

「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と  
生産物活用のための基盤技術の創出」

平成23年度採択研究代表者

H23 年度 実績報告
----------------

鹿内利治

京都大学大学院理学研究科・教授

構造と進化の理解に基づく光合成の環境適応能力の強化

## §1. 研究実施体制

### (1) 鹿内グループ

- ① 研究代表者: 鹿内 利治 (京都大学大学院理学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・サイクリック電子伝達の最適化の解析
  - ・光化学系 I の強化: 還元側強化、高等植物

### (2) 池内グループ

- ① 主たる共同研究者: 池内 昌彦 (東京大学大学院総合文化研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・シアノバクテリアでの光化学系 II 水分解系の解析
  - ・光化学系 I の強化: 還元側強化、微細藻類
  - ・光化学系 I の強化: 集光アンテナの強化
  - ・光化学系 I の強化: 光化学系 I アセンブリーの強化

### (3) 高橋グループ

- ① 主たる共同研究者: 高橋 裕一郎 (岡山大学大学院自然科学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・光化学系 I の還元側の機能強化
  - ・光損傷した光化学系 I の修復の機能強化
  - ・光化学系 II の水分解系の機能強化

#### (4) 牧野グループ

① 主たる共同研究者: 牧野 周 (東北大学大学院農学研究科、教授)

#### ② 研究項目

- ・サイクリック電子伝達系の最適化
- ・炭酸固定の強化と光合成系全体の最適化
- ・革新的光合成測定技術の開発

## § 2. 研究実施内容

チーム全体として、次年度から本格的解析を開始するための準備を行なった。またグループ間での共同研究を開始した。

### (1) 鹿内グループ

NDH 複合体に依存するサイクリック電子伝達は、葉緑体における酸化ストレスの回避に機能していると考えられる。我々のグループの目的は、サイクリック電子伝達の最適化により、他のグループの成果として得られる光化学系の強化に耐えうる柔軟な光合成装置をデザインすることである。また、微細藻類から得られる成果をシロイヌナズナで評価し、イネの光合成に改変の繋ぎ役を果たすことである。そのため、30 近くのサブユニットからなる NDH 複合体の蓄積量を人為的に改変し、その効果を評価すること(計画1)、シロイヌナズナが実際 NDH 複合体の蓄積量を制御するシステムの解明、改変(計画2)を行なう。計画1では、NDH 複合体の安定化に関わる光化学系 I との超複合体形成のリンカーの過剰蓄積の効果を解析するラインを作製した。今後は、超複合体の蓄積量に対する影響を評価する。また新規アセンブリー因子の機能解析を行ない、その改変による蓄積量の制御可能性を検討する。計画2では、シロイヌナズナの様々なアクセションの NDH 複合体の蓄積量を調べたが、今のところ、大きな変動は見つかっていない。さらに NDH サブユニット遺伝子の発現が変化する環境ストレスを調査した。今後は、ストレスによる NDH 誘導の差異をアクセション間で比較し、それに関わる制御遺伝子の特定を目指す。

### (2) 池内グループ

本グループの目的は、シアノバクテリアを用いて、光化学系 I と光化学系 II のしくみを応用した強化を実証し、高等植物につなげる基盤を確立することである。

光化学系 II では、水分解系から外へつながる H<sup>+</sup>チャネルのしくみを強化することで、水分解系の光阻害を軽減する可能性を探る。そのために、反応中心 *psbAIII* 遺伝子を操作できる土台となる株  $\Delta psbAII$  を作出した。今後は、アミノ酸変異導入によって、既存の H<sup>+</sup>チャネル候補の破壊による検証と新しいチャネルの創出をデザインする。光化学系 I では、アセンブリーや電子伝達、光捕集などのしくみを応用して強化を実証し、光化学系 II の光阻害の軽減と明反応全体の増強の可能性を探る。光捕集として、最近我々が発見した新しい光捕集遺伝子 *cpcL* に強いプロモータを導

入した DNA コンストラクトを作製した。またアセンブリー因子として高橋らが明らかにした *ycf3*、*ycf4* の強化株、電子伝達体フェレドキシン、フラビントキソンの強化株を作製中である。また、これらの遺伝子を強制発現する共通プラットホームを開発した。

### (3) 高橋グループ

本グループの目的は、真核藻類の緑藻クラミドモナスの葉緑体形質転換系を用いて、強光ストレス環境下での光化学系 I と II の光阻害を軽減することにより機能強化した形質転換株を作出することである。光化学系 I 還元側の機能強化のため、還元側に機能するタンパク質の大量発現のためのベクター作製を進めた。また、光損傷した光化学系 I の修復機能強化のため、修復に重要な生合成機能の解明を行い、生合成に必須な葉緑体 *ycf3* と *ycf4* 遺伝子の過剰発現系のベクターの作製を進めた。一方、強光下での光化学系 II 酸素発生系の光阻害の軽減のため、水分解反応により生成する H<sup>+</sup>の排出チャンネルの構造改善を進める。そのため、H<sup>+</sup>チャンネルに関与すると考えられるアミノ酸を含むタンパク質をコードする葉緑体 *psbA* 遺伝子の形質転換ベクターを作製した。今後は、このベクターを用いて H<sup>+</sup>チャンネルで機能すると考えられるアミノ酸を特異的に置換し H<sup>+</sup>チャンネル構造の解明と強光下での機能強化を進める。

### (4) 牧野グループ

サイクリック電子伝達系の変異体のうち、イネの NDH 欠損変異体 *ccr6* の光合成生理解析を行い、欠損変異体において低温・低照度で光合成機能が低下していることがわかった。また、イネにおけるリニア電子伝達系の制限要因である *PETC* (シトクローム *b6・f* のリスケタンパク質)と *ATPD* (CF1 の  $\delta$  サブユニット)の過剰発現体と発現抑制体の作製を試み、前者に関しては、数系統の変異体が選抜されつつある。これらの電子伝達系の変異体を材料に、光合成炭酸固定酵素 *Rubisco* の活性化に及ぼす影響について調べ、光合成系全体での最適化バランスを解明していきたい。また、着葉レベルでの光化学系 II と I の量子収率と電子フラックスおよびガス交換の同時測定装置の作製も継続している。