

2023年5月2日

## 高知で芽吹く新時代の植物学 ～光合成を調節する新しいしくみを発見～

自然科学系理工学部門の山崎朋人助教（責任著者）の研究グループが、光合成装置が光エネルギーを捨てる反応を抑え、光が弱いとき効率的に光合成を行うしくみを発見しました。環境にあわせた光合成能力の最適化に関する今回の発見は、農作物の増産や、二酸化炭素削減などの地球規模の問題解決につながる重要な知見となると考えられます。

この研究成果は、2023年4月26日付（日本時間）、米国科学アカデミー紀要(PNAS, Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A)電子版に掲載されました。については、御多用のところ恐縮ですが、是非、取材方よろしくお願い申し上げます。

### 研究内容

#### <背景>

牧野富太郎博士が活躍されていたころの植物学は主に植物の分類を中心としたものでしたが、それから100年以上を経た現代では、植物の様々な生命現象を分子レベル・遺伝子レベルで理解するという、当時では不可能だった植物学研究が展開されています。例えば、光エネルギーを利用して二酸化炭素を固定し糖を合成する光合成は植物特有の生命現象で、まさに植物学の王道とも言える研究領域です。しかし実は未だに解明されていない謎が次の時代の植物学における宿題としておどろくほど多く残されています。

植物が光合成に利用する太陽光の強さは絶えず変動しており、その変動にあわせて効率よく光合成を調節するしくみが植物にはいくつも備わっています。例えば、光が強ければ強いほど光合成をしようと考えがちですが、実際は直射日光の様な強い光エネルギーが全て光合成装置に送り込まれると光合成装置が壊れてしまうため、植物は一旦受け取った光エネルギーの一部を捨てる反応を働かせ、光合成にブレーキをかけるしくみがあります。夏の晴れた日は草木が気持ちよさそうに光を浴びている様に見えますが、実は強すぎる光に対して必死に対処しているのです。一方で、太陽が雲で遮られ光が弱いときは光エネルギーを捨てる反応を発動させず、得られる光エネルギーを効率的に使って光合成を行います。この光が弱いとき、不思議と光エネルギーを捨てる反応が発動しないことは知られていましたが、どのようにして発動させないのか、そのしくみはわかっていませんでした。

2023年5月2日

## 光を捨てる反応：qE

世界中で光合成研究に使われている緑藻の1種であるクラミドモナスは、qE クエンチング（以後 qE）と呼ばれる光エネルギーを捨てる反応を備えています。qE は光合成装置では一度に処理しきれない過剰な光エネルギーの一部を熱エネルギーに変換してわざと逃がすガス抜きのような反応で、光合成のブレーキ役として光合成装置を強すぎる光から守ります（図1左）。この熱を捨てる反応を担うのが LHCSR3 と呼ばれるタンパク質で、光の強さに応じた量が作られ、集光装置が受け取った光エネルギーの一部を奪って光合成装置に回らないようにします。また、LHCSR3 が光の強さに応じた分だけ作られるのは、青色光受容体フォトトロピン（PHOT）が太陽光中の青色光成分をキャッチし、LHCSR3 遺伝子の発現をオンにするシグナルを発するためです。つまり、PHOT が光を感知して LHCSR3 の発現を促すシグナルが遺伝子に伝達され、その結果光の強度（=シグナル強度）に応じた LHCSR3 タンパク質が生産されて qE が起こる、という反応です。

## 光が弱いとなぜか発動しない qE

強い光によって qE が強力に発動する経路は 2016 年に発見されましたが、一方で光が弱いときに qE が全く発動しない謎は残されたままでした（図1右）。qE が発動するしくみから考えると、弱い光でも PHOT タンパク質は敏感に青色成分をキャッチし、光の程度に応じた LHCSR3 タンパク質が生産され、弱いながらも qE が発動するはずですが、しかし実際には、光が弱いときは限られた光エネルギーを捨てずに大切に光合成に使うための、**qE の発動を抑える未知のしくみ**が働いているというわけです。これまでそのしくみの存在が議論されてきましたが、正体については全く分かっていませんでした。

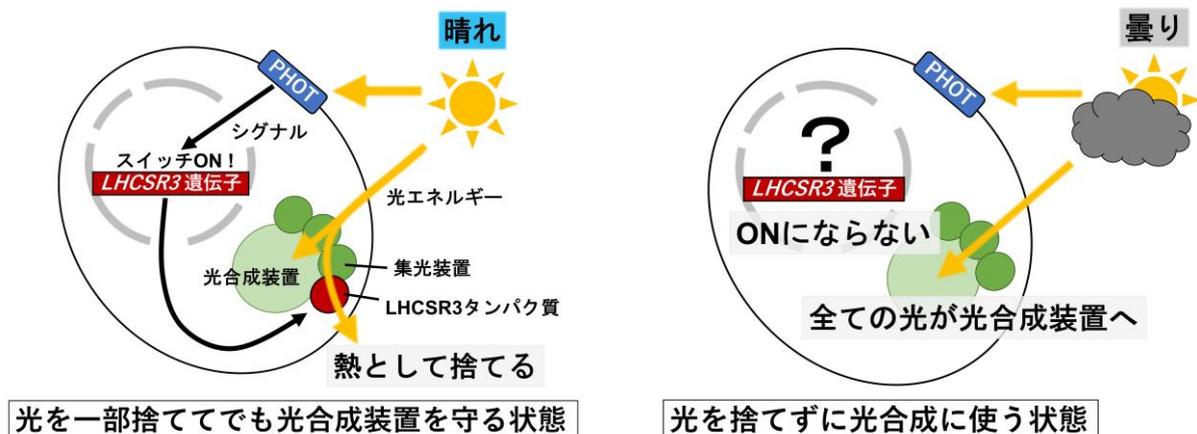


図1：光が強い時(左)には LHCSR3 が作られ、光が弱いとき(右)には LHCSR3 が作られない。

2023年5月2日

## 遺伝子の働きを抑えるマイクロ RNA

私たちの研究グループはこれまでマイクロ RNA (以後 miRNA) と呼ばれる、特定の遺伝子の発現を特定のタイミングで抑制する RNA に注目して研究を行ってきました。miRNA が遺伝子の発現を抑制するしくみは 1998 年に線虫で発見され、その後ほとんどの動植物が miRNA を使って自らの遺伝子の発現を調節していることが明らかになりました。現在では、数万種類もある miRNA の一部が、多細胞生物に特徴的な生命現象である発生・分化・形態形成を支える非常に重要な役割を持つことが明らかにされ、またがんにも密接な関係があることが明らかになっています。この miRNA が働くしくみが動植物に共通して存在するということは、その起源は動植物の共通祖先となった始原の単細胞真核生物にあることが指摘されていますが、どの様にして miRNA が機能するしくみが成立したのか、またどんな役割を果たしていたのか、そうした謎の解明は全くの手付かずでした。この謎に迫るため、私たちは単細胞生物であるクラミドモナスの miRNA に着目しました。

### < 研究の成果 >

#### miRNA が機能しないと、弱い光でも qE が発動する

私たちの研究グループは、クラミドモナスが持つ数百種類の miRNA のほとんどが機能しない miRNA 不全株 (yamasaki et al. PNAS 2016) と野生株を比較し、生理的な違いがないかを丹念に調べました。その結果、弱い青色光を照射したとき miRNA 不全株では LHCSR3 タンパク質が野生株より多く作られることに気付きました (図 2 a)。また、この差は弱い青色光の時だけに見られ、強い青色光では LHCSR3 タンパク質の作られ方に違いがないことも分かりました。さらに PHOT タンパク質の量を比較すると、miRNA 不全株ではより多くの PHOT タンパク質が作られていることが分かりました (図 2 b)。この結果から、光が弱いときには miRNA が *PHOT* 遺伝子の発現を抑制し、*LHCSR3* 遺伝子の発現をオンにするシグナルの強度を弱めるしくみがあるのではないかと考えました。

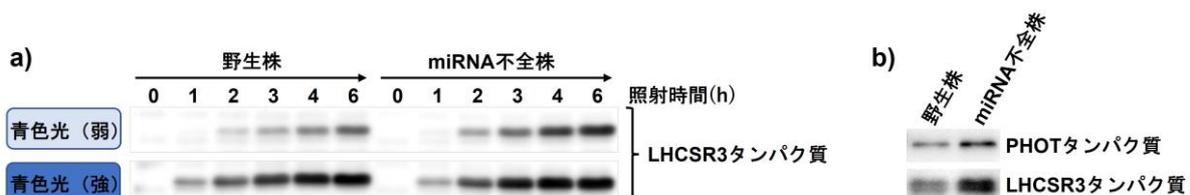


図 2：野生型株と miRNA 機能不全株の LHCSR3、PHOT タンパク質量のウエスタンブロット解析

a) 青色光(弱)を 4 時間照射後、miRNA 機能不全株でより多くの LHCSR3 タンパク質が作られている。

b) 4 時間照射後には、PHOT、LHCSR3 の両タンパク質が miRNA 不全株で多く作られている。

2023年5月2日

## PHOT遺伝子の発現を抑制する種類の miRNA の同定

miRNA 不全株ではほぼ全ての miRNA が機能していません。そこでクラミドモナスが持つ数百の miRNA のうち、どの miRNA が *PHOT* 遺伝子の発現を抑制しているのかを調べることにしました。クラミドモナスの全ゲノム配列と私たちのグループがもつ全 miRNA の配列情報を元にコンピューター解析を行い、*PHOT* 遺伝子に作用しそうな miRNA の候補を2つ (miR910 と crs49) まで絞り込み、その2つの miRNA を CRISPR-Cas を使ったゲノム編集技術によって破壊した株 (以後ゲノム編集株と呼ぶ) を作製しました。このゲノム編集株に対して弱い光を照射して調べたところ、ゲノム編集株では PHOT タンパク質 (図 3a) と LHCSR3 タンパク質が増加し (図 3b)、そのためのより強く qE が働いて多くの光エネルギーが捨てられている (図 3c)、言い換えると、野生株では miRNA が *PHOT* 遺伝子の発現を抑制することによって LHCSR3 タンパク質の生産を抑え、qE が発動しにくくしていることが分かりました。

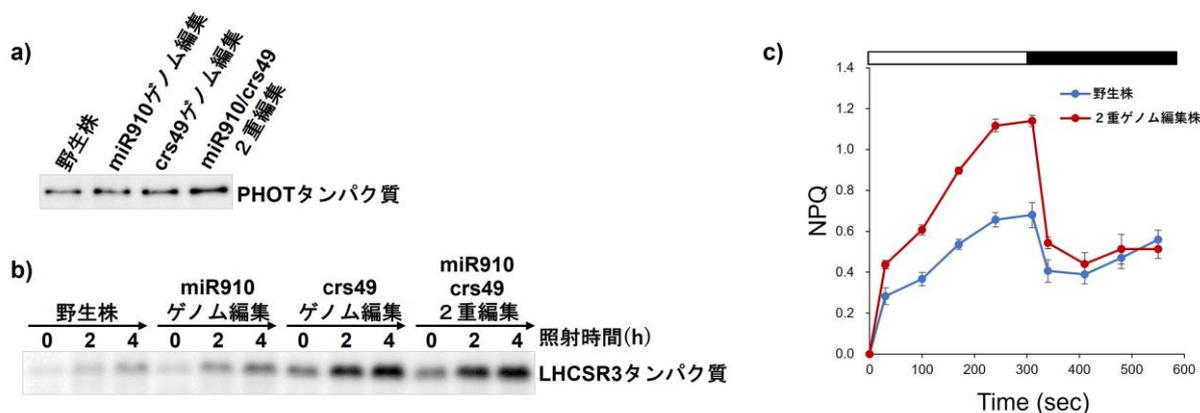


図3：野生型株とゲノム編集株のウェスタンブロット解析と NPQ の測定。

- a) miR910 と crs49 を個別に破壊するより、2種類の miRNA を同時に破壊した2重ゲノム編集で最も PHOT タンパク質量が多いことが分かる。
- b) 野生株では LHCSR3 タンパク質がほとんど作られないような弱い光でも、crs49 ゲノム編集株や2重ゲノム編集株では LHCSR3 タンパク質が多く作られていることが分かる。
- c) qE の程度を NPQ (nonphotochemical quenching、集光装置が集めた光エネルギーがどれだけ光合成装置に受け渡されないか) として測定すると、野生型株に比べて2重ゲノム編集株で強く qE が働いていることが分かる。

## ゲノム編集株における qE の発動は青色光に依存する

クラミドモナスは、PHOT タンパク質から伝えられるシグナルによって *LHCSR3* 遺伝

2023年5月2日

子の発現を誘導する経路とは別に、赤色光（どの光受容体を介するかは不明）によって *LHCSR3* 遺伝子の発現を誘導する経路も備えています。そこで赤色光の照射によって作られる *LHCSR3* タンパク質量を調べたところ、野生株とゲノム編集株の間で違いは見られず、差が見られるのは *PHOT* タンパク質が受容する事のできる青色の成分を含む弱い光が照射された時だけでした（図4）。

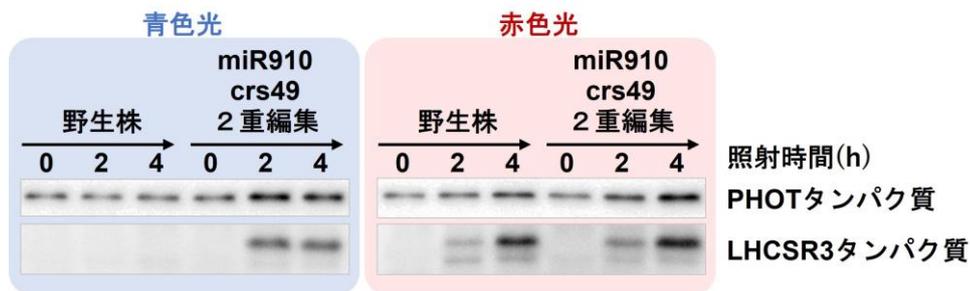


図4：野生型株と2重ゲノム編集株の青色光、赤色光への反応

野生型では *LHCSR3* が発現しない弱い青色光であっても、2重ゲノム編集株では *PHOT* タンパク質が照射2時間後には急激に増加し、*LHCSR3* が作られてしまう（左）。赤色光を照射して *LHCSR3* の発現を誘導しても、野生株と2重ゲノム編集株の間で *LHCSR3* タンパク質量に差は生まれない。

## まとめ

光が強い時は *PHOT* から *LHCSR3* 遺伝子の発現を誘導するシグナルが多く伝達されて *LHCSR3* タンパクが大量に作られ、その結果 *qE* が強く発動します（図5左）。今回の研究では、光が弱いときは *miRNA* が *PHOT* 遺伝子の発現を抑制して *PHOT* タンパク質量を抑え、その結果 *LHCSR3* 遺伝子の発現を誘導するシグナルを大きく減少させ、*qE* を発動させないしくみが存在することが明らかとなりました（図5）。今回の研究によって、なぜ光

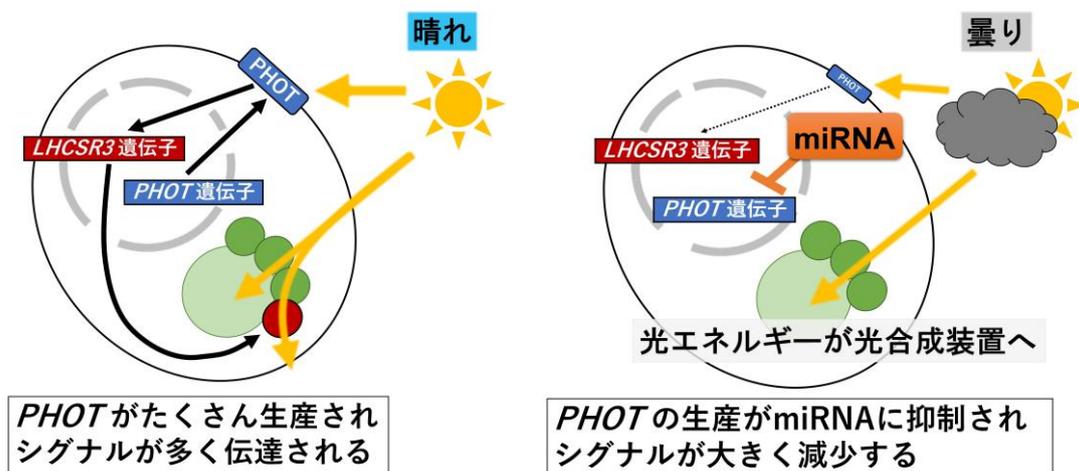


図5：光が強い(左)と *LHCSR3* が作られ、光が弱い(右)と *miRNA* が作用して *LHCSR3* が作られない。

2023年5月2日

が弱いときに光エネルギーを捨てる反応が発動しないのか、という問いに対する1つの答えを出すことができました。

#### <意義・将来展望>

今回の発見の意義は大きく2つあります。

- ① クラミドモナスにおいて、光が弱いときにqEの発動を抑えるしくみを発見した。
- ② miRNAによって制御される生命現象（光合成）を、単細胞生物で初めて発見した。

環境にあわせた光合成能力の最適化に関する今回の発見は、農作物の増産や、二酸化炭素削減などの地球規模の問題解決につながる重要な知見となると考えられます。また単細胞生物においてもmiRNAが重要な生命現象を制御することが明らかとなったことから、単細胞生物を使ったmiRNAの起源に迫る新しい研究の展開につながることを期待されます。

#### <論文情報>

論文名：Small RNA-mediated silencing of phototropin suppresses the induction of photoprotection in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*

(小分子RNAを介したフォトトロピン遺伝子の発現抑制が単細胞緑藻クラミドモナスにおける光防御機構の発動を抑制する)

発表誌：米国科学アカデミー紀要 (PNAS, Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A) 電子版

発表論文はこちらから御確認いただけます。

URL : <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2302185120>

#### 【本件に関する問い合わせ先】

自然科学系理工学部門 助教  
山崎 朋人 (ヤマサキ トモヒト)  
TEL: 088-844-8275  
E-mail: tomohito@kochi-u.ac.jp