Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

# 植物の高CO2応答における遺伝子発現変化

深山, 浩

(Citation)
化学と生物,51(10):710-716

(Issue Date)
2013

(Resource Type)
journal article

(Version)
Accepted Manuscript

(Rights)
©公益社団法人　日本農芸化学会

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/90002852

セミナー室

(1)　植物の高 $CO_2$ 応答における遺伝子発現変化

(2)　深山　浩

(3)　神戸大学大学院農学研究科

(4)　Gene Expression Profiles of Plants Response to Long Term $CO_2$ Enrichment

Hiroshi Fukayama
(Kobe University, Graduate School of Agricultural Science, Laboratory of Crop Science)

## はじめに

大気 $CO_2$ 濃度は現在 400 ppm に達しようとしており，今世紀末には 700-1000 ppm まで増加すると予測されている．この大気 $CO_2$ 濃度の上昇は地球温暖化の主要因と考えられていることから，われわれ人類にとって大きな社会問題となっている．また，アジア，アフリカを中心とした人口増加を考えると，将来的な高 $CO_2$ 環境で作物の収量を増大させることは植物研究者の最重要課題である．これらのことから，大気 $CO_2$ 濃度の増加が植物におよぼす生理生化学的な効果について，グロースチャンバー，オープントップチャンバー，FACE（free air $CO_2$ enrichment：開放系大気 $CO_2$ 増加）システムなど様々な装置を用いて盛んに研究されてきた．そして近年では遺伝子発現変化，特にマイクロアレイを用いたトランスクリプトーム解析がモデル植物を中心に行われている．分子生物学的解析技術の目覚ましい発展により，未知の遺伝子の機能解明も進んでおり，ゲノム情報の量と質が向上することで，トランスクリプトーム解析の重要性は今後ますます高まると考えられる．また，トランスクリプトーム解析は生理学的に重要な新規の遺伝子を発見することにおいても有効である．本稿では，高 $CO_2$ 環境下での植物の遺伝子発現変化に関する研究についてレビューするとともに，イネのトランスクリプトーム解析から見出した，高 $CO_2$ 条件で発現促進される CCT タンパク質 CRCT（$CO_2$ responsive CCT protein）について紹介する．

## 高 $CO_2$ 処理での遺伝子発現変化の特徴と解析における注意点

高 $CO_2$ 処理による遺伝子の転写産物量の変化を明らかにするための手法として，2000 年代前半までは主に個々の遺伝子についてノーザン解析，RT-PCR 解析が行われてきた．そして，2000 年代半ばから高 $CO_2$ 応答においてもトランスクリプトーム解析が適用されるようになった．トランスクリプトーム解析には塩基配列解析に基づいた RNA-Seq 法，SAGE 法やリアルタイム PCR を利用した方法などもあるが，現在のところマイクロアレイ法が最も一般的で解析例が多い．マイクロアレイ法はゲノム情報に基づいて作成された，数千から数万種類のオリゴ DNA を固定したマイクロアレイ用スライドガラスを用いるため，適用可能な植物種がゲノム解析の進んだモデル植物に限られる．しかし今後は，次世代シークエンサーを用いた

RNA-Seq 法によるモデル植物以外のトランスクリプトーム解析例も増えることが期待できる．これらの方法は，いずれも転写産物のプールサイズを反映した結果が得られるわけであり，遺伝子発現が転写後や翻訳後の段階で制御されている場合は，トランスクリプトーム解析の結果とタンパク質含量や活性の測定結果が相関しないこととなる．しかし，転写段階で発現調節される多くの遺伝子に関して有用なデータが得られることから，トランスクリプトームを解析することが有意義であることに間違いはない．高 $CO_2$ 処理した植物における遺伝子発現変化のマイクロアレイ解析例は多いとはいえないが，シロイヌナズナ，イネ，ポプラといった複数のモデル植物で行われてきた[(1)]．高 $CO_2$ 処理の特徴として，塩，乾燥，オゾンのようなストレス処理に比べて有意に発現変化する遺伝子の数が少なく，変化の程度も全般的に低いことが挙げられる[(2)]．基本代謝酵素では，高 $CO_2$ 処理による発現変化は高くとも 2 倍程度である．これは高 $CO_2$ 処理が植物にとって強い処理ではないことを意味している．$CO_2$ 濃度の違いよりも，グロースチャンバーと野外の比較の方が遺伝子発現の変化が大きい例も報告されている[(3)]．また，野外で行われる FACE 実験の場合は，天候や気温の変化，病害虫の接触などによるストレスを受けており，$CO_2$ への反応が鈍化することが指摘されている[(1)]．さらに，高 $CO_2$ 処理の場合は数週間から数カ月間といった長期的な処理を行うことが多く，サンプリングする時点では転写レベルでの応答が低下することもある．また，長期的な処理では処理間での生育のばらつきが生じることから，サンプルの発達ステージ，栄養状態などの条件を合わせるのが困難となる．植物の生育ステージによって，高 $CO_2$ による光合成関連遺伝子の発現変化の傾向が全く逆になることも報告されている[(4)]．これらのことが要因となって誤差が大きくなり，意味ある発現変化がその中に埋もれてしまうことがある．これらのことは，今までに報告されている異なるグループが行ったマイクロアレイ解析結果から，統一した発現変化の傾向を見出すことを困難にしている．イネは生育をそろえやすく，高 $CO_2$ 処理をしても葉の展開速度は大きくは変化しないことから，高 $CO_2$ のトランスクリプトームへの効果を解析するには良い材料と考えられる．そこで次に，われわれが行ったイネを用いたマイクロアレイ解析結果を中心に，植物で比較的共通して認められる遺伝子発現変化について述べることとする．

## 高 $CO_2$ 処理による代謝関連遺伝子の発現変化

1．光合成・基本代謝関連遺伝子

高 $CO_2$ 条件下では基本的に光合成が促進されるために光合成産物である糖やデンプンの蓄積が起こる[5]．また，長期の高 $CO_2$ 処理では葉内の窒素含量の低下が認められることが多い[5]．これらのことから，$CO_2$ 固定，呼吸，窒素固定といった基本代謝に関係する遺伝子の発現が高 $CO_2$ 処理により変化することが予想される．われわれはイネの葉身を材料にして行ったマイクロアレイ解析の結果[6,7]を用いて，葉身で主に発現する基本代謝関連遺伝子をピックアップし，それらの遺伝子に対する高 $CO_2$ の効果について検討した（図 1）．まず，自然光型人工気象室（農業環境技術研究所クライマトロン）で行った実験では，Rubisco に代表される $CO_2$ 固定に関係する遺伝子は発現抑制される傾向があった．また，Rubisco に $CO_2$ を供給するカルボニックアンヒドラーゼ（CA）も発現抑制された．一方，カルビンサイクルにおいてリブロース-1,5-ビスリン酸（RuBP）の再生に関わるフルクトース-1,6-ビスリン酸ホスファターゼ（FBPase），セドヘプチュロース-1,7-ビスリン酸ホスファターゼ（SBPase）などは逆に発現促進される傾向があった．それらに加えて，光合成の最終産物であるデンプン合成に関わる ADP グルコースピロホスホリラーゼ（AGPase），デンプン合成酵素（SS）や窒素固定に関わるグルタミン合成酵素（GS），グルタミン酸合成酵素（GOGAT），スクロースの輸送に関わるスクロース輸送体（SUT）も発現促進される傾向が認められた．$C_3$ 植物の光合成のモデルによると[8]，光合成の律速因子は $CO_2$ 濃度によって変わり，低 $CO_2$ から現在の大気条件では Rubisco の触媒能力が光合成を律速し，高 $CO_2$ 条件では RuBP の再生能力，デンプンやスクロースの合成・輸送が関わる無機リン酸再生能力が光合成を律速すると考えられている．つまり，イネは高 $CO_2$ 条件下では律速要因とならなくなった Rubisco などの $CO_2$ 固定に関わる遺伝子の発現を減少させて，律速要因となる RuBP 再生や光合成の最終産物の合成・輸送に関わる遺伝子の発現を増加させたと考えられる．イネで見られた基本代謝関連遺伝子の発現変化は高 $CO_2$ 下で有利に光合成を行えるようにコントロールされたものと捉えることができるかもしれない．このような遺伝子発現変化は，多少の違いはあるにせよ他の植物種においても認められている[9,10]．では，高 $CO_2$ で育成した植物は高 $CO_2$ 条件での光合成速度が高くなるのだろうか？答えは全く逆であり，高 $CO_2$ 条件で植物を育成すると，高 $CO_2$ 条件での測定であっても，光合成速度は大気条件で育成した植物に比べて

図 1

低下することが多い．この現象は光合成のダウンレギュレーションと呼ばれている．光合成が低下する理由として，高 $CO_2$ 条件で植物を育成すると葉内窒素含量が減少するため，与えられた窒素の各代謝関連酵素タンパク質への分配を最適化させたとしてもポテンシャルとしてはマイナスとなること，遺伝子発現変化の程度が小さいために大幅な窒素分配の変化を起こすことができていないことが考えられる．イネに関しては，高 $CO_2$ 処理をしても二次元電気泳動による葉内タンパク質の発現プロファイルに大きな変化は起こっていなかった[6]．シロイヌナズナにおいても Rubisco 量の減少は認められるが，それ以外の葉内タンパク質の発現プロファイルの変化は少ないことが報告されている[11]．先にも述べたように，高 $CO_2$ 処理による遺伝子発現変化は小さい場合が多く，ここで見られた基本代謝関連酵素遺伝子の発現変化もほとんどが 1.5 倍以下であり大きいわけではない．つまり，遺伝子発現変化が小さく窒素の分配が大きく変化していない状況で，葉内窒素含量が減少するために光合成速度が低下すると考えられる．窒素含量が減少する分子メカニズムは不明であるが，イネにおいては基本代謝関連酵素の中で硝酸還元酵素(NR)が他の窒素同化に関わる酵素と異なり発現抑制されていた(図 1)．イネは窒素源として硝酸よりもアンモニウムを好んで利用するために葉の硝酸同化が着目されることは少ないが，高 $CO_2$ によるダウンレギュレーションを考える上でこの現象は興味深い．

人工気象室と FACE での実験結果を比較すると，FACE においてもおおよその基本代謝関連遺伝子の発現変化は類似していることがわかる（図 1)．しかしいくつか違いが認められ，最も大きな違いは呼吸関連酵素遺伝子の発現が FACE において促進されたことである．FACE においては解糖系のピルビン酸キナーゼ（PK)，ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ（PEPC）や TCA 回路のピルビン酸デヒドロゲナーゼ（PDC)，クエン酸合成酵素（CS）といった酵素遺伝子が発現促進された．ダイズ，シロイヌナズナ，ポプラを用いた FACE における実験結果においても，解糖系，TCA 回路，呼吸鎖に関係する遺伝子は有意に発現促進されている[10,12,13]．また，高 $CO_2$ で育成した植物では呼吸活性が高くなること[12]，ミトコンドリアの数が増加することが報告されている[14]．高 $CO_2$ において呼吸関連遺伝子の発現が促進されるのは，蓄積が増加した同化産物の代謝や輸送，成長の促進を支えるための炭素骨格の供給により多くのエネルギーが必要となるためと考えられる．特に同化産物の師部への積み込みに使われるエネルギーは大きく，呼吸で

得たATPの約30%が使われている[15]．さらに，FACEにおいては葉温の上昇などの複合的なストレスが生じることから，呼吸からのエネルギーがより多く必要となるのかもしれない．このように，FACEにおけるトランスクリプトームの変化としては呼吸が促進されていることを示唆する結果が多く，その要因も理に適っているわけであるが，実際の呼吸活性に関しては高 $CO_2$ で育成した植物で低下するという報告も多くある[14,16]．われわれのトランスクリプトーム解析の結果も人工気象室とFACEで異なっており，呼吸関連遺伝子の発現と実際の呼吸速度についてさらなる詳細な解析が必要である．

基本代謝関連遺伝子の中ではデンプン合成・代謝に関係する遺伝子の発現変化が顕著である場合が多い[4,6,12]．なかでもデンプン合成の鍵酵素であるAGPaseやSS以外に，グルコース-6-リン酸輸送体（GPT）が複数の植物において高 $CO_2$ により発現促進されることが報告されている[10,12]．Leakeyら[12]によると，ダイズの高 $CO_2$ 処理においては代謝関連遺伝子の中でGPTが最も大きく発現促進されている．イネにおいてもGPTはデンプン蓄積が促進される低窒素条件で高 $CO_2$ により顕著に発現促進された．GPTは細胞質から葉緑体へのグルコース-6-リン酸の取り込みに働くと考えられる[17]．よって，高 $CO_2$ 条件ではカルビンサイクルを介した経路だけでなく，細胞質由来のグルコース-6-リン酸をも利用して，デンプン合成を促進させている可能性が考えられる．興味深いことに，弱光下で育成したシロイヌナズナの生育光強度を増加させた際に，最も発現促進されるのもGPTであることが報告されている[18]．また，生育光強度を増加させると野生型では数日の間に光合成能力の増加が認められるが，GPT欠損変異体ではそのような光強度に応答した光合成能力の増加が認められない[18]．これらの結果から，GPTは高 $CO_2$ のように光合成が促進されるような環境変化への適応に重要な役割を担っている可能性がある．

基本代謝関連遺伝子の高 $CO_2$ 応答の中で予想外なのは，光呼吸に関係する遺伝子の挙動である．高 $CO_2$ 条件で光呼吸が抑制されることは自明であることから，光呼吸に関わる遺伝子の発現抑制が起こることが予想されるが，それらは特に大きな発現変化を示さないことが多い[19,20]．高 $CO_2$ 処理においてRubiscoの発現量の減少は多くの植物で認められるが，その減少も植物種により認められない場合がある[19]．トランスクリプトームへの効果を考えると光合成関連遺伝子の発現抑制よりも，デンプン合成・分解や呼吸といった $CO_2$ 固定の後の炭素代謝に関係す

る遺伝子の発現変化の方が顕著である[12]．このような基本代謝関連遺伝子の挙動を見ると，高 $CO_2$ 条件で過剰となったタンパク質の発現を抑制するよりも，必要となる蓄積した糖の利用を促進するような遺伝子発現の応答が起こりやすいように思われる．また，高 $CO_2$ 条件では葉内窒素含量の低下も起こるが，窒素よりも糖の方が遺伝子発現に与える効果が大きいことも報告されており[21]，このことも糖の利用に関係する遺伝子の発現変化が見られやすい要因となっていると考えられる．

2．二次代謝関連遺伝子

二次代謝に関係する遺伝子が高 $CO_2$ 処理により発現促進されることは多く報告されている[4,13,22]．特に，ポプラにおいては高 $CO_2$ 条件下でアントシアニン合成に関わる遺伝子の多くが発現促進される[13]．アントシアニン合成関連遺伝子はスクロースによって特異的に発現促進されることがシロイヌナズナにおいて報告されている[23]．また，スクロース輸送能力の低下したシロイヌナズナ *pho3* 変異体では葉におけるスクロースの蓄積が起こり，アントシアニン合成に関係するロイコアントシアニジンジオキシゲナーゼ(LDOX)とジヒドロフラボノール還元酵素(DFR)が顕著に発現促進される[24]．ポプラの高 $CO_2$ 処理においても類似した応答が認められ，LDOX と DFR が 20-40 倍と大きく発現促進される[13]．これらのことから高 $CO_2$ の効果により光合成が促進されて細胞内でスクロースが蓄積し，それによってアントシアニン合成関連遺伝子が発現促進されると考えられる．さらに，ポプラではアントシアニンの蓄積が増加することにより，葉の光阻害，酸化ストレスに対する耐性が高まり，落葉が遅延するようである．将来の高 $CO_2$ 環境では紅葉が今よりも美しく，長期間楽しめることになるかもしれない．

3．スクロースに応答する遺伝子は高 $CO_2$ 応答において発現変化が大きい？

高 $CO_2$ で顕著に発現促進されたアントシアニン合成やデンプン合成に関係する遺伝子は，グルコースよりもスクロースで効果的に発現促進される[23,25]．また，GPT についてもシロイヌナズナ *pho3* 変異体において約 40 倍に発現量が増加することから[24]，発現にスクロースが関与していることが予想される．これまでの高 $CO_2$ 応答の遺伝子発現解析についての報告を総合的に見ると，窒素よりも糖，そして糖の中でもグルコースよりもスクロースで制御されていると考えられる遺伝子

の方が高 $CO_2$ に対する応答が大きい傾向があるように思われる．細胞内でグルコースのレベルが高まるには，光合成によって蓄積されたスクロースが液胞に存在する酸性インベルターゼの働きにより分解されるスクロース・サイクリングが必要となる[19]．つまり，高 $CO_2$ によって起こる代謝的変化の順序からすると，グルコースよりもスクロースの蓄積の方が先となる．また，酸性インベルターゼの活性には種間差があり，活性の低い種ではグルコースの蓄積によって発現抑制されるとされる Rubisco 量の減少が起こらない[19]．高 $CO_2$ 応答において主に働いているシグナル伝達系が何なのかという問題も重要であるが，このような代謝的な側面から考えると，スクロースによって制御される遺伝子の発現変化が高 $CO_2$ 処理において認められやすいことは妥当な結果といえる．

## 高 $CO_2$ 応答における遺伝子発現調節メカニズム

### 1．高 $CO_2$ 応答のシグナル伝達は複雑

高 $CO_2$ による遺伝子発現変化を引き起こす最も重要なシグナルは糖と考えられる．糖を感知するメカニズムは複数存在すると考えられるが，ヘキソキナーゼを介するシグナル伝達が最も知られている．高 $CO_2$ 条件では光合成が促進されるために光合成組織において糖が蓄積し，そのうちのグルコースやフルクトースといったヘキソースをヘキソキナーゼが感知して光合成関連遺伝子を発現抑制する[19]．また糖レベルの低下が起こった場合には，プロテインキナーゼ SnRK1 が基本代謝を含めた多くの遺伝子の発現調節に働くことが報告されている[26]．その際，トレハロース-6-リン酸が SnRK1 の活性調節に働くこと[27]，デンプン合成を制御することも知られている[28]．さらに，スクロースに対する応答に関係する Arm リピートタンパク質様 ISI1 や MYB 転写因子 PAP1 なども報告されている[23,29]．C/N バランスの感知に関係するユビキチンリガーゼ CNI/ATL31 や転写因子 GNC も高 $CO_2$ 応答に関係する可能性がある[30,31]．また，高 $CO_2$ 条件下で変化する可能性のある無機リン酸，窒素代謝，レドックスもシグナルとして重要かもしれない[32,33,34]．さらに，高 $CO_2$ シグナル伝達ではオーキシン，サイトカイニン，アブシジン酸，エチレンといった植物ホルモンも関係していると考えられている[35]．このように高 $CO_2$ 応答においては多様なシグナルが複雑に絡み合っている可能性がある．これらのうち GNC，トレハロース-6-リン酸合成酵素，アブシジン酸関連遺伝子など

は高 $CO_2$ 条件で発現変化することが報告されているが[9,12]，植物に共通した応答であるのかは不明である．一般的に最も高 $CO_2$ 応答に関係すると考えられているヘキソキナーゼを介したシグナル伝達でさえも，ヘキソース含量と光合成関連遺伝子の発現変化に相関が見られない場合があること[36]，高 $CO_2$ により発現変化する遺伝子の多くがヘキソースに応答しないことから[4]，実質的に高 $CO_2$ 応答において機能しているのかについては疑問視されている．つまり，実際の植物の高 $CO_2$ 応答において個々のシグナル伝達系がどの程度関係しているのかについては，現在のところ全く情報が不足しているといえる．

2．高 $CO_2$ で顕著に発現促進される CCT タンパク質 CRCT

われわれは高 $CO_2$ 応答で実際に働いているシグナル伝達因子を明らかにするために，イネで行ったトランスクリプトーム解析の結果から候補遺伝子を探索することにした．この場合，できる限り $CO_2$ の効果のみを反映した結果を用いたいと考え，人工気象室における結果のみを用いることとした．候補遺伝子を絞り込むに当たり，以下の 4 つの条件を設定した．1) 高 $CO_2$ による発現変化が顕著である，2) 窒素のみに応答していない（図 2 の L-M 区），3) マイクロアレイにおけるシグナル強度の平均値が高い，4) 遺伝子のアノテーションが遺伝子発現調節やシグナル伝達に関係する可能性がある．これら 4 つの条件全てを満たす遺伝子は，高 $CO_2$ 条件で発現促進されるものが 4 個と発現抑制されるものが 4 個の合計 8 個のみであった（図 2）．さらに異なる高 $CO_2$ 処理期間，異なる発達段階の葉を用いて再現性の確認を行った結果，*CRCT* と *M-PK*（マレクチンドメインを持つ受容体型プロテインキナーゼ）の 2 個の遺伝子に絞り込むことができた．*CRCT* は窒素が十分にある条件では高 $CO_2$ による発現変化は少ないが，低窒素条件で顕著に高 $CO_2$ により発現促進された．この窒素に対する応答性から，CRCT の方が光合成のダウンレギュレーションを含めた高 $CO_2$ 応答に関係する可能性が高いと考え，CRCT の生理機能解析から着手することとした[37]．

図 2

CRCT は CONSTANS や TOC1 といった転写因子に共通する CCT ドメインを持つタンパク質である．CCT タンパク質は CCT ドメイン以外に B-box や tify といった Zn フィンガードメインを持つものが多いが，CRCT はそのようなドメインを持たない．CCT ドメインのアミノ酸配列を他の CCT タンパク質と比較すると，シロイヌナズナで糖誘導されることが報告されている ASML2[38] と比較的相同性が高いことがわ

かった．しかし *ASML2* は *CRCT* のオーソログではなく，シロイヌナズナにはアミノ酸配列の相同性の高い *CRCT* のオーソログと思われる別の遺伝子が 2 個存在する．*CRCT* は単子葉植物と双子葉植物が分岐する前から存在する高等植物に保存された重要な遺伝子であると考えられる．

*CRCT* は高 $CO_2$ だけではなく糖（特にスクロース）によっても発現が促進される．しかし，2-デオキシグルコース，3-*O*-メチルグルコースといった代謝できない糖は発現に効果を与えなかった．2-デオキシグルコースはヘキソキナーゼの基質となることから *CRCT* の発現変化にヘキソキナーゼは関与しないことが示唆される．また，*CRCT* は葉身，葉鞘，茎の維管束の師部周辺で発現し，葉身においては明期の終わりにピークとなるような発現の日変化を示した．これらのことから，*CRCT* は光合成によって蓄積された糖を維管束で感知して発現調節されるものと考えられる（図 3）．次に，CRCT の生理機能を明らかにするために，*CRCT* を過剰発現または発現抑制した形質転換イネを作出し，*CRCT* の発現量がイネの生長におよぼす効果を解析した．その結果，形態的な違いとして *CRCT* 過剰発現イネにおいて分げつ角度（株元の開帳度）が大きくなることがわかった．分げつ角度に関しては，分げつ角度の異なるイネ品種を用いた QTL 解析が行われており，最も主要な QTL である *TAC1* が同定されている[39]．また，重力屈性に関わる *LAZY1* が欠失すると株が開帳し分げつ角度が大きくなることもわかっている[40]．しかし，*CRCT* の発現量は *TAC1* や *LAZY1* の発現に影響をおよぼさなかった．また，*CRCT* の遺伝子座は報告されている *TAC1* 以外の分げつ角度を制御する QTL とも一致しない[41]．これらのことから CRCT は品種による分げつ角度の違いには関係していないが，環境条件により変動する光合成産物の蓄積量に応じて分げつ角度の調節に働くものと考えられる．

図 3

現在，CRCT の生理機能についてさらなる解析を進めており，CRCT はデンプン合成に関係する遺伝子の発現調節を担っていることが明らかとなりつつある．特に CRCT はデンプン合成における鍵酵素である AGPase の発現調節に関係している可能性があり，CRCT の発現量と葉鞘のデンプン蓄積量に正の相関が認められている．植物の高 $CO_2$ 応答において最も明確な代謝的変化はデンプン蓄積量の増加であり，トランスクリプトーム解析の結果もそれを裏付けるものであった．イネにおいて葉鞘はデンプンの一次貯蔵組織として機能しており，出穂前の葉鞘のデンプン蓄積量が最終的な収量の約 30%を決定するといわれている．よって CRCT はイネの高

$CO_2$応答，さらには収量の決定において重要な役割を担うタンパク質である可能性が考えられる．ここで疑問となるのが，*CRCT*過剰発現イネで認められた分げつ角度の変化とデンプン蓄積量との因果関係である．近年，葉鞘と稈におけるデンプン蓄積量が低下したイネの AGPase 欠損変異体では，おそらく重力屈性に不具合を生じることで分げつ角度が増加することが報告されている[42]．今後さらなる解析が必要であるが，*CRCT*過剰発現イネで認められた分げつ角度の変化も，デンプン蓄積量への効果で説明できるかもしれない．

## おわりに

高 $CO_2$ 環境に高度に適応可能な植物を開発するには，どうすれば良いのだろうか？そのヒントは，トランスクリプトーム解析の結果が示してくれているように思われる．光合成・基本代謝については，高 $CO_2$ 条件において過剰となった $CO_2$ 固定系の酵素，特に $C_3$ 植物において葉内窒素の約 30%を占めている Rubisco を減少させ，律速要因となる RuBP 再生，デンプン合成，窒素固定に関係する酵素を増加させることが重要であろう．植物は高 $CO_2$ に適応しようとトランスクリプトームを変化させているが，その程度が十分ではないために高 $CO_2$ 条件下において光合成を有利に行うことができていないと考えられる．高 $CO_2$ 応答における基本代謝酵素の発現変化の制御において重要な役割を担う遺伝子を特定し，遺伝子組換え技術により適切にコントロールすることができれば，高 $CO_2$ 環境での光合成能力の改良に結び付けることができるはずである．*CRCT*はその有力な候補遺伝子の一つと考えられる．さらにわれわれは，高 $CO_2$ 環境に適した $C_4$ 植物の活性の高い Rubisco を利用したイネの光合成能力の改良も進めている[43]．これまでにイネの Rubisco の触媒回転速度を 50%増加させることに成功しており，現在，Rubisco 含量の最適化（適切な量に減少）を行っている．これらの戦略が功を奏すれば，高 $CO_2$ 条件下での光合成能力の改良，そして収量の増加も可能となると考えられる．将来，現在よりも美しい紅葉を眺めながら，豊作となったコメを味わいたいものである．

## 文献


1) A. D. B. Leakey, E. A. Ainsworth, S. M. Bernard, R. J. Cody Markelz, D. R. Ort, S. A. Placella, A. Rogers, M. D. Smith, E. A. Sudderth, D. J. Weston, S. D. Wullschleger & S. Yuan : *Glob. Chang. Biol*., **15**, 1201 (2009)

2) H. Kanani, B. Dutta & M. I. Klapa : *BMC Syst. Biol.*, **4**, 177 (2010)

3) S. Miyazaki, M. Fredricksen, K. C. Hollis, V. Poroyko, D. Shepley, D. W. Galbraith, S. P. Long & H. J. Bohnert : *Field Crops Res*., **90**, 47 (2004)

4) F. Kaplan, W. Zhao, J. T. Richards, R. M. Wheeler, C. L. Guy & L. H. Levine : *PLoS One*, **7**, e43583 (2012)

5) E. A. Ainsworth & S. P. Long : *New Phytol*., **165**, 351 (2005)

6) H. Fukayama, T. Fukuda, C. Masumoto, Y. Taniguchi, H. Sakai, W. Cheng, T. Hasegawa & M. Miyao : *Plant Sci*., **177**, 203 (2009)

7) H. Fukayama, M. Sugino, T. Fukuda, C. Masumoto, Y. Taniguchi, M. Okada, R. Sameshima, T. Hatanaka, S. Misoo, T. Hasegawa & M. Miyao : *Field Crops Res*., **121**, 195 (2011)

8) S. von Caemmerer & G. D. Farquhar : *Planta*, **153**, 376 (1981)

9) P. Li, A. Sioson, S. P. Mane, A. Ulanov, G. Grothaus, L. S. Heath, T. M. Murali, H. J. Bohnert & R. Grene : *Plant Mol. Biol*., **62**, 593 (2006)

10) P. Li, E. A. Ainsworth, A. D. B. Leakey, A. Ulanov, V. Lozovaya, D. R. Ort & H. J. Bohnert : *Plant Cell Environ*., **31**, 1673 (2008)

11) H. Bae & R. Sicher : *Field Crops Res*., **90**, 61 (2004)

12) A. D. B. Leakey, F. Xu, K. M. Gillespie, J. M. McGrath, E. A. Ainsworth & D. R. Ort : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **106**, 3597 (2009)

13) M. J. Tallis, Y. Lin, A. Rogers, J. Zhang, N. R. Street, F. Miglietta, D. F. Karnosky, P. De Angelis, C. Calfapietra & G. Taylor : *New Phytol*., **186**, 415 (2010)

14) K. L. Griffin, O. R. Anderson, M. D. Gastrich, J. D. Lewis, G. Lin, W. Schuster, J. R. Seemann, D. T. Tissue, M. H. Turnbull & D. Whitehead : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **98**, 2473 (2001).

15) J. S. Amthor : *Ann. Bot*., **86**, 1 (2000)

16) B. G. Drake, J. Azcon-Bieto, J. Berry, J. Bunce, P. Dijkstra, J. Farrar, R. M. Gifford, M. A. Gonzalez-Meler, G. Koch, H. Lambers, J. Siedow & S. Wullschleger : *Plant Cell Environ*., **22**, 649 (1999)

17) H. H. Kunz, R. E. Häusler, J. Fettke, K. Herbst, P. Niewiadomski, M. Gierth, K. Bell, M. Steup, U. I. Flügge & A. Schneider : *Plant Biol*., **12**, 115 (2010)

18) K. Athanasiou, B. C. Dyson, R. E. Webster & G. N. Johnson : *Plant Physiol*., **152**, 366

(2010)
19) B. D. Moore, S.-H. Cheng, D. Sims & J. R. Seemann : *Plant Cell Environ*., **22**, 567 (1999)
20) J.-J. Van Oosten, D. Wilkins & R. T. Besford : *Plant Cell Environ*., **17**, 913 (1994)
21) J. Price, A. Laxmi, S. K. St. Martin, & J.-C. Jang : *Plant Cell*, **16**, 2128 (2004)
22) A. Matros, S. Amme, B. Kettig, G. H. Buck-Sorlin, U. Sonnewald & H. P. Mock : *Plant Cell Environ*., **29**, 126 (2006)
23) C. Solfanelli, A. Poggi, E. Loreti, A. Alpi & P. Perata : *Plant Physiol*., **140**, 637 (2006)
24) J. C. Lloyd & O. V. Zakhleniuk : *J. Exp. Bot*., **55**, 1221 (2004)
25) L. N. Sokolov, A. Déjardin & L. A. Kleczkowski : *Biochem J*., **336**, 681 (1998)
26) E. Baena-González, F. Rolland, J. M. Thevelein & J. Sheen : *Nature*, **448**, 938 (2007)
27) Y. Zhang, L. F. Primavesi, D. Jhurreea, P. J. Andralojc, R. A. C. Mitchell, S. J. Powers, H. Schluepmann, T. Delatte, A. Wingler & M. J. Paul : *Plant Physiol*., **149**, 1860 (2009)
28) M. J. Paul, L. F. Primavesi, D. Jhurreea & Y. Zhang : *Annu. Rev. Plant Biol*., **59**, 417 (2008)
29) F. Rook, F. Corke, M. Baier, R. Holman, A. G. May & M. W. Bevan : *Plant J*., **46**, 1045 (2006)
30) T. Sato, S. Maekawa, S. Yasuda, Y. Sonoda, E. Katoh, T. Ichikawa, M. Nakazawa, M. Seki, K. Shinozaki, M. Matsui, D. B. Goto, A. Ikeda & J. Yamaguchi : *Plant J*., **60**, 852 (2009)
31) Y.-M. Bi, Y. Zhang, T. Signorelli, R. Zhao, T. Zhu & S. Rothstein : *Plant J*., **44**, 680 (2005)
32) O. Oswald, T. Martin, P. J. Dominy & I. A. Graham : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*., **98**, 2047 (2001)
33) V. Rubio, F. Linhares, R. Solano, A. C. Martin, J. Iglesias, A. Leyva & J. Paz-Ares : *Genes Dev*., **15**, 2122 (2012)
34) S. Yanagisawa, A. Akiyama, H. Kisaka, H. Uchimiya & T. Miwa : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*., **101**, 7833 (2004)
35) N. Teng, J. Wang, T. Chen, X. Wu, Y. Wang & J. Lin : *New Phytol*., **172**, 92 (2006)
36) F. Ludewig & U. Sonnewald : *FEBS Lett*., **479**, 19 (2000)
37) 森田隆太郎，杉野充保，畠中知子，三十尾修司，深山　浩：日本作物学会紀事，**82** (別号 1), 186 (2013)
38) T. Masaki, H. Tsukagoshi, N. Mitsui, T. Nishii, T. Hattori, A. Morikami & K. Nakamura : *Plant J*. **43**, 142 (2005)
39) B. Yu, Z. Lin, H. Li, X. Li, J. Li, Y. Wang, X. Zhang, Z. Zhu, W. Zhai, X. Wang, D. Xie

& C. Sun : *Plant J*., **52**, 891 (2007)

40) T. Yoshihara & M. Iino : *Plant Cell Physiol*., **48**, 678 (2007)

41) Z. Li, A. H. Paterson, S. R. M. Pinson & J. W. Stansel : *Euphytica*, **109**, 79 (1999)

42) M. Okamura, T. Hirose, Y. Hashida, T. Yamagishi, R. Ohsugi & N. Aoki : *Func. Plant Biol*., In press

43) C. Ishikawa, T. Hatanaka, S. Misoo, C. Miyake & H. Fukayama : *Plant Physiol*., **156**, 1603 (2011)

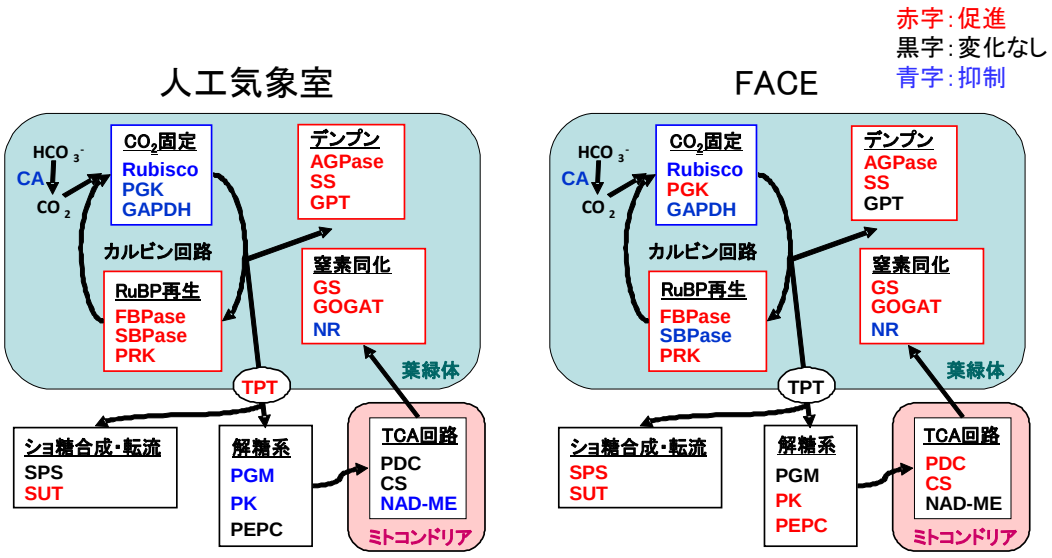


図 1■高 $CO_2$ 処理がイネの基本代謝関連遺伝子の発現におよぼす効果

自然光型人工気象室（農業環境技術研究所クライマトロン）または FACE（岩手県雫石町）においてイネ（人工気象室，日本晴；FACE，あきたこまち）を異なる $CO_2$ 濃度（人工気象室，大気条件 380 ppm と高 $CO_2$ 条件 680 ppm；FACE，大気条件 376 ppm と高 $CO_2$ 条件 568 ppm）で育成し，葉身における遺伝子発現をマイクロアレイ解析した[6,7]．大気条件に対して発現促進された遺伝子を赤，発現抑制された遺伝子を青，発現変化が認められなかった遺伝子を黒で示した．

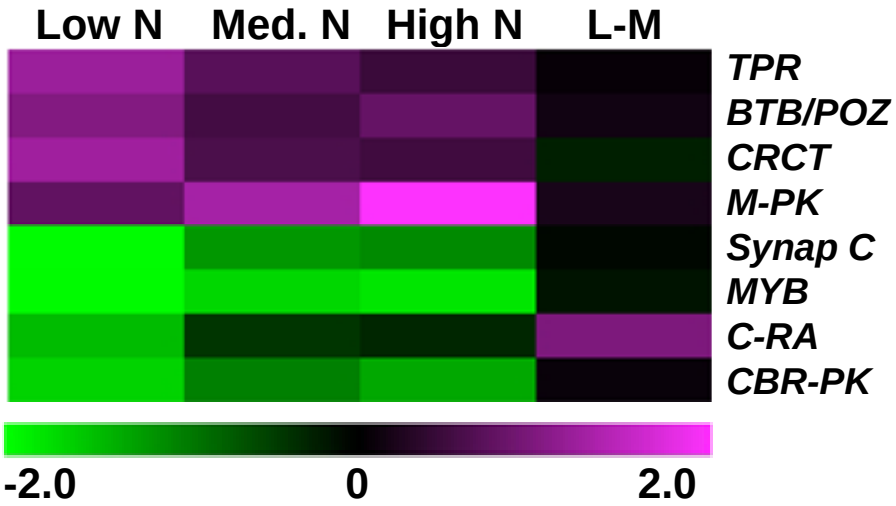


図 2■高 $CO_2$ で発現変化が顕著であったシグナル伝達関連遺伝子の発現変化

自然光型人工気象室において異なる $CO_2$ 濃度（大気条件 380 ppm，高 $CO_2$ 条件 680 ppm）と異なる窒素供給量（Low N, 0 g N; Med. N, 0.6 g N; High N, 1.2 g N）でイネ（日本晴）を育成し，葉身における遺伝子発現をマイクロアレイ解析した[(6)]．大気条件に対する高 $CO_2$ 条件での遺伝子発現変化（L-M は大気条件での Med. N に対する Low N の発現比較）の log2 値を用いてヒートマップを作成した．高 $CO_2$ 条件で有意に発現変化した遺伝子の中で，アノテーションが遺伝子発現調節やシグナル伝達に関係する可能性のある 8 個の遺伝子の結果を示した．

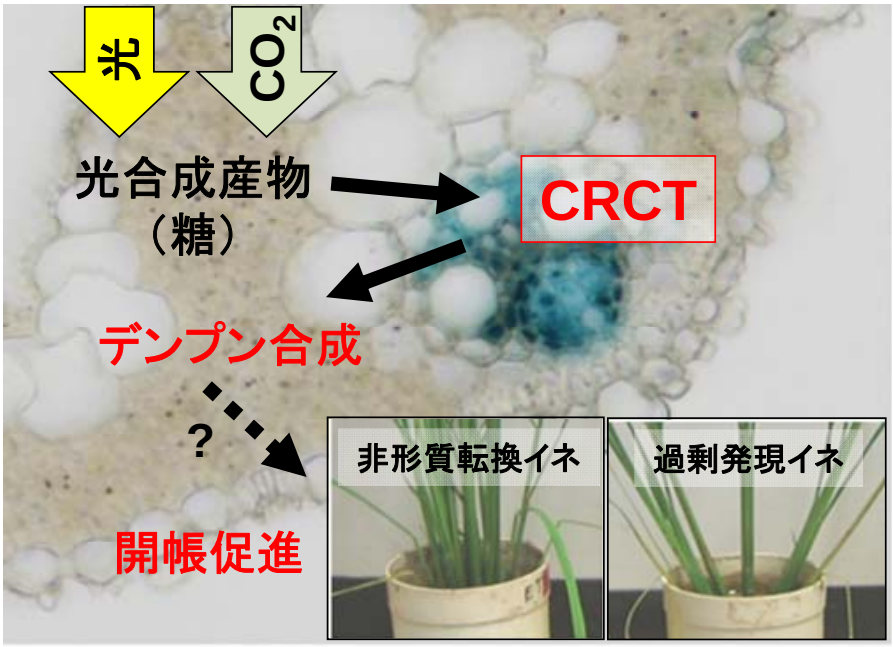


図 3■CRCT の予想される機能

*CRCT* は葉身，葉鞘，株元などの維管束で主に発現する（図の背景は CRCT のプロモーターGUS 解析おける葉身の横断切片の顕微鏡写真）．また，*CRCT* は光合成産物である糖の蓄積によって発現促進されると考えられる．CRCT はデンプン合成関連遺伝子の発現調節，株の開帳度の制御に関係すると考えられる．