal of Plant Research)。

４．個葉の分光特性の観測

JAXA（宇宙航空開発研究機構）では長期の地球環境変動を観測することを目的として気候変動観測衛星 GCOM-C1 の打ち上げを計画しています。この GCOM-C1 に搭載される多波長光学放射計（SGLI）のアルゴリズム開発プロジェクトにおいて、私は個葉の分光特性（分光反射率・透過率）データの観測を重点的に行ってきました。植物群落の反射率は、その群落の葉面積指数（LAI）、葉の角度分布、さらに群落を構成している葉や幹など群落の構成要素の反射率・透過率により決まります。一方、個葉の分光特性は、色素量や含水率などの生理生態学的な

写真 ニーオルスンのツンドラの様子
手前が遷移後期のエリア、右の奥に白く見えるものが急激に後退しつつある東ブロッガー氷河です。氷河の後退により遷移勾配が生じています。

特性を反映しており、種や生育環境により異なる上、顕著な季節変化をします（図２）。したがって、リモートセンシングで得られる群落の分光反射率から放射伝達モデルで LAI を推定するためには、正確な個葉の分光特性データが不可欠です。そこで、様々な functional type の種について、いくつかの季節に分光特性を測定しました。これらの測定した分光特性データは Data paper として投稿中です。さらに、これらの測定の中で、積分球による針葉を含む細い葉の分光特性を測定する方法の開発にも取り組みました。個葉の分光特性は、対象の葉表面から反射した光、あるいは透過した光を積分球の内壁で多重散乱させて分光計で測定します。これにより、葉表面の鏡面反射や細かい凹凸が測定値に与える影響を除くことができます。しかし、イネ科草本の葉や針葉などの細い葉の場合、測定光が葉に当たる際に隙間が生じてしまうため、測定は困難でした。そこで、ほとんどの葉は 400 nm 付近で透過率がほぼゼロになることを利用し（図２）、非破壊的に簡便な方法で測定することができました（Noda et al. 2013 Plant, Cell & Environment）。このような個葉レベルでの詳細な分光特性データは、今後、広域の植生について生理生態学的機能の情報をリモートセンシングにより得る上でも役立つものと期待されます。

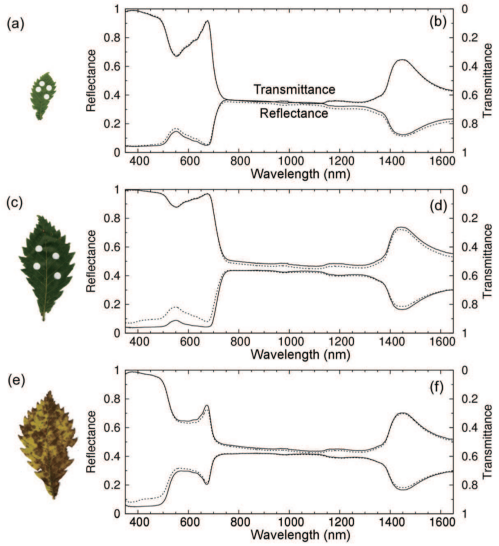


図 2. ミズナラの葉の様子と分光反射率・透過率の季節変化
展葉直後（6 月上旬；a, b）、盛夏（8 月；c, d）、落葉直前（10 月中旬；e, f）。a, c の葉の白い丸は色素定量のためにリーフディスクを抜いた跡です。季節により分光特性のパターンが大きく変化する一方で、400 nm 付近での透過率がほぼゼロとなっていることが分かります（Noda et al. 2013 より）。

南カリフォルニア、Mojave 砂漠

アウトリーチ活動

Outreaches

茨城県高等学校文化連盟 自然科学部 冬季合宿

東京大学　寺島一郎

2012 年 12 月 15 日に、茨城県の高校の自然科学関係の部活動部員や指導の先生方 160 人へ、寺島が「光合成のキモ」と題して、光合成の仕組みの講義でした。とくに天文部の部員が多かったので、光の話を中心にしました。光合成に緑色光も使われることを初めて知った生徒や先生も（！）多かったようです。夜は先生方と理科教育などについて語りながら飲みました。翌朝は、各高校自慢の天体望遠鏡で土星や木星を見せてもらいました（土星の輪を見たのは小学校の時以来でした）。日が昇ってからは、太陽の黒点やフレアを見せてもらいました。

学術集会案内

Miscellaneous nformation

日本植物学会大会シンポジウムのお知らせ

9 月 13 日（金）～ 15 日（日）の日程で行われる、日本植物学会第 77 回大会において、本新学術領域に関連した二つのシンポジウムが行われます。学会シンポジウムですので、参加には大会への登録が必要です。詳しくは大会ホームページをご覧下さい（http://www.knt.co.jp/ec/2013/bsj77/index.html）。

１）環境変動への植物の呼吸の応答：ミクロからマクロまで縦断的な理解に向けて（野口 航・伊藤 昭彦）

陸上植物の呼吸量は光合成による総 CO_2 固定量の約半分（人為的放出の約 6 倍相当）を占め、温暖化などの環境変動に敏感に応答することが知られております。しかし、研究者人口が少ないこともあり、植物の呼吸のミクロからマクロまでの縦断的な理解やモデル化にはほど遠い状況です。本シンポジウムでは、植物の呼吸に関してスケールやアプローチの異なる講演をしていただき、その包括的な理解・モデル化に向けて分野を超えた共同研究の契機を作ってもらいたいと考えております。高 CO_2 環境への応答機構を主に生化学的な観点から議論しようという趣旨です。

―プログラム―

「環境変動への植物の呼吸の応答：ミクロからマクロまで縦断的な理解に向けて」

オーガナイザー：野口　航（東大・理）
伊藤 昭彦（国立環境研）

1. ミトコンドリアにおけるシアン耐性呼吸酵素（AOX）の構造と機能
   伊藤 菊一（岩手大学農学部　寒冷バイオフロンティア研究センター）
2. アンモニア分析からわかってきた植物の窒素利用と光呼吸との関係
   宮澤　真一（農業生物資源研究所）
3. 落葉広葉樹の枝呼吸の空間的なバラツキと、梢端部の葉特性との関係について
   飯尾　淳弘（静岡大学農学部）
4. 根を含む実生から巨木までの植物個体呼吸スケーリング
   森　茂太（山形大学農学部食料生命環境学科森林科学コース）
5. 群落スケールの生態系呼吸　ー炭素循環および熱循環の視点からー
   斎藤　琢（岐阜大学流域圏科学研究センター）
6. 地球環境研究のための植物呼吸モデルの高度化
   伊藤　昭彦（国立環境研究所　地球環境研究センター）

２）植物と流れ（寺島一郎）

気孔によるガス交換の制御、木部の水輸送や篩部の有機物輸送のメカニズムについては、古くから研究が行われてきました。これらの分野の様々な局面で、著しい勢いで分子レベルの理解が進んでいます。気孔孔辺細胞の H^+-ATPase の活性制御に膜交通が関与していることが橋本らによって示されたことなどはその一例です。1992 年に

Agre によって見いだされたアクアポリンの研究も進み、H_2O の透過性のみならず、光合成において重要な役割である CO_2 透過性も注目されています。葉肉細胞の CO_2 透過性は、気孔の挙動と連動する場合も多く、CO_2 透過性アクアポリン（cooporin）の制御メカニズムの解明が待たれます。水輸送においては、木部閉塞に関する研究が著しく進み、これまで根圧による re-filling によって起こると考えられてきた閉塞道管の修復が、昼間にも起こっていることが明らかになりました。篩部における原形質連絡のダイナミックな消長が、転流の制御の鍵を握っていることも明らかになってきました。また、長距離輸送経路である木部や篩部については、システミックな情報伝達経路としての役割も注目されています。このシンポジウムでは、シンポジストの最新のデータも含めてこれらの分野を概観し、今後の研究の可能性について議論したいと考えています。

―プログラム―

「植物と流れ」

オーガナイザー：寺島一郎（東大・理）

1. 植物と流れ：Overview をかねて
寺島一郎（東京大学大学院理学系研究科）
2. H+-ATPase 局在化因子 PATROL1 による気孔運動と成長制御
橋本（杉本）美海（九州大学大学院理学府）
3. 水輸送と CO_2 輸送の分子基盤：アクアポリン
且原真紀（岡山大学資源植物科学研究所）
4. シロイヌナズナ気孔応答変異体の解析から見えてきた気孔コンダクタンスと葉肉コンダクタンスの制御機構
溝上祐介（東京大学大学院理学系研究科）
5. 原形質連絡による転流の制御
西田生郎（埼玉大学理学部分子生物学科）
6. 維管束による水輸送：輸送の安全性と適応戦略
種子田春彦（東京大学大学院理学系研究科）

領域からの案内

第４回若手ワークショップ

日時：2013 年 10 月 30 日（水）～ 11 月 1 日（金）

場所：宮城蔵王ロイヤルホテル　（http://www.daiwaresort.jp/zaou/）

第８回班会議

日時：2014 年 1 月 25 日（土）から 26 日（日）

場所：名古屋大学農学部

記事募集

ニュースレターは年 2 回の発行となります。計画研究や、公募研究の内容紹介、そして領域の大きな目標の一つである若手研究者育成のため、若手の自己紹介を積極的に行っていく予定です。さらに、研究成果の紹介も行いたいと思います。記事の寄稿をお願いいたします。

掲載を希望される方は編集委員会の彦坂幸毅または愛知真木子までお気軽にご連絡ください。掲載希望がない場合は、編集委員会が人選し、記事執筆を依頼します。その際には是非ともお引き受けくださいますよう、よろしくお願いいたします。

植物高 CO_2 応答ニュースレター　８号

2013 年 8 月発行

発行人　寺島 一郎

編集委員会　野口 航・種子田 春彦・愛知 真木子・楠見健介・彦坂 幸毅（編集長）

表紙　安立美奈子

連絡先　彦坂 幸毅　hikosaka@mail.tains.tohoku.ac.jp

愛知 真木子　makiko@isc.chubu.ac.jp

植物高 CO_2 応答ニュースレター　第８号