

「環境変動に対する植物頑健性の解明と応用に向けた基盤技術の創出」  
平成27年度採択研究代表者

H28 年度  
実績報告書

三宅親弘

神戸大学大学院農学研究科  
准教授

活性酸素生成抑制システムの非破壊評価系の確立とフィールドへの応用  
～危機早期診断システム構築～

## § 1. 研究実施体制

### (1)「三宅」グループ

- ① 研究代表者:三宅 親弘 (神戸大学大学院農学研究科、准教授)
- ② 研究項目
  - ・ROSマーカー維持システムの非破壊評価系確立とそのフィールド検証

### (2)「鈴木」グループ

- ① 主たる共同研究者:鈴木 雄二 (東北大学大学院農学研究科、助教)
- ② 研究項目
  - ・イネにおける光呼吸の強化がROSマーカー維持システムの頑健性とフィールドでの生産性に及ぼす影響の検証

### (3)「野口」グループ

- ① 主たる共同研究者:野口 航 (東京薬科大学生命科学部、教授)
- ② 研究項目
  - ・ROSマーカー維持システムとしての呼吸鎖の役割の精査とフィールドでの有効品種の探索

### (4)「遠藤」グループ

- ① 主たる共同研究者:遠藤 剛 (京大生命科学研究科、准教授)
- ② 研究項目
  - ・ROSマーカー維持システムにおける循環的電子伝達の役割の解明、及び特定網室での解析

(5)「伊福」グループ

① 主たる共同研究者:伊福 健太郎 (京都大学大学院生命科学研究科、助教)

② 研究項目

・ROSマーカー維持システムにおける酸素発生抑制機構の解明、及び、ROSマーカー変動に伴う遺伝子発現解析

(6)「早乙女」グループ

① 主たる共同研究者:早乙女 孝行 (分光計器(株)製造部システム課、参事補)

② 研究項目

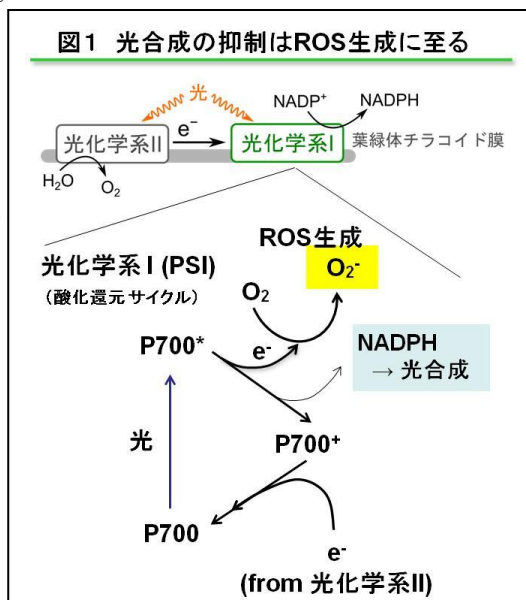
・フィールド環境で使用可能なROSマーカー非破壊評価装置の開発

## § 2. 研究実施の概要

植物は、成長のために光合成をおこなう必要があります。光合成では、二酸化炭素( $\text{CO}_2$ )を固定し、植物自身が利用できるエネルギー貯蔵物質・糖を作るためのエネルギーを太陽光から得ています。つまり、太陽光は植物にとって不可欠なものであります。しかしながら、時として、太陽光は植物の成長を脅かす非常に危険なものになりえます。

私たちが生活する地球環境は、植物の光合成にとって必ずしも最適なものではありません。昨今、見聞きする気温の乱高下、降水量の変動など、植物の光合成を制限する要因は事欠きません。たとえば、低温は植物の細胞の働きを低下させる、光合成活動を抑制します。また、高温状況での日照りは、植物にとって水不足をもたらします。これに対して、植物は自身の水分損失を抑えるために、生葉にある  $\text{CO}_2$  の取込み口(気孔)を閉じてしまいます。その結果、植物は光合成が抑制されます。このように、環境要因による光合成能低下は、植物・作物自身がつもつ潜在成長能力を「約 5 分の 1」へ落し、生育抑制をもたらしてしまいます。

光合成が抑制される状況で、 $\text{CO}_2$  固定に太陽光のエネルギーが使われなくなります。太陽エネルギーは、植物の葉で光合成が営まれる葉緑体・チラコイド膜に吸収され、 $\text{CO}_2$  固定のためのエネルギー化合物 NADPH 生成に使われます。光合成できない状況では、光エネルギーが NADPH 生成に利用されず過剰となってしまいます。この時、余った光エネルギーは、チラコイド膜において大気中に 20%も存在している酸素  $\text{O}_2$  へ電子が渡される反応に使われ、細胞にとって非常に有毒な活性酸素(ROS)を生成します(図 1)。この ROS は蓄積すると、光合成の機能に損傷を与え、植物生育抑制の原因となってしまいます。



研究代表者は、これまでの研究の中で、ROS 生成を抑制するシステムを植物自身が本来もっていることを明らかにしてきました。ROS は、光合成電子伝達系での電子の流れが滞ることで生成します(図 1)。チラコイド膜にある光化学系 II と I に吸収された光エネルギーは光化学系 II で水 ( $\text{H}_2\text{O}$ )を光酸化することで光化学系 I への電子の流れを生み出し、光化学系 I で NADPH を生成します。光化学系 I (PSI)では、反応中心クロロフィル分子(P700)が光エネルギーを吸収し、エネルギーをもった P700 ( $\text{P700}^*$ )が生成します。この  $\text{P700}^*$ のもつエネルギーが NADPH 生成に使われ、 $\text{P700}^*$ が酸化されたのちに  $\text{P700}^+$ が生成します。この時、 $\text{P700}^+$ が光化学系 II からの電子を受け取り、元の P700 へ戻ります。この一連の P700 の分子種変換を PSI 酸化還元サイクルと呼びます。このサイクルから明らかなように、NADPH へエネルギーが渡らない状況、光合成が抑制された状況で、 $\text{P700}^*$ から  $\text{O}_2$  へエネルギーが渡り、ROS が生成してしまいます。研究代表者はこれまで、植物の光合成が抑制される環境で  $\text{P700}^+$ を維持するシステム (P700 酸化システム: この生理的役割が ROS 生成抑制である) が働き、PSI 酸化還元サイクルで  $\text{P700}^*$ が生成する効率が

低下され、ROS 障害が抑制されることを、見出してきました。

本プロジェクトでは、変動する地球環境の中で、安定した植物・作物の生産性確保を可能にするために、以下のことに取り組みます。まず、(1)植物の ROS 生成抑制システムの頑健性をモニタリングできる非破壊評価測定系を、理論と方法論の両面において、ROS 生成抑制をモニターできるマーカーを確立することにより実証します。さらに、(2)マーカー検知装置の開発を行い、栽培環境においてマーカー測定を通して ROS 生成のストレス状況を判断できる「危機早期診断システム」の確立を行い、利用普及を目指します。

ROS 生成抑制をモニターできるマーカーとして、PSI 酸化還元サイクルを構成する P700<sup>+</sup>の存在割合を示す Y(ND)を ROS マーカー候補としています。実際、Y(ND)の値が大きい植物では ROS 障害が抑制される、あるいはこの値が小さい植物では ROS 障害が促進されることが、実験室環境で明らかになっています。

平成28年度は以下のことを行いました。(A) ROS マーカー非破壊評価装置の開発:早乙女グループは、ROS マーカー測定装置の基本仕様の開発を行い、三宅グループとの性能試験によりプロトタイプ1を開発しました。(B)ROS 生成抑制メカニズムの解明:鈴木グループは光呼吸が、野口グループはミトコンドリア呼吸が ROS 生成抑制に貢献していることを明らかにしました。光化学系 II から光化学系 I への電子伝達反応制御を目的に、遠藤グループは循環的電子伝達反応が ROS 生成の緩和に貢献していることを示した。伊福グループは、ROS 応答遺伝子の発現が ROS 生成をもたらすパルス光処理により実際に促進されること、三宅グループは ROS マーカーが増大する環境で酸化ストレスを与える活性カルボニルの蓄積をとらえることに成功しました。さらに、三宅グループは、フィールドにおいて生育抑制が生じる環境で ROS マーカーの増大が実際に生じることを見出しました。

さらに、本年度の大きな成果として、ROS 生成を抑制するシステム、つまり P700 を酸化型に維持し、ROS マーカーである Y(ND)誘導を与えるシステムを「P700 酸化システム」と命名し、世界で初めて、その存在、多様性、分子メカニズム、そして最初に酸素発生を始めた光合成生物(シアノバクテリア・ラン藻)がすでに獲得し安全な光合成を可能にしていたことを明らかにし報告しました(以下の論文◆)。これは、すべての光合成物に「P700 酸化システム」が適用できる「頑健性」を解明したことを意味し、CREST プロジェクトの課題である「頑健性解明」への貢献を果たせたものと判断しています。

◆根拠となる論文

(1) Shimakawa G, Ishizaki K, Tsukamoto S, Tanaka M, Sejima T, Miyake C. (2017) The Liverwort, *Marchantia*, Drives Alternative Electron Flow Using a Flavodiiron Protein to Protect PSI. *Plant Physiology* 173(3):1636-1647.

(2) Shimakawa G, Matsuda Y, Nakajima K, Tamoi M, Shigeoka S, Miyake C. (2017) Diverse strategies of O<sub>2</sub> usage for preventing photo-oxidative damage under CO<sub>2</sub> limitation during algal photosynthesis. *Scientific Reports* 2017 Jan 20;7:41022. doi: 10.1038/srep41022.

(3) Shimakawa G, Shaku K, Miyake C. (2016) Oxidation of P700 in Photosystem I Is Essential for the Growth of Cyanobacteria. *Plant Physiology* 172(3):1443-1450.