



# CO<sub>2</sub> 資源化の効率を左右する CO<sub>2</sub> 濃縮機構とは

福澤秀哉 Hideya FUKUZAWA

光合成反応における CO<sub>2</sub> 固定酵素 RuBisCO は、CO<sub>2</sub> との反応速度が遅く、酸素が競合阻害することが知られている。ところが、ある種の植物や微細藻では RuBisCO の問題点を補完して光合成効率を上げる「CO<sub>2</sub> 濃縮機構」が発達した。近年、この CO<sub>2</sub> 濃縮を担うタンパク質と、その制御に関わる因子が明らかになったので紹介し、その応用についても述べる。

## 光合成の基本反応

化石燃料の枯渇や大気中 CO<sub>2</sub> 濃度増大による地球温暖化問題を背景に、CO<sub>2</sub> の資源化が改めて議論されている。化石燃料が光合成に由来することを考慮すると、光合成の理解と改良を目指す研究は大変重要である。光合成反応には、太陽の光エネルギーを光化学系で受けて化学エネルギーに転換する段階と、その際に生成した化学エネルギー（ATP と NADPH）を利用して CO<sub>2</sub> を還元し、ショ糖やデンプンなどの有機物を合成する段階がある（図1）。生成した化学エネルギーは、糖以外にも多くの生体物質の構築等に利用される。なお、光合成で発生する酸素は CO<sub>2</sub> 由来ではなく水から由来する。この CO<sub>2</sub> の固定は、すべての光合成生物に共通な酵素リブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラー

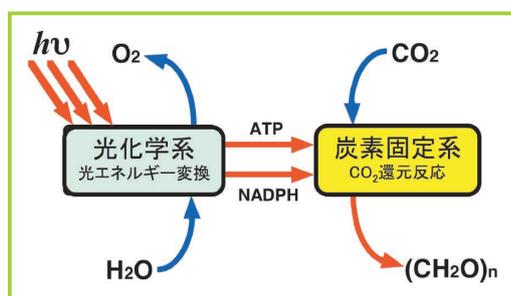


図1 光合成の基本概念図<sup>1)</sup>

ふくざわ・ひでや  
京都大学大学院生命科学研究所 教授  
〔経歴〕1986年京都大学農学研究科博士課程修了。  
東京大学応用微生物研究所助手、ロックフェラー  
大学客員研究員、京都大学農学部助教ほかを  
経て2011年から現職。〔専門〕分子細胞生物学  
(光合成)。  
〔連絡先〕606-8502 京都市左京区北白川追分町  
(勤務先)  
E-mail: fukuzawa@lif.kyoto-u.ac.jp



ゼ/オキシゲナーゼ (RuBisCO) が担っているが、生物種によってそれぞれ異なる環境で光合成を維持する仕組みがある。実際、直射日光で過剰な光にさらされたり、水や CO<sub>2</sub> が欠乏しても光合成を維持できる生物種が進化の過程で出現し、生存に有利となった。

## RuBisCO と補助因子の進化

炭素固定を担う RuBisCO の配列は、シアノバクテリアから陸上植物まで保存されていることから、進化の早い段階で生まれた RuBisCO が多種多様な光合成生物に引き継がれたことがわかる。ただし、RuBisCO には次のような問題点が存在する。(1) 典型的な RuBisCO は L<sub>8</sub>S<sub>8</sub> 型の複雑な構造なので、正しい立体構造を保つには「特有の分子シャペロン」が必要である。(2) 反応速度が1分間に数回と遅く、多量の酵素が必要。(3) CO<sub>2</sub> に対する親和性が高くないので、現在の大気環境では、最大反応速度を達成できない。(4) 反応中間体が CO<sub>2</sub> だけでなく酸素とも反応してしまうので効率が低い。(5) 重炭酸イオン (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) とは反応しないので、水中で平衡状態にある HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> を利用できない。炭酸脱水酵素 (CA) が必要。(6) 通常は不活性型となっており、活性化酵素 (RuBisCO 活性化酵素) が必要である。進化の段階で上記の問題点を一部解決できた「特徴ある RuBisCO」を参考に酵素の改良が期待されている。ただし、上記の問題点をすべて解決できる酵素は現在知られていない。

太古のシアノバクテリアが初めて水を分解して酸素発生型光合成を実現したが、その当時の大気中の CO<sub>2</sub> 濃度 (分圧) は、5% (v/v) を超えていたとされることから、RuBisCO には十分な基質が供給されていたと考えられる。しかし、シアノバクテリアならびにその

後に出現する真核緑藻がCO<sub>2</sub>を固定することで、大気中のCO<sub>2</sub>分圧は低下の一途をたどった。光合成で生成した酸素からオゾン層ができ、地上に降り注ぐ紫外線レベルが低下したことで植物が陸上化し、さらに低CO<sub>2</sub>高O<sub>2</sub>分圧の大気が形成された。残された水生光合成生物は、低CO<sub>2</sub>・高O<sub>2</sub>分圧で光合成を維持する必要に迫られた。この選択圧により、RuBisCOの酵素学的特性(配列)の改良と合わせてRuBisCO活性を補強する新規因子を発達させることで光合成を維持できる生物が出現する。つまり、CO<sub>2</sub>濃縮能をもつ種が水中でも陸上でも出現することになった。現在、CO<sub>2</sub>濃縮は大きく3種類に分類される。(1) トウモロコシなどに見られる維管束鞘組織と葉肉組織の分化を利用したC4回路、(2) サボテンなど多肉植物に見られる昼夜の日周変化を利用したCAM回路、(3) 多くの藻類と一部のコケ植物に見られる膜輸送体を利用した無機炭素濃縮系である。(1)と(2)の陸上植物については他書<sup>1)</sup>に詳しく記載があるので、ここでは特に真核光合成生物のモデルである緑藻クラミドモナスについて述べる<sup>2)</sup>。

#### 水生光合成生物における無機炭素濃縮系

水中におけるCO<sub>2</sub>の拡散速度は空気中の場合比べて10000分の1と低いことから、微細藻へのCO<sub>2</sub>の供給は、陸上植物の場合に比べて障壁が大きい。また、多くの微細藻類のRuBisCOは、陸上植物の酵素に比べてCO<sub>2</sub>に対する親和性ならびに選択性が低い。ところが、意外な事実が緑藻クラミドモナスで報告された。あらかじめ5%のCO<sub>2</sub>を含む空気中で通気培養した細胞(高CO<sub>2</sub>生育細胞)はC3植物型の光合成特性を示すが、大気レベルの空気を通気した細胞(低CO<sub>2</sub>生育細胞)は、CO<sub>2</sub>濃縮能をもつトウモロコシなどのC4植物と同様に光呼吸活性が低く、CO<sub>2</sub>濃縮系が存在することが示された(図2左)。この実験は、「細胞がCO<sub>2</sub>濃度の違いを検知することによってCCMを誘導するか抑制するかを決定できる。」つまり、「CO<sub>2</sub>濃度をセンシングしてCCMを制御する仕組みが微細藻に存在する。」ことを示唆する。実際に放射性同位体を用いた無機炭素の取込量は、低CO<sub>2</sub>生育細胞で上昇することがわかる(図2右)<sup>3,4)</sup>。

1980年にCO<sub>2</sub>濃縮現象が発見されて以来、CO<sub>2</sub>濃縮を担う因子の研究が世界で進められた。当時、緑藻クラミドモナスでは分子遺伝学的手法が未発達であったことから、研究者たちは原核光合成生物のシアノバクテリアに材料を変更してCO<sub>2</sub>濃縮の研究を進めた。CO<sub>2</sub>濃縮能を欠損すると生育に高濃度のCO<sub>2</sub>が必要になることが予測されたので、CO<sub>2</sub>要求性変異株を単

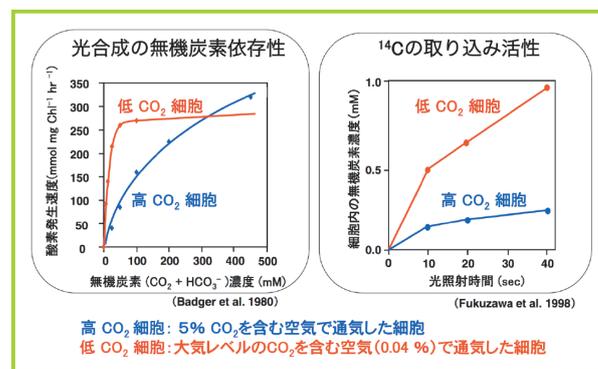


図2 培養履歴の違いによる緑藻の光合成酸素発生速度(左)と無機炭素濃度(右)の変化

離して、その変異原因遺伝子を同定していった。一方、日本では宮地らの研究グループが、クロレラを用いてCO<sub>2</sub>濃縮現象を発見し、炭酸脱水酵素が重要であることを阻害剤を用いて示した。さらに、緑藻クラミドモナスの炭酸脱水酵素が2種のサブユニットからなり、CO<sub>2</sub>と光に対してmRNAレベルで制御されていることを明らかにした<sup>5)</sup>。

#### モデル緑藻におけるCO<sub>2</sub>濃縮関連分子

当初、高CO<sub>2</sub>生育細胞と低CO<sub>2</sub>生育細胞の違いを生化学的に調べたところ、低CO<sub>2</sub>条件では炭酸脱水酵素の活性が誘導されることから、「炭酸脱水酵素による間接的無機炭素輸送説」が提唱された。実際に、細胞内の炭酸脱水酵素を阻害すると、光合成における細胞の無機炭素に対する親和性が低下することが示された。後になって、緑藻クラミドモナスの葉緑体チラコイド膜の内腔側に局在する炭酸脱水酵素CAH3が欠損すると、細胞内に無機炭素は蓄積され、RuBisCO活性は正常であるにもかかわらず、炭素固定反応が進まず、細胞の生育速度が低下した。これは、葉緑体ストロマに蓄積されたHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>が、本来は炭酸脱水酵素によってRuBisCOの近傍でCO<sub>2</sub>に変換されるはずであるが、酵素の欠失によりCO<sub>2</sub>の供給速度が低下したためであった。

緑藻クラミドモナスからCO<sub>2</sub>要求性変異株が日米独で独立に単離され、その中からCCMの制御因子CCM1(=CIA5)が見いだされた<sup>6)</sup>。この因子の制御下には、多くの低CO<sub>2</sub>誘導性の膜タンパク質や炭酸脱水酵素の遺伝子が存在しており、CCM1がCCMの統括制御因子であると考えられた(図3)。低CO<sub>2</sub>条件でCCM1依存的に誘導される膜タンパク質の中には、無機炭素輸送体があると考え、筆者らは、強光で誘導される機能未知の膜タンパク質HLA3と、葉緑体移行配列をもつタンパク質LCIAに注目して解析を進めた<sup>3,4)</sup>。

HLA3はATP結合ドメインを2箇所と、膜貫通ドメインを12箇所もつABC(ATP-binding cassette)型輸送体

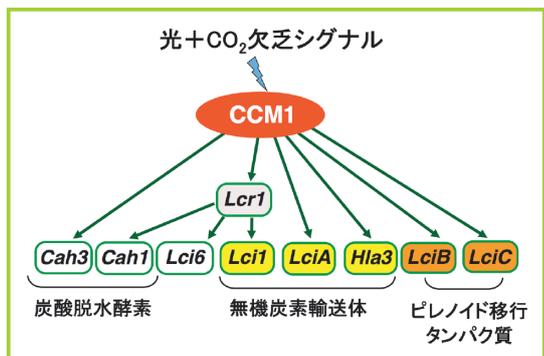


図3 光とCO<sub>2</sub>濃度による遺伝子発現の制御モデル

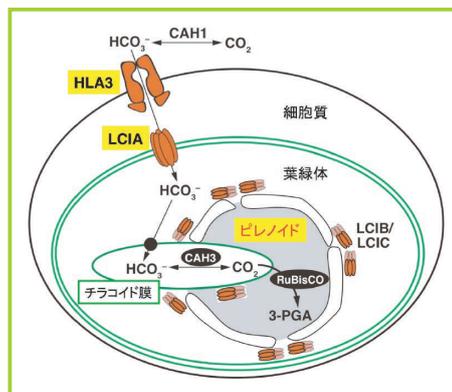


図4 緑藻クラミドモナスにおけるCO<sub>2</sub>濃縮のモデル

膜タンパク質で、多くの藻類で保存されている(図4)。HLA3の欠失株は、弱酸性培地では野生型と同様の光合成特性を示すが、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>が無機炭素の大部分を占める弱アルカリ性培地で細胞内への無機炭素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。そこで、HLA3は弱アルカリ性環境で細胞外のHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>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と判明した。一方、6回膜貫通ドメインをもつLCIAは、ギ酸-亜硝酸チャネルのファミリーに属し、CO<sub>2</sub>欠乏条件で葉緑体包膜に蓄積される。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、ほかの輸送体が発現しない高CO<sub>2</sub>条件で両遺伝子を強制的に発現すると、無機炭素の取り込み速度が上昇したことから、LCIAは、HLA3により細胞質に輸送されたHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>を葉緑体内に取り込むアニオンチャネルであると結論した。

葉緑体ストロマ内には、RuBisCOが集合したピレノイドと呼ばれる構造体が存在する<sup>7)</sup>。ピレノイドはチラコイド膜の周囲にRuBisCOが集合した構造をとるので、内部にチラコイドが通過しているように見える。このピレノイド内部に陥入したチラコイドの部分はピレノイドチューブと呼ばれており、その内部にはさらにミニチューブと呼ばれる微細管が通っている。これらの管状になったチラコイドがピレノイドへのHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>の輸送を担っている可能性が指摘されている。CO<sub>2</sub>欠乏環境では、このピレノイドにLCIB/LCIC複合体と炭酸脱水酵素CAH3が集合し、CO<sub>2</sub>濃縮機構を維持していると推定されている<sup>8)</sup>。

緑藻やシアノバクテリアで無機炭素濃縮を担う輸送体や炭酸脱水酵素は、無機炭素濃縮を必要としない高CO<sub>2</sub>条件では、多くの場合に転写レベルで抑制される。これは、細胞がCO<sub>2</sub>濃度の上昇を検知して、不要なタンパク質の発現を抑えられている。光照条件下でCO<sub>2</sub>の供給レベルが低下した時のみ輸

送体等の遺伝子を発現させるCO<sub>2</sub>センシング系とシグナル伝達経路が存在するとされている。シアノバクテリアでは、RuBisCOのオキシゲナーゼ活性により生成した2-ホスホグリコール酸が転写因子と結合し、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>輸送体をコードするオペロンの上流に結合することで発現を促進することが示されている<sup>9)</sup>。一方、緑藻では、細胞膜のHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>輸送体HLA3、葉緑体包膜のアニオンチャネルLCIA、ピレノイド局在性のLCIB/LCIC複合体、細胞表層炭酸脱水酵素CAH1は光存在下の低CO<sub>2</sub>条件で誘導されるが、これには亜鉛結合性タンパク質CCM1が必要である(図3)。CO<sub>2</sub>濃度と光の有無によって、多くの核遺伝子の転写レベルが上昇する機構や、ピレノイドにタンパク質が移動するための機構については、今後の興味ある問題である。最近、葉緑体のピレノイドチューブに移行するカルシウム結合タンパク質CASがHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>輸送体(HLA3とLCIA)の発現に必要であることが示され、葉緑体から核へのレトログレードシグナルが注目されている<sup>11)</sup>。

近年、緑藻やシアノバクテリアのCCM関連タンパク質をイネなどの農作物に導入して、CO<sub>2</sub>固定の効率化を図る研究が、英米独で大規模に開始されている。日本でも、複数のCO<sub>2</sub>濃縮因子の改変や導入による光合成能の改良に期待が寄せられている<sup>10)</sup>。

- 1) 福澤秀哉, “光合成のエネルギー変換と物質変換”, 化学同人, 2015, 202.
- 2) 福澤秀哉, 山野隆志, 梶川昌孝, 光合成研究 2012, 22, 174.
- 3) T. Yamano, E. Sato, H. Iguchi, Y. Fukuda, H. Fukuzawa, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2015, 112, 7315.
- 4) 山野隆志, 福澤秀哉, 化学と生物 2016, 54, 459.
- 5) H. Fukuzawa et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87, 4383.
- 6) H. Fukuzawa et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 2001, 98, 5347.
- 7) B. D. Engel et al., *Elife* 2015, 4, e04889.
- 8) T. Yamano, A. Asada, E. Sato, H. Fukuzawa, *Photosynth. Res.* 2014 121, 193.
- 9) T. Nishimura et al., *Mol. Microbiol.* 2008 68, 98.
- 10) 福澤秀哉, 山野隆志, 伊福健太郎, 早川靖彦, 2013国内特許572119, 2016米国特許9255276.
- 11) L. Wang, H. Fukuzawa et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, in press. DOI:10.1073/pnas.1606519113.