

「今日の話題」原稿

京都大学大学院生命科学研究科 山野隆志・福澤秀哉

「微細藻の光合成を支える細胞膜と葉緑体包膜の重炭酸イオン輸送体」

微細藻は光合成によって油脂・デンプン・色素などを蓄積することから、近年バイオテクノロジー分野で利用されつつある。光合成による有用物質の生産性を限定する因子の中で、CO₂の供給は大きな問題である。バクテリアから動物まで多くの生物が環境中のCO₂濃度を感知することは知られているが、微細藻は、CO₂濃度の変化に応じて、その光合成活性を常に維持するために特徴的な「**順化**」機構を持つ。とりわけ、細胞が光を十分に受けていてもCO₂が不足すると、細胞は能動的なCO₂濃縮機構（CO₂-Concentrating Mechanism ; CCM）を誘導して光合成を維持することが、1980年に緑藻クラミドモナスで初めて報告された⁽¹⁾。しかし、その主役となる輸送体の実体については解明が進んでいなかった。藻が生息する水中では、CO₂は水と反応して生じるHCO₃⁻と平衡状態で存在する。CO₂と異なり、電荷を帯びたHCO₃⁻は細胞膜や葉緑体包膜を容易には通過できないので、藻は細胞膜と葉緑体包膜という2つの障壁を乗り越えて葉緑体内にHCO₃⁻を取り込む必要がある。葉緑体ストロマにHCO₃⁻を輸送・濃縮することで、CO₂に対して親和性の低いリブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ（Rubisco）の欠点を補い、光合成を維持できる。

変異株の単離や遺伝解析が可能なモデル緑藻クラミドモナスでは、CO₂欠乏条件下で誘導される遺伝子が見出されており、その中に複数の膜タンパク質をコードする遺伝子が含まれる。その中でも、2つの膜タンパク質HLA3とLCIAが協調的に発現して葉緑体にHCO₃⁻を輸送することが、我々と米国の研究グループによる独立した研究により相前後して明らかになった^(2, 3)。

HLA3（High Light Activated protein 3）は12回膜貫通ドメインをもち、当初は強光ストレスで誘導される**基質不明のABC輸送体**として報告されていた。今回我々は、HLA3がCO₂欠乏条件下で誘導されること、細胞膜に局在することを示

した。さらに HLA3 の欠失変異株は、弱酸性培地で野生型と同様の光合成特性を示すが、 HCO_3^- が無機炭素の大部分を占める弱アルカリ性培地では細胞内への無機炭素取りこみ速度が低下し、光合成の無機炭素に対する親和性が低下した。これらの知見から、HLA3 は弱アルカリ性環境で細胞外の HCO_3^- を細胞内に能動的に輸送する ATP 依存性の膜輸送体であることが判明した。一方、6 回膜貫通ドメインをもつ LCIA (Low- CO_2 **Inducible** protein A) は、ギ酸-亜硝酸輸送体 (アニオンチャネル) のファミリーに属するタンパク質で、 CO_2 欠乏条件で葉緑体包膜に蓄積された。LCIA の欠失変異株も、HLA3 の場合と同様に無機炭素の取り込み能が低下し、光合成の無機炭素に対する親和性が低下した。さらに、他の輸送体が発現していない高 CO_2 条件で両遺伝子を強制発現すると、無機炭素の取りこみ速度が上昇した。これらの結果から、LCIA は、HLA3 により細胞質に輸送された HCO_3^- を、葉緑体内に取り込むアニオンチャネルとして機能すると推定した。興味深いことに、*LCIA* 遺伝子の変異により葉緑体包膜から LCIA が欠失すると、核における *HLA3* 遺伝子の転写が阻害される⁽²⁾。つまり、核遺伝子 *HLA3* の発現が葉緑体包膜の LCIA タンパク質に依存することから、葉緑体から核へのレトログレードシグナルにより HLA3 が発現制御を受けるという興味ある事実が浮かび上がってきた。

微細藻の中ではシアノバクテリアで HCO_3^- 輸送体 BCT1 が、海洋性珪藻ではナトリウム依存的な HCO_3^- 輸送体 SLC4 が報告されており、その重要性が議論されている^(4, 5)。今回緑藻で明らかになった細胞膜局在型の HCO_3^- 輸送体 HLA3 と葉緑体包膜 HCO_3^- チャネル LCIA の遺伝子は、淡水性緑藻に限らず海洋性珪藻を含む多くの微細藻にも保存されており、重要性の検討が今後期待される。

ところで、葉緑体ストロマまで運ばれた HCO_3^- が固定されるには、Rubisco が (HCO_3^- ではなく) CO_2 と選択的に反応するので、炭酸脱水酵素 CAH3 によってストロマに濃縮された HCO_3^- が CO_2 に変換される必要がある。しかし、生成した CO_2 は拡散により葉緑体外に漏出しやすいので、そのままでは光合成効率が低下する。この CO_2 の漏出を避けるために、Rubisco は集合してピレノイドと呼ばれる葉緑体内の顆粒を形成し、固定されなかった CO_2 はピレノイドの周囲に

集合する LCIB/LCIC タンパク質複合体と炭酸脱水酵素 CAH6 により HCO_3^- に変換されて再度ピレノイド内に濃縮される「 CO_2 リサイクル系」が存在する。ピレノイドはデンプン鞘に囲まれ、周囲のチラコイド膜と連結したピレノイドチューブと呼ばれる構造を持つ。これらの形態的な特徴から、葉緑体ストロマに運ばれた HCO_3^- は CO_2 に変換されて効率的に Rubisco に固定されると考えられている (図 1) ⁽⁶⁾。LCIB タンパク質は、CCM が機能する時にピレノイド周辺に集合し、暗所や CO_2 過剰環境では葉緑体ストロマ全体に広がるという CO_2 と光に依存したダイナミックな移動現象が見つかっているが、その移動様式については未だに謎である。近年、多様な HCO_3^- 輸送体をイネやコムギなどの CCM を持たない主要作物に導入し、 CO_2 の吸収量と生産性を高めようとする応用研究が諸外国でも進められており (アイオワ州立大学 M. Spalding 私信)、光合成能力の改良に向けて成果が大いに期待される。

図 1. 緑藻クラミドモナスにおける CO_2 濃縮機構のモデル

(A) クラミドモナス細胞の顕微鏡写真。枠内を(B)で拡大し、模式的に示した。
(B) 細胞膜に局在する HLA3 と葉緑体包膜に局在する LCIA によって、 HCO_3^- が細胞外から葉緑体ストロマまで輸送される。ストロマに濃縮された HCO_3^- は次に、チラコイド膜に局在する未同定の輸送体 (T) によりチラコイド膜ルーメンへと輸送され、炭酸脱水酵素 CAH3 によって CO_2 へと変換される。 CO_2 は拡散によりチラコイド膜を通り、ピレノイド内部の Rubisco によって固定される。ピレノイドを貫通するチラコイド膜はピレノイドチューブと呼ばれ、強調して大きく描かれている。

<文献>

- 1) 福澤秀哉、山野隆志、梶川昌孝：緑藻クラミドモナスにおける無機炭素濃縮機構と脂質代謝 光合成研究 **22**: 174 (2012)
- 2) T. Yamano, E. Sato, H. Iguchi, Y. Fukuda, H. Fukuzawa: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112**: 7315 (2015)
- 3) Y. Wang, D. J. Stessman, M. H. Spalding: *Plant J.* **82**: 429 (2015)

- 4) T. Omata, G. D. Price, M. R. Badger, M. Okamura, S. Gohta, & T. Ogawa: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 13571 (1999)
- 5) 松田祐介、中島健介、菊谷早絵：化学と生物 **52**: 519 (2014)
- 6) T. Yamano, A. Asada, E. Sato, H. Fukuzawa: *Photosyn. Res.* **121**: 193 (2014)

(山野隆志・福澤秀哉, 京都大学大学院生命科学研究科)

<プロフィール>

山野 隆志 (Takashi Yamano) <略歴>2002 年京都大学農学部生物機能科学科卒業／2008 年同大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻(博士課程)修了、博士(生命科学)／2009 年同大学大学院理学研究科博士研究員／2009 年東京大学大学院医学系研究科博士研究員／2011 年京都大学大学院生命科学研究科助教、現在に至る<研究テーマと抱負>環境応答に関わる未知な現象と因子の発見<趣味>酒場放浪と鍵盤楽器演奏

福澤 秀哉 (Hideya Fukuzawa)

<略歴>1981 年京都大学農学部農芸化学科卒業／1986 年同大学大学院農学研究科農芸化学専攻(博士課程)修了、農学博士／1987 年東京大学応用微生物研究所助手／1991 年京都大学農学部助手／1994 年同助教授／1999 年京都大学生命科学研究科助教授／2011 年同生命科学研究科教授、現在に至る<研究テーマと抱負>生命の生存に係わる環境認識と光合成によるエネルギー生産。<趣味>スコアリーディングとフルート演奏

