

## PRESS RELEASE

## 世界初！葉緑体ゲノム編集で Rubisco を強化し光合成と植物生産性の向上に成功

——光合成を設計する次世代植物育種技術への期待——

## 発表のポイント

- ◆Rubisco は光合成における最も重要な酵素ですが、触媒効率が悪いため、Rubisco の機能を上げることが作物の生産性向上につながります。しかし、Rubisco の触媒に関わる部分（Rubisco 大サブユニット）の遺伝子は、細胞核のゲノムとは別の葉緑体ゲノムにコードされているため、その精密な改変はこれまで技術的に困難でした。
- ◆本研究では、葉緑体ゲノム編集により Rubisco 大サブユニットに単一アミノ酸置換を導入し、触媒速度 ( $k_{cat}$ ) を上げることで、現在および将来予測される高  $\text{CO}_2$  条件下での光合成能力と作物生産性の向上に成功しました。
- ◆本研究は、外来遺伝子をゲノムに残さない精密な葉緑体ゲノム編集により、光合成能力と作物生産性を向上させ、大気  $\text{CO}_2$  削減への貢献も期待される新たな分子育種戦略の可能性を示すものです。



本研究のイメージ図

葉緑体ゲノム編集による高機能 Rubisco の創出で光合成と植物生産性の向上に成功。ウチダヒロコ

## 概要

東京大学大学院農学生命科学研究科の矢守航准教授、中里一星特任助教、有村慎一教授、立命館大学の松村浩由教授、神戸大学の深山浩教授、大阪大学の難波啓一特任教授らの研究グループは、世界的な食料需要の増加と気候変動への対応に向けて、植物の光合成能力を分子レベルで強化することに成功しました。光合成において炭素固定を担う中心酵素 Rubisco は、その低い触媒効率が作物生産性を制限する要因として長年知られてきましたが、触媒部位を構成する Rubisco 大サブユニットは細胞核のゲノムとは異なる葉緑体ゲノムにコードされているため、その機能を精密に改変することは極めて困難とされてきました。

本研究では、葉緑体ゲノム編集技術を用いてRubisco大サブユニット遺伝子 (*rbcL*) に単一アミノ酸置換を導入し、酵素量を維持したまま触媒速度 ( $k_{cat}$ ) を向上させることに世界に先駆けて成功しました。その結果、現在の大気 CO<sub>2</sub>濃度条件に加え、将来予測される高 CO<sub>2</sub>環境においても CO<sub>2</sub>同化速度の向上と植物バイオマスの増加が確認され、光合成能力の分子改良が実際の植物成長や生産性向上につながるということが明確に示されました。さらにクライオ電子顕微鏡解析により、Rubisco の  $k_{cat}$  が上がった原因を調べたところ、活性中心から離れた位置の単一アミノ酸置換が触媒部位の柔軟性を変化させ、酵素機能を高める新たな分子機構の可能性が示されました。

本成果は、外来遺伝子をゲノムに残さない、精密な葉緑体ゲノム編集によって光合成能力と作物生産性を同時に向上させ得ることを示した点で画期的であり、作物の進化や育種を加速する新たな分子育種戦略の確立につながるものです。今後、主要作物や樹木への展開により、食料生産性の向上に加えて光合成による炭素固定能力の強化を通じた大気 CO<sub>2</sub>削減やカーボンニュートラル社会の実現への貢献が期待されます。

## 発表内容

### 研究の背景

気候変動の進行と人口増加により、世界の食料生産は 2050 年までに 30%以上の増加が必要とされています。作物生産性を根本的に規定する要因の一つが光合成能力であり、その効率向上は持続可能な農業の実現に向けた最重要課題とされています。

光合成において CO<sub>2</sub>固定を担う中心酵素 Rubisco は、触媒効率が低く、さらに酸素化反応を併発するという特性から光合成の律速要因となっています。シロイヌナズナやイネ、コムギなどの主要な農作物は C<sub>3</sub>植物 (注 1) に属しますが、これら C<sub>3</sub>植物の Rubisco は触媒速度が比較的低いことが知られています。一方で、トウモロコシやソルガムなどの C<sub>4</sub>植物 (注 1) は、触媒速度 ( $k_{cat}$ ) が高い Rubisco を有しており、高い光合成能力を示します。モデル解析の結果からも、C<sub>4</sub>植物型の Rubisco 特性を C<sub>3</sub>植物に導入できれば、現在の大気 CO<sub>2</sub>条件でも光合成速度が 20~50%向上する可能性があることが報告されています。

将来的に大気中の CO<sub>2</sub>濃度の上昇が予測される中では、このように反応速度 ( $k_{cat}$ ) が高い Rubisco がより効率的に機能すると考えられています。そこで本研究では、C<sub>3</sub>植物の Rubisco の触媒特性を、光合成能力の高い C<sub>4</sub>植物の Rubisco に近づけること、すなわち「Rubisco の C<sub>4</sub>化」を目指しました。

しかし、これまでも「高機能 Rubisco」の導入が試みられてきたものの、異種酵素の導入に伴う酵素組立の不全や成長低下などの問題があり、実際に生産性の向上につながる例は限られていました。加えて、触媒部位を担う Rubisco 大サブユニットは葉緑体ゲノムにコードされているため、その機能を精密に改変すること自体が技術的に大きな課題とされてきました。

そこで本研究では、C<sub>3</sub>植物のモデル植物であるシロイヌナズナを用い、他種の遺伝子導入に依存せず既存の Rubisco 配列を最小限に改変する葉緑体ゲノム編集という新たな光合成改良戦略に着目しました。

### 研究内容

本研究では、標的一塩基置換酵素 (ptpTALECD) (注 2) を用いて、C<sub>3</sub>植物のモデル植物であるシロイヌナズナの葉緑体ゲノムにコードされる光合成酵素 Rubisco の大サブユニット遺伝子 (*rbcL*) に精密な点変異を導入しました。具体的には、309 番目のアミノ酸メチオニンをイソロイシンに置換した変異体 (M309I) や、397 番目のアミノ酸アスパラギン酸をアスパラギンに置換した変異体 (D397N) を含む、合計 7 種類の単一アミノ酸改変システムを作製しました (図 1)。

標的としたアミノ酸の位置は Rubisco の三次元構造上に示しており、触媒反応が行われる活性中心との位置関係が分かるようにしています (図 1a)。また、導入を試みた置換変異、対応するコドン (注 3) の変化、および実際に得られた変異体の遺伝子型を整理して示しました (図 1b)。

次に、各改変システムにおける Rubisco の酵素特性を解析しました (図 2)。その結果、多くの改変システムでは触媒性能の向上は見られず、光合成能力や生育が低下する場合も確認され、Rubisco 機能改良の難しさが改めて示されました。一方で、M309I および D397N 変異体では触媒速度 ( $k_{cat}$ ) が有意に向上していました (図 2a)。CO<sub>2</sub>親和性の指標である  $K_c$  (値が低いほど CO<sub>2</sub>に結合しやすい) は、M309I では上昇し、D397N では野生型 (Co1-0) と同程度でした (図 2b)。その結果、CO<sub>2</sub>固定効率の指標である  $k_{cat}/K_c$  は M309I では低下し、D397N では維持されました (図 2c)。ま

た、CO<sub>2</sub>固定と酸素反応の比を示す  $S_c$  は両変異体で低下しました (図 2d)。これらの特徴は、一般に高 CO<sub>2</sub>環境で効率よく機能する C<sub>4</sub>植物型 Rubisco の特性と共通しており、本研究により C<sub>3</sub>植物 Rubisco の触媒特性が C<sub>4</sub>化されたことを示します。これらの変化は Rubisco 量 (図 2e) やクロロフィル (注 4) の量 (図 2f) の変化を伴わずに生じていました。

この酵素性能の変化は植物個体の光合成機能にも直接反映されました。現在の大気 CO<sub>2</sub>濃度条件下において、改変系統では CO<sub>2</sub>同化速度が増加しました (図 3a)。一方で、気孔コンダクタンス (図 3b、注 5) や葉内 CO<sub>2</sub>濃度 (図 3c) には差が見られず、その結果として水利用効率が向上しました (図 3d)。これは Rubisco 機能そのものの強化によって光合成効率が上がったことを示しています。

さらに生育解析の結果、播種 48 日後には現在の大気 CO<sub>2</sub>条件下において植物の外観からも生育促進が認められ (図 4a)、総葉面積 (図 4b) および地上部乾物重 (図 4c) が増加していました。将来の気候環境を想定した高 CO<sub>2</sub>条件下ではこの効果はさらに顕著となり、植物の外観 (図 4d)、総葉面積 (図 4e)、地上部乾物重 (図 4f) がより大きく増加しました。

最終的な生産性評価として、播種 90 日後に収穫した植物では、生育外観の改善 (図 5a)、地上部乾物重 (図 5b) および地下部乾物重 (図 5c) の増加に加え、種子収量も増加していました (図 5d)。これは光合成能力の向上が最終的な収量増加につながることを示しています。

さらにクライオ電子顕微鏡によって、Col-0、M309I、D397N の構造解析を行いました。活性部位の構造に着目すると、Col-0 では基質アナログ (注 6) である硫酸イオンが 2 か所に結合しているのに対し (図 6b)、M309I および D397N では硫酸イオンが 1 か所のみ結合していました (図 6c-f)。さらに、Rubisco が CO<sub>2</sub>を固定する際に開閉を伴う 60s ループの構造にも変化が確認されました (図 6d, f)。アミノ酸変異を導入した M309I や D397N の位置は活性中心から離れたサブユニット界面に位置しています (図 6a)。つまり、活性部位から離れた位置の単一アミノ酸置換によって、ドミノ倒しのように酵素の構造が変化し、それによって触媒部位の柔軟性が上がったことで Rubisco の触媒速度が向上した可能性が分かりました。

以上の結果は、ゲノム編集技術を用いて、C<sub>3</sub>植物における Rubisco の触媒特性を C<sub>4</sub>型に近づけることで、光合成能力と植物生産性を同時に向上できることを示した重要な成果です。

### 今後の展開と意義

本研究は、葉緑体ゲノム編集技術を用いて Rubisco の触媒特性を単一アミノ酸レベルという最小限の改変によって向上させ、光合成能力と植物生産性を同時に強化できることを世界に先駆けて示した重要な成果です。葉緑体ゲノム編集は、外来遺伝子をゲノムに残すことなく精密な遺伝子改変が可能な技術であり、従来の遺伝子組換えとは異なる形で植物の進化や育種のスピードを飛躍的に高め得る新しい分子育種手法としての可能性が本研究で示されました。

今後、本技術をイネやトマトなどの主要作物やポプラなどの木本植物へ展開することで、作物生産性の大幅な向上に加え、光合成による炭素固定能力の強化を通じた大気 CO<sub>2</sub>削減やカーボンニュートラル社会の実現に貢献する次世代の光合成改良技術としての発展が強く期待されます。

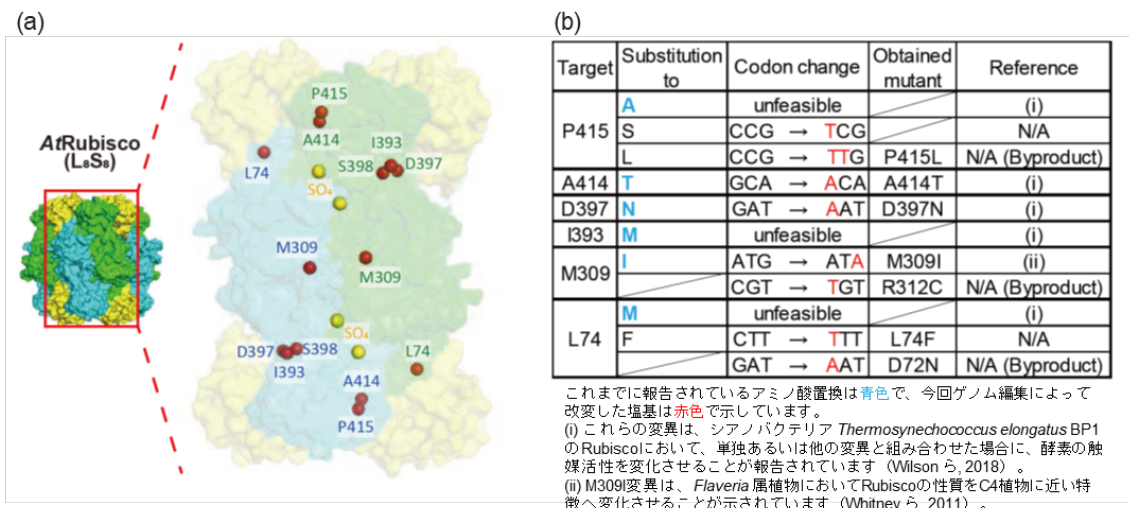


図 1. RbcL に導入したアミノ酸置換

a : 標的としたアミノ酸の位置を、シロイヌナズナ Rubisco (AtRubisco) の三次元構造上に示した。RbcL 二量体および 4 つの RbcS サブユニットは半透明の表面モデルで表し、それぞれ緑色、青色、黄色で示している。触媒部位に結合した硫酸分子は、触媒中心を示すため黄色の球で示した。標的アミノ酸の C $\alpha$  原子の位置は赤色の球で示した。

b : 標的アミノ酸、導入を目指した置換変異、それに対応するコドン変化、さらに得られた変異体およびその遺伝子型を示した。「unfeasible」は、C:G から T:A への塩基編集では導入できない置換であることを示す。ホモプラスミーは T<sub>2</sub> 世代個体およびその T<sub>3</sub> 後代の遺伝子型解析によって確認した。Null は T-DNA が存在しないことを示す。

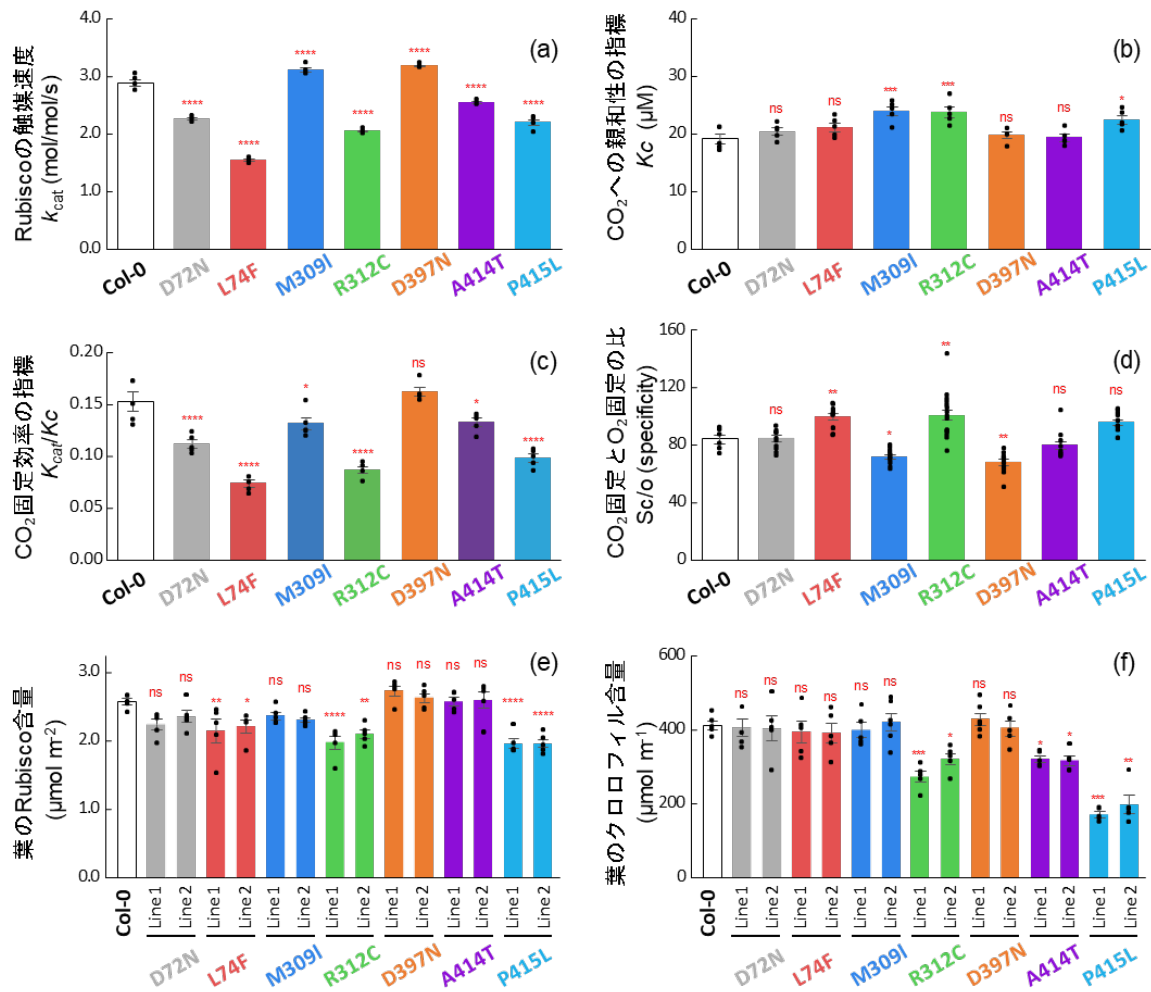


図2. 各変異系統における Rubisco の酵素特性、Rubisco 量およびクロフィル量

各種変異を導入した Rubisco の酵素特性として、触媒速度 ( $k_{cat}$ ) (a)、CO<sub>2</sub>に対する親和性の指標 ( $K_c$ ) (b)、CO<sub>2</sub>固定効率 ( $k_{cat}/K_c$ ) (c)、CO<sub>2</sub>固定と酸素反応の比 (Sc/o) (d)、Rubisco 量 (e)、およびクロフィル量 (f) を示す。

データは平均値±標準誤差 (SE) で示し、黒点は各測定値を示す。ns は有意差なし ( $p > 0.05$ )、\*  $p < 0.05$ 、\*\*  $p < 0.01$ 、\*\*\*  $p < 0.001$ 、\*\*\*\*  $p < 0.0001$  を示す。独立した酵素調製6回の結果に基づき、Dunnettの両側検定による多重比較を行った。

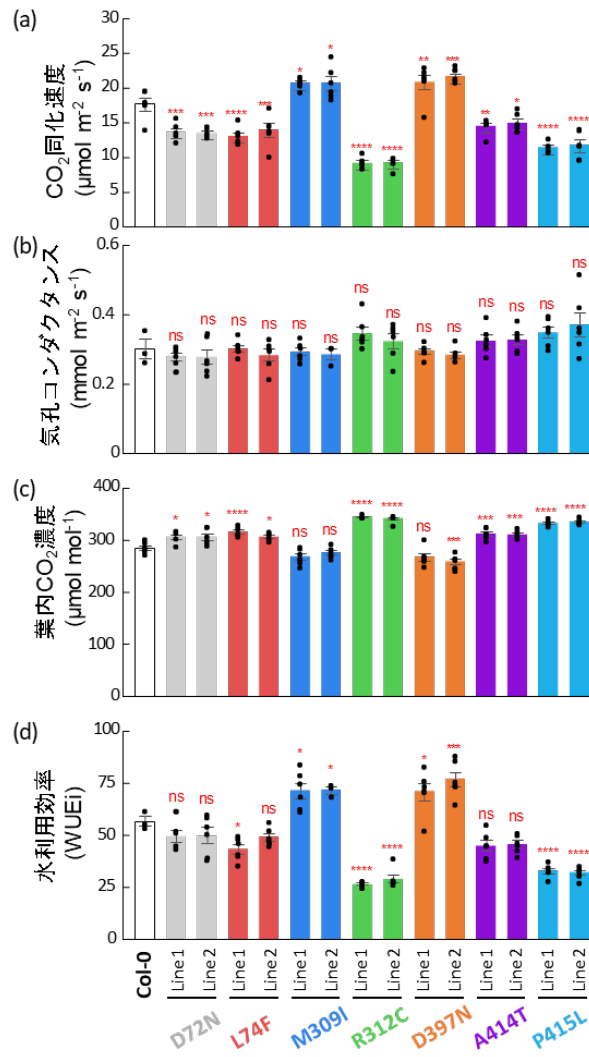


図3. 各系統における光合成関連パラメータ

大気CO<sub>2</sub>濃度400 ppm条件下における各系統のCO<sub>2</sub>同化速度 (a)、気孔コンダクタンス (b)、葉内CO<sub>2</sub>濃度 (c)、および固有水利用効率 (WUEi) (d)を示す。

データは平均値±標準誤差 (SE) で示し、黒点は個々の測定値を示す。ns は有意差なし ( $p > 0.05$ )、\*  $p < 0.05$ 、\*\*  $p < 0.01$ 、\*\*\*  $p < 0.001$ 、\*\*\*\*  $p < 0.0001$  を示す。各系統6個体の測定結果に基づき、Dunnettの両側検定による多重比較を行った。

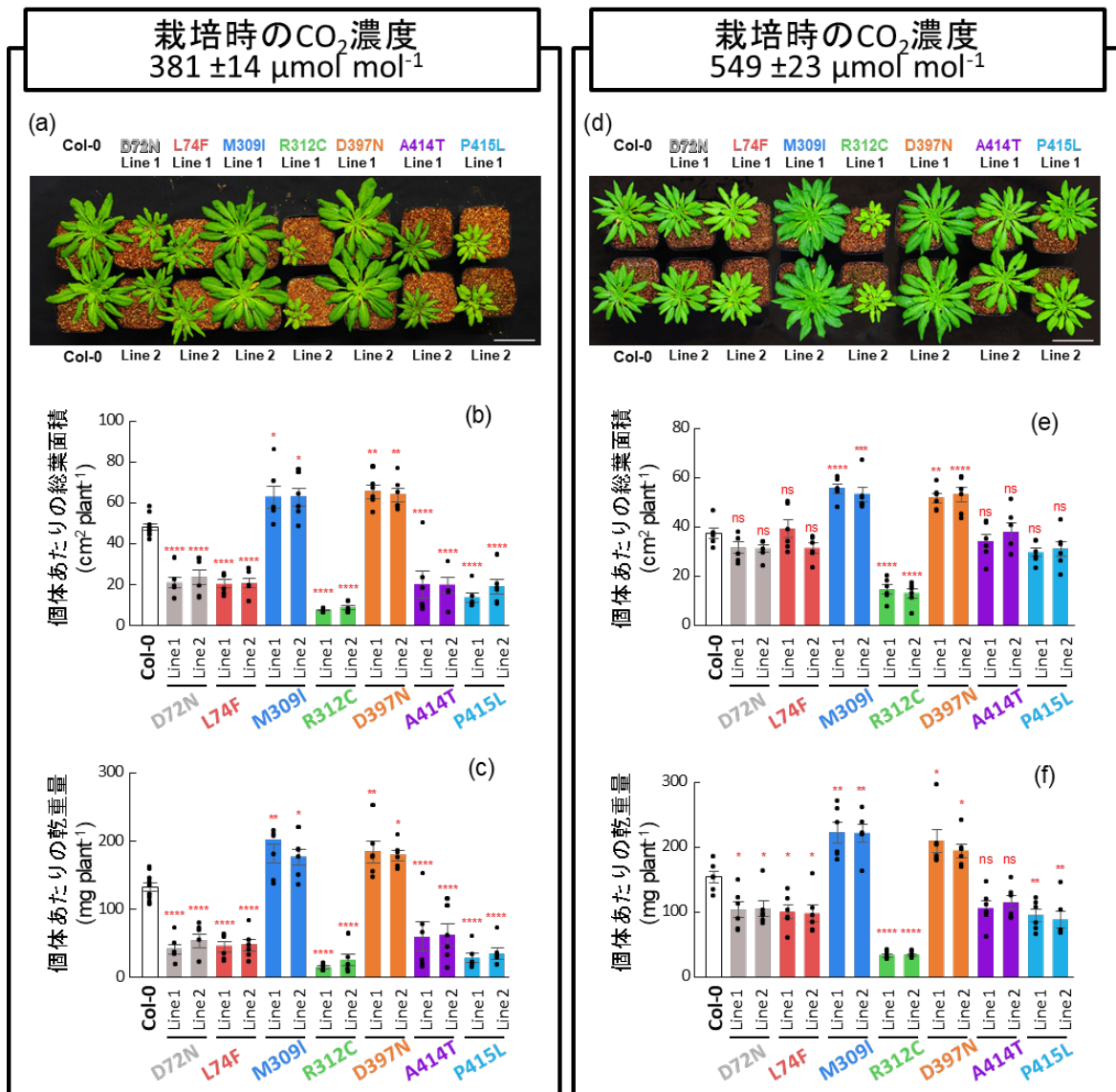


図 4. 播種後 48 日における植物の生育

現在の大気 CO<sub>2</sub>濃度条件 (381 ±14 μmol mol<sup>-1</sup>) で栽培した植物の外観 (a)、播種 48 日後における総葉面積 (b) および地上部乾物重 (c) を示す。高 CO<sub>2</sub>条件 (549 ±23 μmol mol<sup>-1</sup>) で栽培した植物の外観 (d)、総葉面積 (e) および地上部乾物重 (f) を示す。

データは平均値±標準誤差 (SE) で示し、黒点は個々の測定値を示す。ns は有意差なし ( $p > 0.05$ )、\*  $p < 0.05$ 、\*\*  $p < 0.01$ 、\*\*\*  $p < 0.001$ 、\*\*\*\*  $p < 0.0001$  を示す。各系統 6 個体の測定結果に基づき、Dunnnett の両側検定による多重比較を行った。

(a)

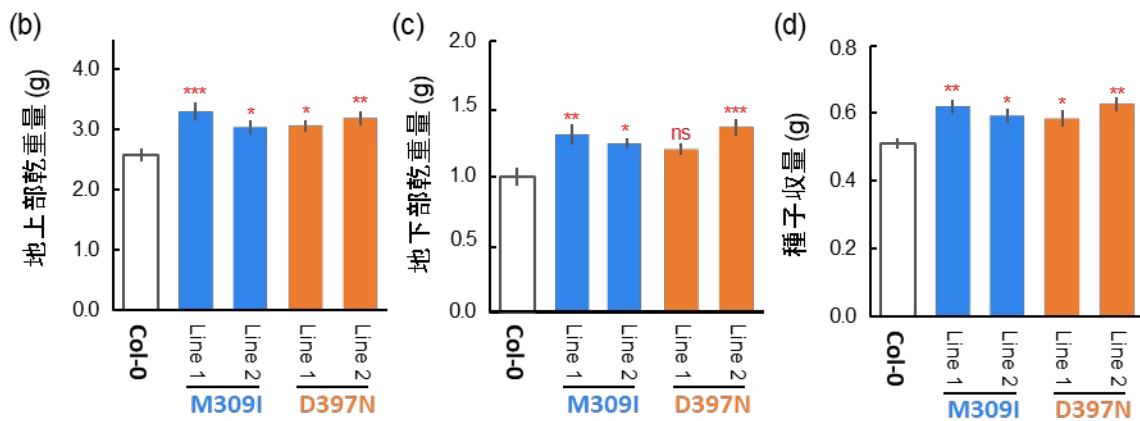


図5. 現在の大気CO<sub>2</sub>濃度条件 (381±14 μmol mol<sup>-1</sup>) における植物の生育

播種90日後に収穫した植物の外観 (a)、地上部乾物重 (b)、地下部乾物重 (c) および種子収量 (d) を示す。植物は明期/暗期 10/14 時間の条件で栽培し、明期の光合成光量子束密度 (PPFD) は 150 μmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> に設定した。気温および相対湿度はそれぞれ 22°C および 60% に維持した。データは平均値±標準誤差 (SE) (n=5) で示す。ns は有意差なし ( $p > 0.05$ )、\*  $p < 0.05$ 、\*\*  $p < 0.01$ 、\*\*\*  $p < 0.001$  を示す。各列は Col-0 と比較した有意差を示し、多重比較には Dunnett の両側検定を用いた。

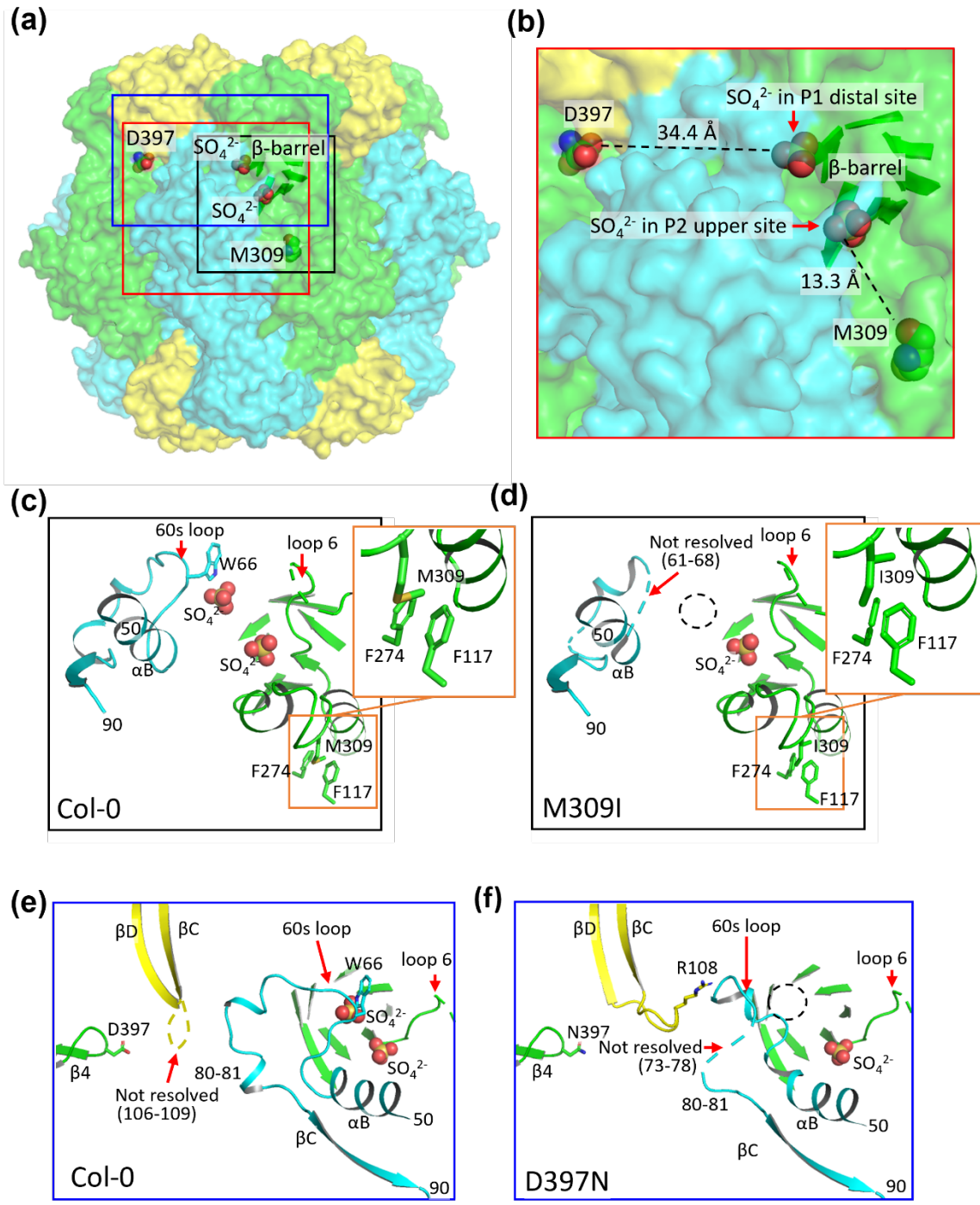


図 6. クライオ電子顕微鏡による各系統 Rubisco の構造解析

a : 野生型 (Col-0) Rubisco における M309 および D397 の位置を示す。8 つの RbcL サブユニットは緑色およびシアン色、8 つの RbcS サブユニットは黄色で示している。M309 および D397、ならびに 2 つの硫酸イオン ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) は空間充填モデルで表示した。活性部位を形成する C 末端領域を含む  $\beta$  バレル構造も示している。赤、黒、青の四角は、それぞれ b、c・d、e・f で拡大して示した領域を示す。

b : 活性部位周辺の拡大構造。P2 上位部位に結合した硫酸イオンと M309 との距離、および P1 遠位部位に結合した硫酸イオンと D397 との距離を示す。

c、d : Col-0 と M309I 変異体における活性部位構造の比較。主要な相互作用残基を示している。破線の円は P1 遠位部位を示し、この部位では硫酸イオンが観察されなかった。

e、f : Col-0 と D397N 変異体における活性部位構造の比較。主要な相互作用残基を示している。破線の円は P1 遠位部位を示し、この部位では硫酸イオンが観察されなかった。

## 発表者・研究者等情報

東京大学 大学院農学生命科学研究科  
矢守 航 准教授  
中里 一星 特任助教  
曲 玉辰 特任助教  
三箇 雪花 修士課程大学院生 (研究当時)  
有村 慎一 教授

立命館大学 生命科学部  
上原 了 助教  
能登 悠真 修士課程大学院生  
松村 浩由 教授

神戸大学 大学院農学研究科  
深山 浩 教授

大阪大学大学院生命機能研究科 日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所  
宮田 知子 特任准教授 (常勤)  
難波 啓一 特任教授 (常勤)

## 論文情報

雑誌名 : Nature Communications

題名 : Chloroplast genome editing of Rubisco boosts photosynthesis and plant growth

著者名 : Wataru Yamori, Issei Nakazato, Yuchen Qu, Yukina Sanga, Tomoko Miyata, Ryo Uehara, Yuma Noto, Keiichi Namba, Hiroshi Fukayama, Hiroyoshi Matsumura, and Shin-ichi Arimura

DOI : 10.1038/s41467-026-73783-w

URL : <https://www.nature.com/articles/s41467-026-73783-w>

## 注意事項 (解禁情報)

日本時間 6 月 19 日 18 時 (英国夏時間 6 月 19 日午前 10 時) 以前の公表は禁じられています。

## 研究助成

本研究は、以下の支援を受けて実施されました。日本学術振興会 科学研究費助成事業 (課題番号 : 21H02171、24H02271、24H02277、25H02292、24K01994、23K18033、JPJSCCA20230008、22J20237)、科学技術振興機構 (JST) ALCA-Next (課題番号 JPMJAN25D2)、科学技術振興機構 (JST) OPERA (産学共創基盤研究プログラム、課題番号 JPMJOP1861)、立命館大学 立命館グローバル・イノベーション研究機構 (R-GIRO) 研究プログラム、白石科学振興財団、日本医療研究開発機構 (AMED) BINDS (創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム事業、課題番号 JP21am0101117、JP22ama121003、JP23ama121001)、日本医療研究開発機構 (AMED) CiCLE (産学連携医療イノベーション創出プログラム、課題番号 JP17pc0101020) ; 日本電子 (JEOL) YOKOGUSHI 協働研究所、大阪大学 蛋白質研究所 共同研究プログラム (CR-22-02、CR-23-02)。

## 用語解説

注 1. C<sub>3</sub>植物、C<sub>4</sub>植物

CO<sub>2</sub> が植物体内に取り込まれた後、最初の反応で炭素を 3 つ含む有機物に変換される植物が C<sub>3</sub>植物、炭素を 4 つ含む有機物に変換される植物が C<sub>4</sub>植物と呼ばれる。C<sub>3</sub>植物では植物体内に取り込まれた CO<sub>2</sub> が Rubisco と最初に反応するのに対し、C<sub>4</sub>植物では CO<sub>2</sub> が別の酵素と反応して有機物に変換された後、別の組織に移動してから CO<sub>2</sub> へと再変換され、そこで Rubisco と反応する。このように、C<sub>3</sub>植物と C<sub>4</sub>植物では CO<sub>2</sub> が Rubisco と反応するまでの道のりが異なり、それゆえに Rubisco の性質も異なると考えられている。

#### 注 2. 標的一塩基置換酵素 ptpTALECD

ptpTALECD は plastid-targeted platinum TALE cytidine deaminase の略で、DNA 結合ドメイン (TALE) と塩基置換を担うドメイン (cytidine deaminase) 等から成る、二分子型の塩基置換酵素である。葉緑体ゲノム上の任意の DNA 配列に両分子の TALE が結合すると、その間の配列に位置する特定の C:G 対が T:A 対に置換される。

#### 注 3. コドン

タンパク質の設計図となる DNA や RNA において、次にどのアミノ酸をタンパク質に繋げるかを指定する、3つの核酸塩基の並び。

#### 注 4. クロロフィル

光合成において光エネルギーを吸収する色素。クロロフィル量は、光合成能力の指標の一つである。

#### 注 5. 気孔コンダクタンス

葉の気孔がどれだけ開いているかを表す指標。この値が大きいほど気孔の開き具合が大きく、CO<sub>2</sub>等の気体が通りやすいことを表す。

#### 注 6. 基質アナログ

酵素が本来反応する分子（基質）と似た構造を持ち、酵素の反応部位に結合するが、通常の反応は起こらない化合物。酵素の働きを調べる研究などに用いられる。

### 問合せ先

(研究内容については発表者にお問合せください)

東京大学 大学院農学生命科学研究科 附属生態調和農学機構  
准教授 矢守 航 (やもり わたる)  
TEL : 070-6442-9511  
E-mail : yamori@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

東京大学 大学院農学生命科学研究科 生産・環境生物学専攻  
教授 有村 慎一 (ありむら しんいち)  
E-mail : arimura@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

立命館大学 生命科学部  
教授 松村 浩由 (まつむら ひろよし)  
TEL : 077-561-4809  
E-mail : h-matsu@fc.ritsumei.ac.jp

神戸大学 大学院農学研究科  
教授 深山 浩 (ふかやま ひろし)  
TEL : 078-803-5820  
E-mail : fukayama@people.kobe-u.ac.jp

大阪大学 大学院生命機能研究科 日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所  
特任教授 (常勤) 難波 啓一 (なんば けいいち)  
TEL : 06-6879-4625  
E-mail : namba.keiichi.fbs@osaka-u.ac.jp

東京大学 大学院農学生命科学研究科・農学部  
事務部 総務課総務チーム広報情報担当  
TEL : 03-5841-5484 FAX : 03-5841-5028

E-mail : koho.a@gs.mail.u-tokyo.ac.jp  
立命館大学総合企画部広報課  
TEL : 075-813-8300  
E-mail : r-koho@st.ritsumei.ac.jp

大阪大学 生命機能研究科庶務係  
TEL : 06-6879-4692  
E-mail : seimei-syomu@office.osaka-u.ac.jp

神戸大学 企画部広報課  
TEL : 078-803-5106  
E-mail : ppr-kouhoushitsu@office.kobe-u.ac.jp