

作物の炭素同化・代謝機能の多様性と向上に関する生理学的研究  
大杉立 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

緑葉の光合成による炭素同化とショ糖など同化産物の合成・代謝はすべての作物生産の基本であり、個葉、個体、個体群のそれぞれのレベルでの生理・生態研究においてつねに中心的な位置を占めるテーマである。大杉立氏は、作物の光合成からショ糖合成・代謝・転流まで幅広くかつ綿密に研究することにより、炭素の同化・代謝機能の多様性とその分子機構に関する先駆的な知見を得るとともに、作物の生産性の向上に貢献する数多くの成果をあげてきた。研究業績の内容は以下のように要約される。

1. 作物における  $C_4$  光合成特性の多様性に関する研究

$C_4$  光合成はその効率の高さから多くの研究者の関心を集め、1970年代以降、様々な角度から検討された。そして、 $C_4$  植物には形態、生理、生化学、生態等の様々なレベルで多様性があることが注目され始めていた。大杉立氏の  $C_4$  植物に関する研究は、こうした時代背景のもとに行われたものである。

当時、暖地型のイネ科牧草は  $C_4$  型として一括して捉えられていたが、大杉氏は葉の内部構造と光合成特性の比較解析からその分類を試みた。まず、草地試験場がアフリカにおいて収集した約 150 種のイネ科  $C_4$  植物について、メストム鞘の有無と維管束鞘細胞葉緑体の配列に基づく葉構造特性、明期から暗期移行直後の  $CO_2$  放出パターン (Post-illumination  $CO_2$ -burst) および  $C_4$  酸脱炭酸酵素の生化学特性の三者を調査・整理し、それら諸形質相互の関連をもとに  $C_4$  植物を 3 つのサブタイプに分類できることを示した [3]。その過程で、キビ属のなかに同じ脱炭酸酵素 (NAD- リンゴ酸酵素: NAD-ME) の高い活性をもちながら維管束鞘細胞葉緑体の配列が異なる、これまで知られていない  $C_4$  サブタイプ種が存在すること、また、それらがキビ属の特定のグループ (Dichotomiflora) にのみ出現していることを見出した [1, 2, 4]。

そのなかには、当時水田転換畑での牧草として注目され、実用品種の育成も進められていたオオクサキビやカラードギニアグラスなど収量性および耐湿性が優れた  $C_4$  型牧草も含まれていたことから、その後はこの Dichotomiflora グループに焦点を当てて詳細な解析を行い、以下の点を明らかにした。1) 本グループに含まれる種は葉構造の如何に関わらず NAD-ME 型の脱炭酸酵素型であり、葉構造以外の光合成炭素固定・代謝様式に差異はないこと [5]、2) 炭素安定同位体比は維管束鞘細胞葉緑体の配列の違いを反映して異なり、維管束鞘細胞の細胞壁のスベリン化の有無とも対応していることを示した [8]。3) 同グループ内の維管束鞘細胞葉緑体の配列が異なる亜種間交雑植物を作出して解析を進め、 $C_4$  光合成の効率に関わる葉内の  $CO_2$  ガス拡散の難易は細胞壁のスベリン化が大きく影響していることを見出した [10]。4) 本グループに含まれる葉構造が異なる種・系統間では成長特性にも明瞭な差があり、新しく発見した特徴を持つ種・系統の成長が早いことを明らかにした [9]。これらの研究は、 $C_4$  植物における葉構造と代謝機構の新たな関係の発見を端緒として、 $C_4$  光合成特性の多様性を詳細かつ浩瀚な視点から解析した先駆的研究であり、またわが国における  $C_4$  型牧草の生産性・耐湿性と光合成機能を結びつけた研究としても高く評価される。

さらに大杉氏は、当時注目され始めたソース機能のもう一つの側面であるショ糖合成に注目し、光合成産物の輸送形態であるショ糖の合成に関わるショ糖リン酸合成酵素 (Sucrose Phosphate Synthase: SPS) の細胞間局在性が  $C_4$  型葉構造の差異に対応して異なり、またこの局在性が明期と暗期で変化することを見出した [6, 7]。これはソース機能 (ショ糖合成) の細胞レベルでの分業およびその多様性を示す画期的な発見であり、氏のその後の研究展開の基となるものである。

2. 作物のショ糖合成・代謝機能の向上に関する生理学的研究

ショ糖は多くの植物に共通した光合成産物の輸送形態であることから、ショ糖合成は炭素の代謝機能の本質を成す。大杉氏は前述の  $C_4$  型牧草の研究から、作物のショ糖合成研究の重要性を認め、その後トウモロコシ、バイレショ及びイネを材料として、ショ糖合成の鍵を握る SPS に関する生理生化学的および分子生理学的研究を進めた。折しも作物を用いた遺伝子組換え技術が開発されつつある時代であり、それをいち早く作物学研究分野に取り入れ、作物の代謝機能向上に繋がる研究を行った。

まず、トウモロコシ由来の SPS 遺伝子を導入した形質転換バレイショを作出した [2]。それを解析した結果、SPS 遺伝子導入により SPS 活性が数倍に増大するとともに、葉内のショ糖 / デンプン比が上昇し、炭素分配がショ糖合成の方向に変化することを見出した [2]。その結果として、塊茎収量が増大することをポット試験で明らかにするとともに、隔離圃場での栽培試験でも証明した [2, 8 (日本作物学会論文賞受賞)]。

一方、単子葉植物のイネではもともとショ糖を葉に多く蓄積することから、SPS 活性の改変が炭素代謝に効果をもたらすのか不明であった。そこで、SPS 遺伝子を導入した形質転換イネを作出し、その影響を解析した。その結果、ショ糖蓄積植物である単子葉のイネでも、双子葉植物と同様の作用を示すことを明らかにした [5, 6]。また、形質転換体では SPS タンパク質の増大に伴い、リン酸化による不活性型酵素の増大が問題になることから、リン酸化による制御特性を改変した SPS 遺伝子をイネに導入してその効果を検討した。その結果、改変 SPS 遺伝子は形質転換体において有効に作用することを見出し、SPS 不活性型タンパク質増大への解決方法を提示した [7]。

これらの成果は、SPS がショ糖合成に大きく影響する鍵酵素であり、活性の増大が収量にも大きく影響することを遺伝子組換え作物を用いて明らかにしたもので、高い評価を得ている。また、大杉氏は SPS にとどまらず、幅広く炭素代謝機能の分子生理学的解明に取り組み、単子葉植物としては初めてイネ [1] およびトウモロコシ [3] からショ糖輸送体（トランスポーター）遺伝子を単離・同定し、器官別・時期別発現様式などの機能解析を行い、その特徴を明らかにした。これらの研究は、その後の我が国におけるショ糖輸送研究の新たな展開の端緒となった。また、氏の研究は、ショ糖輸送体遺伝子を含めたイネ葉身および葉鞘の炭素代謝機能関連形質の解析などの論文としても結実している [4, 9]。

以上のように、大杉氏の業績には先駆性が随所に認められ、 $C_4$  光合成における葉の構造と機能における新たな関係の発見、SPS に関する遺伝子組換え技術を駆使した分子生理学的解析、さらにショ糖輸送体遺伝子の単離と転流におけるその役割の解明等、いずれも作物における炭素同化・代謝機能の向上研究の端緒をなすものである。一方、氏の業績は先駆的・基礎的知見の集積にとどまらず、作物学的視点から収量性などの重要形質との関連を追求したものであり、その成果は  $C_4$  型牧草の栽培と育種、ジャガイモを初めとする作物の収量性の向上等、広く応用に繋がるものである。また、大杉氏の研究は、我が国における作物の炭素同化・代謝機能の解明の礎として、この分野の研究の進展に大きく寄与しており、これらの業績をもとに多くの総説・著書を著している [1~6]。よって、作物学会賞を授与するに十分値する研究業績と評価した。

## 主要研究業績リスト

### <原著論文>

#### 1. 作物における $C_4$ 光合成特性の多様性に関する研究

- 1) Ohsugi, R. and Murata, T. (1980) Leaf anatomy, post-illumination  $CO_2$  burst and NAD-malic enzyme activity of *Panicum dichotomiflorum*. Plant Cell Physiol. 21 : 1329–1333.
- 2) Ohsugi, R., Murata, T. and Chonan, N. (1982)  $C_4$  syndrome of the species in the Dichotomiflora group of the genus *Panicum* (Gramineae). Bot. Mag. Tokyo 95 : 339–347.
- 3) 大杉立・村田孝雄・清水矩宏 (1983) イネ科  $C_4$  植物の葉構造、暗期移行直後の  $CO_2$  放出現象と  $C_4$  サブタイプとの関係. 草地試験場研究報告 26 : 39–51.
- 4) Ohsugi, R. and Murata, T. (1986) Variation in the leaf anatomy among some  $C_4$  *Panicum* species. Ann. Bot. 58 : 443–453.
- 5) Ohsugi, R., Murata, T., Muto, S. and Miyachi, S. (1987) Photosynthetic  $^{14}CO_2$  fixation products and the distribution of enzyme activities related to  $C_4$  photosynthesis in mesophyll cells of NAD-malic enzyme species with centrifugal chloroplasts in the Kranz cells. Photosynthetica 21 : 36–42.
- 6) Ohsugi, R. and Huber, S.C. (1987) Light modulation and localization of sucrose phosphate synthase activity between mesophyll cells and bundle sheath cells in  $C_4$  species. Plant Physiol. 84 : 1096–1101.
- 7) Huber, S.C., Ohsugi, R., Usuda, H. and Torrus, W.K. (1987) Light modulation of maize sucrose phosphate synthase. Plant Physiol. Biochem. 25 : 515–523.
- 8) Ohsugi, R., Samejima, M., Chonan, N. and Murata, T. (1988)  $\delta^{13}C$  values and the occurrence of suberized lamellae in some *Panicum* species. Ann. Bot. 62 : 53–59.
- 9) Ohsugi, R. and Murata, T. (1988) Comparative growth analysis of NAD-malic enzyme species in the Dichotomiflora group of *Panicum* with differing chloroplast position in bundle sheath cells. Bull. Natl. Grassl. Res. Inst. 38 : 62–69.
- 10) Ohsugi, R., Ueno, O., Komatsu, T., Sasaki, T. and Murata, T. (1997) Leaf anatomy and carbon discrimination in NAD-malic enzyme *Panicum* species and their hybrids differing in bundle sheath cell ultrastructure. Ann. Bot. 79 : 179–184.

## 2. 作物のショ糖合成・代謝機能の向上に関する生理学的研究

- 1) Hirose, T., Imaizumi, N., Scofield, G.N., Furbank, R.T. and Ohsugi, R. (1997) cDNA cloning and tissue specific expression of a gene for sucrose transporter from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol.* 38 : 1389–1396.
- 2) Tobias, D.J., Hirose, T., Ishimaru, K., Ishige, T., Ohkawa, Y., Kano-Murakami, Y., Matsuoka, M. and Ohsugi, R. (1999) Elevated sucrose-phosphate synthase activity in source leaves of potato plants transformed with the maize SPS gene. *Plant Prod. Sci.* 2 : 92–99.
- 3) Aoki, N., Hirose, T., Takahashi, S., Ono, K., Ishimaru, K. and Ohsugi, R. (1999) Molecular cloning and expression analysis of a gene for a sucrose transporter in maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Physiol.* 40 : 1072–1078.
- 4) Hirose, T., Endler, A. and Ohsugi, R. (1999) Gene expression of enzymes for starch and sucrose metabolism and transport in leaf sheaths of rice (*Oryza sativa* L.) during the heading period in relation to the sink to source transition. *Plant Prod. Sci.* 2 : 178–183.
- 5) Ono, K., Ishimaru, K., Aoki, N. and Ohsugi, R. (1999) Transgenic rice with low sucrose-phosphate synthase activities retain more soluble protein and chlorophyll during flag leaf senescence. *Plant Physiol. Biochem.* 37 : 949–953.
- 6) Ono, K., Ishimaru, K., Aoki, N., Takahashi, S., Ozawa, K., Ohkawa, Y. and Ohsugi, R. (1999) Characterization of a maize sucrose-phosphate synthase protein and its effect on carbon partitioning in transgenic rice plants. *Plant Prod. Sci.* 2 : 172–177.
- 7) Takahashi, S., Ono, K., Ugaki, M., Ishimaru, K., Aoki, N. and Ohsugi, R. (2000) Ser162-dependent inactivation of overproduced sucrose-phosphate synthase protein of maize leaf in transgenic rice plants. *Plant Cell Physiol.* 41 : 977–981.
- 8) Ishimaru, K., Hirotsu, N., Kashiwagi, T., Madoka, Y., Nagasuga, K., Ono, K. and Ohsugi, R. (2008) Overexpression of a maize SPS gene improves yield characters of potato under field conditions. *Plant Prod. Sci.* 11 : 104–107.
- 9) Kanbe, T., Sasaki, H., Aoki, N., Yamagishi, T. and Ohsugi, R. (2009) The QTL analysis of RuBisCO in flag leaves and non-structural carbohydrates in leaf sheaths of rice using chromosome segment substitution lines and backcross progeny  $F_2$  populations. *Plant Prod. Sci.* 12 : 224–232.

### <総説・著書等>

- 1) 大杉 立 (1987)  $C_4$  光合成と葉構造. 遺伝 41 : 82-87.
- 2) 大杉立, 廣瀬竜郎 (1997) 組換え DNA 技術を利用して作物の収量増大を図る. 化学と生物 35 : 354–361.
- 3) 大杉立 (2002) 作物のバイオテクノロジー. 石井龍一編, 作物学事典, pp 73–83, 朝倉書店.
- 4) 大杉立 (2003) シンク・ソースの分子機構から作物の収量向上を考える. 化学と生物 41 : 366–373.
- 5) Ohsugi, R. (2005) Carbon metabolism to improve sink and source function. In : Toriyama, K., K.L. Heong, B. Hardy (Eds), *Rice is life : scientific perspectives for the 21st century. Proceedings of the World Rice Research Conference held in Tokyo and Tsukuba, Japan, 4-7 November 2004.* Los Banos (Philippines) : International Rice Research Institute, and Tsukuba (Japan) : Japan International Research Center for Agricultural Sciences. CD. 116–118.
- 6) 大杉立 (2006) 作物の生産性研究と遺伝子組換え作物の圃場試験. 日本農学会編, シリーズ 21 世紀の農学 遺伝子組換え作物の研究, pp 47–61, 養賢堂.