光合成研究

第 25 巻 第 2 号 (通巻 73 号) 2015 年 8 月 NEWS LETTER Vol. 25 NO. 2 August 2015

THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

研究紹介 光防御関連遺伝子 ELIP2 プロモーターから同定された強光、低温、UV-B ストレス応答を						
統合する転写制御配列						
速水 菜月(岐阜大) 坂井 優作(岐阜大) 時澤 睦朋(岐阜大) 井内 聖(理研)						
野元 美佳(名古屋大) 多田 安臣(名古屋大) 山本 義治(岐阜大)	84					
解説特集 「光合成の多様な世界について」	92					
解説 C1 微生物-植物共生系による C1 炭素固定と植物生長促進						
由里本 博也(京都大) 阪井 康能(京都大)	92					
解説 サンゴ共生藻における集光アンテナ複合体						
丸山 真一朗(東北大)	100					
解説 藻類の多様性を利用した光化学系研究						
鞆 達也(東京理科大) 山田 聖人(東京理科大) 清水 信介(東京理科大)						
伊藤 道俊(東京理科大) 長尾 遼(名古屋大)	106					
解説特集「光合成と脂質」	113					
序文 小林 康一 (東京大) 粟井 光一郎 (静岡大)	114					
解説 光合成タンバク質複合体と脂質						
遠滕 嘉一郎(東京大) 小林 康一(東京大) 和田 元(東京大)	116					
解説 植物のナフコイド膜脂質の合成と葉緑体発達における役割	100					
	126					
解説 脂質による栗緑体分裂の制御	100					
回阿 人夫士 (東上人)	138					
脾説 元百成生物にわりるルフクト脂具百成産路の分布と進化 亜サント・煎(格図+)	140					
※井 兀一叫(前叫八) 級説 业会式如英の形成	143					
牌読 九百 成神困の 相員 (なくなん)(東丁士) 民秋 均(立会館士) 港口 正(立会館士)	151					
場合 福介 (米工八) 氏秋 均 (立市昭八) 海口 正 (立市昭八) 報告記事 第6回 日本光会成学会 (在会・小開シンプジウム) 開催報告	151					
松白記事 第6日 日本元日成子云(十云 云原ノノホノノム) 周進松日 か田 祐介(関西学院大) 喜極松一郎(岡山大)	160					
報告記事 第7回 日本光合成学会ワークショップ	100					
高橋裕一郎(岡山大)	163					
報告記事 若手の会活動報告~第12回セミナーの開催予告、サイエンスアゴラ2015での出展予告~						
浅井 智広(立命館大)	164					
集会案内 山田コンファレンス国際シンポジウム「Dynamics and Regulation of Photosynthesis」	165					
事務局からのお知らせ	166					
日本光合成学会会員入会申込書	167					
日本光合成学会会則	168					
幹事会名簿	170					
編集後記・記事募集	171					
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2015 年度役員						
賛助法人会員広告						

研究紹介

光防御関連遺伝子 ELIP2 プロモーターから同定された強光、低温、UV-B ストレス応答を統合する転写制御配列[§]

¹岐阜大学 応用生物科学部 ²岐阜大学 大学院連合農学研究科 ³理化学研究所 BRC ⁴名古屋大学 遺伝子実験施設 ⁵理化学研究所 CSRS ⁶JST ALCA 速水 菜月 ^{1,*} 坂井 優作 ¹ 時澤 睦朋 ² 井内 聖 ³ 野元 美佳 ⁴ 多田 安臣 ⁴ 山本 義治 ^{1,2,5,6}

強光、低温、及び UV-B ストレスは光阻害や ROS 生成を伴うという点で共通しており、光合成と非常 に関係の深い環境ストレスである。筆者らは光防御関連遺伝子であるシロイヌナズナ ELIP2 が強光、 低温、及び UV-B に顕著に転写応答を行うことに注目し、そのプロモーター解析を行った。解析スキ ームとしては、1)マイクロアレイデータをもとにした転写制御配列の予測、2)予測に基づく合成 プロモーターの作成とその機能検証、の二段階で行った。得られた結果から、予測された3つの転写 制御配列すべてが機能を持つこと、そのうち2つの組み合わせがストレス応答に必要かつ十分である ことを明らかにした。また、機能解析及びプロモーター配列と発現応答のゲノムワイドな相関解析の 結果から、同定されたエレメントの一つ(エレメント B、GGCCACGCCA)には強光、低温及び UV-B の3種類のシグナルを統合する働きがあるということが強く示唆された。

1. はじめに

動物とは異なり植物は不適な環境下にあっても逃 げだすことができない。そのため、植物は多様な環境 ストレスに対する高度な環境適応能力を発達させて おり、動物の生存戦略との大きな違いとなっている。 植物の環境適応の分子メカニズムの中心は環境スト レスに対する転写応答にあり、多様な環境ストレスに 対して応答する複雑な転写ネットワークにより支え られている。植物が持つ高度な環境適応能力を理解す るためには、この転写ネットワークの解明が必須であ る。

通常一つのネイティブプロモーターには複数の転 写制御配列が含まれており、その組み合わせにより遺 伝子ごとの転写プロファイルが規定されていると考 えられる。植物プロモーターに含まれる転写制御配列 の同定のための、プロモーターデリーションによるラ フマッピングからミューテーションスキャニングを 用いたファインマッピングへという手法はよく整備

[§]第4回日本光合成学会シンポジウム ポスター発表賞受賞 論文

*連絡先 E-mail: natsuki-hayami@hotmail.co.jp

されている。しかしこの解析手順に従うと転写制御配 列の同定までに長い期間を要すること、ひとつのプロ モーターからすべての転写制御配列を同定すること が目的ではないためネイティブプロモーターの全体 の構造理解にはなかなか繋がらないこと、の二点の問 題があった。

一方、バイオインフォマティクスを用いて転写制御 配列を予測する試みが行われており、マイクロアレイ データをもとに予測する手法としては Gibbs sampling や MEME といった、共通の制御を受けるプロモータ 一群からコンセンサス配列を抽出する方法が確立さ れている。しかしながら、これらの方法には低い検出 感度および高い偽陽性頻度という問題があり、実用的 な要求水準には達しないものであった¹⁾。我々は配列 の出現頻度比較による転写制御配列の予測法を新た に開発し²⁾、それを用いてシロイヌナズナ ELIP2 の転 写制御配列予測を行い、その結果をもとにして合成プ ロモーターを用いたプロモーター機能解析を行う、と いう解析スキームを確立した。本報告に紹介する内容 は主に文献³⁾に公表されている。



2. 強光、低温、UV-Bストレスと光合成

日中の直射日光は植物の光飽和点の10倍程度の 光量に達することがあり、過剰な光合成電子伝達鎖の 駆動により光合成装置や葉緑体、植物組織にダメージ を与える可能性がある。植物の光ストレスによる症状 としては、光阻害、電子伝達鎖の過剰駆動による還元 力の過剰供給、電子伝達鎖からの電子の漏出に伴う活 性酸素種 (ROS) の生成が挙げられる。また、低温ス トレス時の症状としては凍結/乾燥による細胞や組 織へのダメージが最も深刻ではあるが、それ以外にも 光阻害、カルビン酵素群の活性低下に伴う還元力の過 剰供給、ROS の生成がある。強光、低温ストレス時に は光合成電子伝達鎖の抑制がストレス緩和に役立つ と考えられる。また、UV-B ストレス時における最も 深刻な症状は DNA 損傷であるが、光阻害及び ROS 生 成も知られている⁴⁾。従って3種の環境ストレスには 光合成に与える影響としてある程度の類似性が存在 する。

3. 環境ストレスによる ELIP2 の発現誘導

ELIP(Early Light Inducible Protein)はエンドウの緑化 初期に発現する遺伝子として発見された⁵⁾。カロテノ イド及びクロロフィル結合性のチラコイド膜タンパ ク質をコードする遺伝子であり⁶⁾、アミノ酸配列の相 同性からLHCスーパーファミリーに分類される(図1)。 具体的な機能は不明であるが、光ストレス下における ストレス緩和を行う光防御因子であると考えられて

図 1. シロイヌナズナ LHC スーパー ファミリー

シロイヌナズナLHC スーパーファミリ ーに属する全長タンパク質の近隣接合 法による系統樹(左)とタンパク質の 構造を示すイラスト(右)。左のパネル において各タンパク質の右側にある色 のついた丸印は左のパネルの色に対応 する。右のパネルに示した白もしくは 色付けされた長方形はαヘリックスか らなるチラコイド膜貫通領域。白色で 表したヘリックスはLHC スーパーファ ミリー全体において保存性が高いが、 色付けされたヘリックスはそれぞれの グループごとに配列の違いが見られる ^{9,10}

いる ^{7,8)}。

シロイヌナズナ *ELIP2* は強光ストレス及び UV-B ス トレスにより発現活性化されることが知られていた



図 2. プロモーター上の転写制御配列の予測

(A) A、B、Cの3つのエレメントが予測された。それ ぞれの出現位置及び塩基配列を示した。TATA は TATA ボックス、数字は転写開始点(TSS)からの距離(bp) を示す。(B) 合成プロモーターの模式図。それぞれのエ レメントは3回繰り返しとして合成オリゴ DNA を用い て作成され、図最下段のベクターへ挿入された。

が、公開されているマイクロアレイデータを解析した 結果、低温ストレスに対しても活性化が見られること を見いだした。上でも述べたとおり3つのストレスに 共通する特徴として活性酸素種 (ROS) の生成が挙げ られるが、シロイヌナズナ ELIP2 は ROS のひとつで ある過酸化水素には応答しないこと¹¹⁾から、これらの 環境ストレスに対する ELIP2 の活性化は過酸化水素で はない ROS、もしくは全く別の機構により行われるも のと想像される。これまでに、ELIP2 の強光ストレス 応答が DCMU 処理により抑制されることからストレ ス認識にプラストキノンの還元状態が必須であるこ とが示唆されている¹²⁾。これらの知見から、ELIP2の 転写活性化は光合成に密接に関わる複数の環境スト レスに対して応答していると捉えることができる。 我々は、強光、低温、UV-B を含む複数の環境ストレ スに対する光防御応答の理解を目的として ELIP2 プロ モーターの解析を行った。

4. *ELIP2* プロモーターに含まれる転写制御配 列予測と合成プロモーターの作成

ELIP2 転写開始点上流 1000 塩基について、連続した 8 塩基配列のシロイヌナズナ全遺伝子中での出現頻 度とストレス応答性遺伝子群中での出現頻度を比較 することで転写制御配列を予測した(図 2A)。図 2A の各横線は転写開始点から上流 1000 塩基までのプロ モーター配列をそれぞれ示しており、青丸はストレス 応答性遺伝子群中での出現頻度が相対的に高い配列 を、濃青丸はストレス応答性遺伝子群中での出現頻度 が相対的に高くかつ統計的に有意な配列の位置を示 している。この予測結果から3つの転写制御配列候補 としてエレメント A,B 及び C を決定した。

予測されたエレメントの機能検証をするために、ホ タルルシフェラーゼ遺伝子の上流に予測されたエレ メントとカリフラワーモザイクウイルス 35S コアプロ モーターをつないだ人工合成プロモーターを作成し た。エレメント A,B 及び C を単独または組み合わせで 持つ合計 10 系統を作成した(図 2B)。

5. 合成プロモーターを用いた機能検証

図 2B のように作成した人工合成プロモーターとル シフェラーゼ遺伝子を導入した形質転換シロイヌナ ズナの芽生えのルシフェラーゼ活性を測定すること で各エレメントの機能を検証した。ルシフェラーゼ活 性の *in vivo* 計測は図 3A に示したような自動発光測定 機を用いて行った。

UV-B 応答についてはエレメントBとAを組み合わ せた合成プロモーター (B+A) で *ELIP2* ネイティブプ ロモーターと同程度の応答が確認された。一方でAま たはBの単独のエレメントを含む合成プロモーターは 応答を示さなかった (図 3B)。強光、低温応答に関し



図 3. 合成プロモーター系統の UV-B応 答

(A)使用した自動発光測定器。左は3 cm $\phiシャーレ、右は24 穴プレートを用いる。$ 光増倍管により発光測定する。(B)22 °C、6 W・m²で1週間栽培した植物にルシフエリンを添加し、UV-Bを6W・m²で15分間照射した後の植物体の*in vivo*ルシフエラーゼ活性を測定した。UV-B 照射前のルシフェラーゼ活性を1とした相対値を示す。

表 1. 合成プロモーター系統の環境ストレス応答性 まとめ

ネイティブプロモーターと同等の高い応答性を示したものは◎、弱いながらも応答のあったものは○、応答のないものは×で示した。

	\mathbf{HL}	UV-B	Cold
Native promoter	O	O	0
А	×	×	×
В	×	×	ND
С	×	×	ND
B+A	0	0	0
C+A	×	×	ND
C+B	×	×	ND
C+B+A	0	0	×
B+C	×	×	ND

ても UV-B 応答と同様に、B+A でのみネイティブプロ モーターと同様の発現プロファイルが確認された(表 1)。これらの結果から、UV-B、強光、低温の3つの 環境ストレス応答にはエレメントBもしくはAの単独 では応答を示すには不十分であり、両者の組み合わせ が必要であることが明らかになった。

さらに、B+A の順番を逆にする (A+B)、もしくは 裏返した ((B+A)comp) ところ、UV-B 応答は影響を 受けず、同等の応答性を示すことも明らかとなった (表 1)。

マイクロアレイデータ及びプロモーター配列情報 をもとに、シロイヌナズナの全遺伝子におけるプロモ ーター中のエレメントA、Bの有無とストレス応答と の相関を解析した。その結果、エレメントBをプロモ ーター中に持つ遺伝子群では、エレメントAをプロモ ーター中に持つ遺伝子群やシロイヌナズナ全遺伝子 群と比較して強光、低温、UV-Bの環境ストレス応答 性の遺伝子の割合が高いことが明らかになった(図4)。 エレメントBを持つ遺伝子のなかにはストレス応答性 を持つものと持たないものが混在しているが、大まか に言うと3つのストレスすべてに応答性を示さない もの、3つのストレスすべてに正の応答性をもつもの、 3つのストレスすべてに負の応答性をもつもの、のグ ループに分かれる傾向があることがわかった。従って、 エレメントBをプロモーターに持つ遺伝子群において は、強光、低温、UV-Bというキューも認識機構も異 なる3つのストレス応答がセットになって現れる、と いうことになる。これらのことからエレメントBはこ れら3つの環境ストレス応答を統合する働きを持つ ということが強く示唆された。3つの環境ストレスシ グナルの受容はエレメントBが行っており、その応答 が起こるか起こらないか、正負どちらの応答になるか は、他の因子(ELIP2の場合でいえばエレメントA) との組み合わせにより決定されているのではないか、 と推測している。

エレメントAについては図4にあるように、ストレ ス応答性との相関はエレメントBほどは高くなく、A は発現応答の特異性を担うというよりはストレス応 答について補助的な働きをしているものと想像され る(図4)。

UV-B に対する転写応答についてはシロイヌナズナ のUV-B 受容体として唯一知られている UVR8 に依存 性を示す低光量応答グループと UVR8 非依存性高光量 応答グループの 2 種類が存在することが報告されて いる¹³⁾。*ELIP2* の UV-B 応答についていえば、*uvr8* に おいて応答がほとんどみられなくなることから¹⁴⁾、



図4. エレメントA、Bと環境ストレス応答性の関係 シロイヌナズナ全遺伝子群(Global)と、エレメントA、 Bをプロモーター中に持つ遺伝子群(それぞれ236、71遺 伝子)におけるストレス誘導性遺伝子の割合(%)を示し た。ストレス誘導性遺伝子はマイクロアレイデータから 各ストレス処理によって2倍以上誘導された遺伝子とし た。*はフィッシャーの正確確率検定(Fisher's exact test) によりシロイヌナズナ全遺伝子群(Global)と比較して 5%水準で有意差があるものを示す。

UV-B 受容体としてはUVR8のみで応答の説明はつく。 また、光依存的な胚軸の伸長抑制、葉緑体の発達、と いった芽生えの光形態形成を促進する働きを持つこ とが知られている転写因子である HY5 が、UV-B に対 する転写応答も促進することが明らかにされている。 UVR8 による HY5 の活性化は、転写活性化によるもの ¹⁵⁾とタンパク質の安定化によるもの¹⁶⁾の二本立てで行 われる。

我々の実験系(連続白色光下で育てた芽生えに白色 光下で UV-B をパルス照射しその後の応答を見る)に おいても hy5 変異体で ELIP2 の UV-B 応答が部分的に 減少することが確認された。また in vitro の DNA-タン パク質結合実験の結果から、HY5 がエレメント B に配 列特異的な結合を示すことを発見した。エレメント B は HY5 結合配列として知られている G ボックス (TGACACGTGGCA,¹⁷⁾)中のコア配列 ACGT を持た ないため、HY5 の結合は想定していなかった。

以上の結果を合わせると、*ELIP2* 活性化につながる UV-B シグナルは UVR8 からのみ生じ、そのシグナル により *HY5* が活性化 (転写活性化とタンパク質の安定 化) され、HY5 が *ELIP2* プロモーターのエレメント B に直接結合することで *ELIP2* の転写活性化を行う、と いうモデルができる (図 5)。モデルでは HY5 以外に も UVR8 由来の UV-B シグナルを伝達し、かつエレメ ント B に結合する未同定の転写因子を仮定しており、 両経路の存在により *ELIP2* の十全な紫外線応答が実現 されていると考えられる。

ELIP2 の強光応答については、変異体を用いた解析 から青色光/UV-A 受容体のひとつである CRY1 が部分 的に関与すること、HY5 が部分的に関与することが示 唆されていた¹⁸⁾。強光応答と光形態形成における青色 光応答とは応答を与える光強度に大きな違いがある ため、青色光/CRY1/光形態形成についての知見をどこ まで強光/CRY1/光ストレス応答に適用できるのかは っきりしないところはあるが、光形態形成の際には CRY1の光受容により HY5 タンパク質が安定化するこ と¹⁹⁾、また、HY5 の遺伝子発現は顕著な強光応答を示 さないこと¹⁸⁾から、CRY1 から HY5 への強光シグナル 伝達は HY5 タンパク質の蓄積量を増加させることで 行われている、という可能性がある。

我々の実験系(連続白色弱光で育てた芽生えへの強 光処理)においても *ELIP2* の強光応答に対する HY5



図 5. ELIP2 の発現活性化の模式図

最上段に環境ストレスの種類、二段目の楕円は受容体タ ンパク質(UVR8、CRY1)、三段目の楕円は転写因子タン パク質(HY5)、最下段には ELIP2 プロモーターの模式図 を示した。ELIP2 の UV-B 応答については受容体が UVR8 であること、強光応答の受容体としては部分的に CRY1 が働いていることが知られている。転写因子 HY5 はエレ メント B と結合し、ELIP2 の UV-B 応答及び強光応答の 一部を担う。その他の強光、低温の受容体、及び各スト レス応答に関わる転写因子については現時点では不明で あるが、複数の転写因子がエレメント B を通じて UV-B・ 強光・低温ストレスシグナルを伝達していることは明ら かになった。

の部分的な関与は確認された。また先に述べた HY5 のエレメントBへの結合と合わせて考えると、強光は CRY1 が認識し HY5 ヘシグナル伝達し、活性化(おそ らくタンパク質蓄積量の増加)された HY5 が ELIP2 のエレメントBに結合することで ELIP2 の転写応答を 誘導する、という UV-Bと似た状況であることが考え られる。CRY1 以外からも強光シグナルが発せられ、 未同定の転写因子に伝達されるが、これもエレメント Bに結合するものと想像しており、両者が合わさり強 光シグナルに対するフル応答が生じるものと考えて いる(図 5)。

低温ストレスに対する ELIP2 の応答については、こ れまで注目されてこなかったということもあり文献 情報に乏しい。その上低温ストレス応答に関与する受 容体がひとつも同定されていないという状況があり、 不明な点が多い。低温ストレス応答を担うマスタース イッチとして DREB/CBF 転写因子ファミリーが同定 されており、ガラクチノールやプロリンなどの適合溶 質の生合成活性化等、細胞凍結に対する抗ストレス応 答を担っていることが知られている²⁰⁾。

DREB1A の過剰発現株において *ELIP2* の発現活性化 は見られない²⁰⁾ことから、*ELIP2* の低温ストレス応答 は DREB1A が関与しない、未知の低温ストレスシグナ ルにより制御されていることが示唆される。また、hy5 変異体において ELIP2 の低温誘導が正常に見られたこ とから、UV-B や強光応答とは異なり HY5 は ELIP2 の 低温ストレス応答には関与しないことが明らかにな った。以上のことから未知の転写因子が低温ストレス シグナルを受けエレメント B に結合し、ELIP2 の転写 活性化を行うものと考えられた(図 5)。

6. おわりに

同定された ELIP2 発現応答に関わる環境ストレスシ グナル伝達経路では、UV-B ストレスシグナルの認識 はUVR8が、強光ストレスシグナルの認識は部分的に CRY1 が担っているということになる。簡単に言えば 光環境を光受容体が認識しストレス応答を誘導して いる、ということになる。これだけを見れば細胞の生 理的な状態についてのインプットが見当たらず、細胞 の状況とストレス応答との間に不都合な乖離が生じ る可能性がある。この点を植物はどのように解決して いる(もしくはしていない)のか興味が持たれる。 ELIP2 の強光応答は DCMU 処理により阻害される¹²⁾ が、この知見は図5には含まれていない。ELIP2発現 活性化における DCMU の作用点の同定が葉緑体から ELIP2 へのフィードバック経路の解明に役立つ可能性 がある。ELIP2 のストレス応答は光受容体からの情報 を受けるエレメントBだけでは行えず、エレメントA が必要であるが、エレメントAがどのような情報を受 け取っているのかという点について、上記の視点から も興味が持たれる。

本研究ではマイクロアレイデータを用いた in silico での転写制御配列の推定を行い、それらの機能検証を 合成プロモーターを用いて行った。3つの候補配列に ついて検証し、3つとも機能配列であることが示され た。予想された転写制御配列3つの機能検証のために、 今回は10のコンストラクトを作成したが、必ずしも これだけの数が必要という訳ではない。また、今回は 1kb 長のネイティブプロモーターに予想エレメントの 破壊系統も同時に作成し、合成プロモーターにより得 られた知見と参照しつつ解析した(未紹介)が、ネイ ティブプロモーターの構造解明が目的であればこち らは省略する訳にはいかないかも知れない。いずれに せよ、予想に基づきワンステップ(それでも2年はか かるが)で解析を終えることができる点は既存のアプ ローチと比べると有利である。また、得られた合成プ ロモーター系統は精密分子マーカーとして以後の生 理解析に利用できる。

植物の環境応答について、受容体から遺伝子発現応 答まで分子のことばで説明できる例がいくつか出て きている。現在は次のフェーズとして、野外で起こっ ているストレス応答を理解するために複合ストレス に対するややこみいった応答の解析や、直接野外での 遺伝子発現解析を細かく定量し環境変数との相関を とることで理解しようとする、といった試みが行われ ている。つまり、実験室から野外へ、という流れと、 野外から実験室へという流れである。今後、両者が合 流する地点でカラフルな知見が得られることを期待 したい。

謝辞

本研究は新学術領域研究「植物環境感覚」(25120712) 及びJST ALCA の支援を受けて行われました。ルシフ ェラーゼレポーターの活性測定システムの構築には 近藤孝男博士(名古屋大学)及び青木摂之博士(名古 屋大学)、小山時隆博士(京都大学)に御協力頂きま した。また、低温応答の解析については上村松生博士 (岩手大学)に有用なアドバイスを頂きました。ここ に感謝申し上げます。

Received April 21, 2015; Accepted June 19, 2015; Published August 31, 2015

参考文献

- Yamamoto, Y.Y. and Obokata, J. (2009) Extraction of position-sensitive promoter constituents, in *Computational biology: new research* (Russe, A.S., Ed.) pp. 361–373, Nova Science Publishers, Hauppauge, NY, U.S.A.
- Yamamoto, Y.Y., Yoshioka, Y., Hyakumachi, M., Maruyama, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Tokizawa, M. and Koyama, H. (2011) Prediction of transcriptional regulatory elements for plant hormone responses based on microarray data. *BMC Plant Biol.* 11, 39.
- Hayami, N., Sakai, Y., Tokizawa, M., Iuchi, S., Kurihara, Y., Matsui, M., Nomoto, M., Tada, Y. and

Yamamoto, Y.Y. (in press) The responses of *Arabidopsis* ELIP2 to UV-B, high light, and cold stress are regulated by a transcriptional regulatory unit composed of two elements. *Plant Physiol*.

- Hideg, É. and Vass, I. (1996) UV-B induced free radical production in plant leaves and isolated thylakoid membranes. *Plant Science* 115(2), 251– 260.
- Meyer, G. and Kloppstech, K. (1984) A Rapidly Light-Induced Chloroplast Protein with a High Turnover Coded for by *Pea* Nuclear-DNA. *Eur. J. Biochem. 138*, 201–207.
- Adamska, I. (2001) The Elip family of stress proteins in the thylakoid membranes of pro- and eukaryota, in *Regulation of photosynthesis, Volume 8* (Eva, M.A. and Bertil, A., Eds.) pp. 487–505, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- Król, M., Ivanov, A.G., Jansson, S., Kloppstech, K. and Huner, N.P. (1999) Greening under high light or cold temperature affects the level of xanthophyll-cycle pigments, early light-inducible proteins, and light-harvesting polypeptides in wild-type barley and the chlorina f2 Mutant. *Plant Physiol.* 120, 193–204.
- Hutin, C., Nussaume, L., Moise, N., Moya, I., Kloppstech, K. and Havaux, M. (2003) Early light-induced proteins protect *Arabidopsis* from photooxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 4921–4926.
- Beverley, R.G. (2003) The evolution of light-harvesting antennas, *Light-harvesting antennas in photosynthesis, Volume 13* (Beverley, R.G. and William, W.P., Eds.) pp. 129–168, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- Jansson, S. (1999) A guide to the *Lhc* genes and their relatives in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci.* 4, 236– 240.
- Kimura, M., Yoshizumi, T., Manabe, T., Yamamoto, Y.Y. and Matsui, M. (2001) *Arabidopsis* transcriptional regulation by light stress *via* hydrogen peroxide-dependent and -independent pathways. *Genes Cells* 6, 607–617.

- Kimura, M., Manabe, K., Abe, T., Yoshida, S., Matsui, M. and Yamamoto, Y.Y. (2003) Analysis of hydrogen peroxide-independent expression of a high light-inducible gene for Arabidopsis *Early Light-Inducible Protein* with the aid of the *ELIP2* promoter-luciferase fusion. *Photochem. Photobiol.* 77, 668–674.
- Brown, B.A. and Jenkins, G.I. (2008) UV-B signaling pathways with different fluence-rate response profiles are distinguished in mature *Arabidopsis* leaf tissue by requirement for UVR8, HY5, and HYH. *Plant Physiol.* 146, 576–588.
- Brown, B.A., Cloix, C., Jiang, G.H., Kaiserli, E., Herzyk, P., Kliebenstein, D.J. and Jenkins, G.I. (2005) A UV-B-specific signaling component orchestrates plant UV protection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 18225–18230.
- Ulm, R., Baumann, A., Oravecz, A., Mate, Z., Adam, E., Oakeley, E.J., Schafer, E. and Nagy, F. (2004) Genome-wide analysis of gene expression reveals function of the bZIP transcription factor HY5 in the UV-B response of *Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci.* U.S.A. 101, 1397–1402.
- Favory, J.J., Stec, A., Gruber, H., Rizzini, L., Oravecz, A., Funk, M., Albert, A., Cloix, C., Jenkins, G.I., Oakeley, E.J., et al. (2009) Interaction of COP1 and UVR8 regulates UV-B-induced photomorphogenesis and stress acclimation in *Arabidopsis. EMBO J.* 28, 591–601.
- Chattopadhyay, S., Ang, L.H., Puente, P., Deng, X.W. and Wei, N. (1998) *Arabidopsis* bZIP protein HY5 directly interacts with light-responsive promoters in mediating light control of gene expression. *Plant Cell* 10, 673–683.
- Kleine, T., Kindgren, P., Benedict, C., Hendrickson, L. and Strand, A. (2007) Genome-wide gene expression analysis reveals a critical role for CRYPTOCHROME1 in the response of *Arabidopsis* to high irradiance. *Plant Physiol.* 144, 1391–1406.
- Osterlund, M.T., Hardtke, C.S., Wei, N. and Deng, X.-W. (2000) Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of *Arabidopsis*. *Nature*

405, 462–466.

 Maruyama, K., Takeda, M., Kidokoro, S., Yamada, K., Sakuma, Y., Urano, K., Fujita, M., Yoshiwara, K., Matsukura, S., Morishita, Y., Sasaki, R., Suzuki, H., Saito, K., Shibata, D., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2009) Metabolic pathways involved in cold acclimation identified by integrated analysis of metabolites and transcripts regulated by DREB1A and DREB2A. *Plant Physiol.* 150, 1972–1980.

Prediction-Oriented Promoter Analysis of *Arabidopsis ELIP2*, Revealed a Novel Transcriptional Regulatory Elements that Unites High Light, Cold and UV-B Stress Responses

Natsuki Hayami^{1,*}, Yusaku Sakai¹, Mutsutomo Tokizawa², Satoshi luchi³, Mika Nomoto⁴, Yasuomi Tada⁴, Yoshiharu Y. Yamamoto^{1,2,5,6}

¹Faculty Applied Biological Science, Gifu University, ²United Graduate School of Agricultural Science, Gifu University, ³RIKEN BRC, ⁴Center for Gene Research, Nagoya University, ⁵RIKEN CSRS, ⁶JST ALCA

C1 微生物-植物共生系による C1 炭素固定と植物生長促進[‡]

京都大学 大学院農学研究科

由里本 博也 阪井 康能*

メタンやメタノール、ホルムアルデヒドなどの還元型 C1 化合物は、自然界に広く存在している。そし てこれらのC1 化合物を、単一の炭素源、エネルギー源として利用できるメチロトローフ(methylotroph) あるいは C1 微生物と呼ばれる一連の微生物群が知られている。近年、膨大な量の C1 化合物が植物か ら放出されること、植物表層には C1 微生物が優占的に棲息していることが明らかになり、C1 微生物-植物間の相互作用が、地球規模での炭素循環(メタンサイクル)において極めて重要な役割を担って いることが明らかになってきた。本稿では、植物から放出される C1 化合物の固定と植物による CO₂ 固定に影響を及ぼす C1 微生物-植物間相互作用について、筆者らの最近の知見を含めて紹介する。

1. はじめに

炭素-炭素結合を持たない C1 化合物のうち、最も酸 化された状態の CO₂と、最も還元された状態のメタン (CH₄)は、二大温室効果ガスであり、共にその大気 中濃度は近年も上昇し続けている。メタン-CO2間の地 球規模での大規模な炭素循環であるメタンサイクル で、メタンから CO2への酸化過程を担うのが、還元型 C1 化合物を単一の炭素源、エネルギー源として利用で きる C1 微生物であり、地球環境の維持において極め て重要な役割を果たしている。C1 微生物は、C1 化合 物が存在する様々な環境中に棲息しているが、近年、 膨大な量のメタンやメタノールが植物から直接放出 されることが明らかにされ、C1 微生物の生息環境とし て植物表層が注目されてきた¹⁻⁴⁾。C1 微生物の中でも、 Methylobacterium 属に代表されるメタノール資化性細 菌は、植物に対する生長促進効果をもたらす相利共生 菌として、植物表層で優占化していることが知られる ようになり、C1 微生物は、メタンから CO₂ への酸化 過程だけでなく、植物光合成による CO2 固定において も、重要な役割を果たしていると考えられるようにな ってきた。本稿では、近年明らかにされてきた植物表 層 C1 微生物の生存戦略と植物生長促進に関わる細胞 生理機能について概説する。

2.C1 微生物の C1 化合物代謝

C1 微生物は、その炭素源の利用性から、メタンを利 用するメタン資化性菌(メタン酸化菌、メタノトロー フ)と、メタノールを利用するメタノール資化性菌に 分けることができる。メタン資化性菌はその多くが偏 性メタノトローフ、すなわちメタン(あるいはメタノ ール)などの C1 化合物しか炭素源として利用できな い。一方、メタノール資化性菌には、細菌と酵母が存 在し、 糖や有機酸などの C1 化合物以外の化合物も炭 素源として利用できる通性メチロトローフがほとん どである。

C1 微生物による C1 化合物の代謝は、関与する酵素 に多少の違いはあるものの、基本的な代謝経路は共通 している(図1)。メタン資化性細菌はメタンからメタ ノールへの酸化を担う酵素として、メタンモノオキシ ゲナーゼ(MMO)を持っている。これに続くメタノ ールの酸化は、細菌と酵母で関与する酵素反応が異な り、細菌ではデヒドロゲナーゼ反応、酵母ではオキシ ダーゼ反応である。メタノール酸化で生じたホルムア ルデヒドは、エネルギーを得るための酸化経路(ギ酸 を経て CO2まで酸化される)と細胞構成成分を得るた めの資化経路の分岐点に位置する重要な代謝中間体 である。

^{*}解説特集「光合成の多様な世界について」

^{*}連絡先 E-mail: ysakai@kais.kyoto-u.ac.jp

3. 植物から放出される C1 化 合物と C1 微生物

植物からは様々な揮発性有機化合物(VOC)が放出されている。その中でもメタノールは地球上で推定、年間1億トンが植物から放出されている⁵⁾。植物からのメタノール放出 に関する最初の報告は、1995年の Nemecek-Marshall らによる葉からのメタノール放出である¹⁾。これは、 葉を密閉ガラス容器に内に置き、一 定時間後の気相中のメタノール濃度

を測定したものである。植物から放出されるメタノー ルの主な起源は、植物細胞壁の主要構成成分であるペ クチンに含まれるメチルエステルであり、植物細胞の 分裂・増殖時にペクチンメチルエステラーゼの作用に よって加水分解され、メタノールが遊離する。植物か らのメタノール放出と気孔開度との相関関係から、メ タノールが気孔から直接放出されると考えられてき た。しかし、植物表層(特に葉面)に棲息する微生物 が気相中のメタノールを直接利用するとは考えにく く、微生物が利用可能なメタノールが葉面にどの程度 の濃度で存在するのかは不明であった。そこで、筆者 らはメタノール資化性酵母のメタノール誘導性遺伝 子のプロモーター支配下に蛍光タンパク質を発現す る「メタノールセンサー細胞」を構築してこれをシロ イヌナズナの葉面に接種し、葉面でこの酵母が直接感 知しているメタノール濃度を可視化、定量する技術の 開発に成功した⁶。その結果、発芽後2-3週間の若い シロイヌナズナ葉上では、メタノールは、昼間はほと んど検知されず、夜には25 mM 程度と高濃度存在し、 昼夜で大きく日周変動していることがわかった。一方、 老化した葉では、さらに高濃度(数百 mM 相当)のメ タノールが、昼夜変動なく存在した。これらの結果は、 従来の測定法により得られた結果とは異なり、気孔か ら放出されるメタノールとは別に、植物表面に浸出し てきたメタノールを葉面 C1 微生物が利用していると 考えられる。夜間に葉面メタノール濃度が高くなる理 由としては、気孔が閉じる夜間にメタノールが蒸散さ れず、植物体内に蓄積したメタノールが植物表層に浸 出するという可能性がある。

一方、メタンに関しては、生きている植物から直接、



図 1.C1 微生物における C1 代謝の概要

放出されていることが2006年に報告されたが²⁾、メタ ンの由来や生成する機構、また年間6000万トン~2億 4000万トンとも見積もられる放出量についての議論 が続いており、その放出メカニズムについては不明な 点が多い。しかし、植物表層にはメタンを利用するメ タン資化性細菌が棲息しており、特にメタンの主要発 生源の一つである水田や湖沼などの水圏に棲息する 水生植物はメタン資化性細菌のニッチとなって重要 なメタンシンクの一つであることを筆者らは明らか にしている^{7,8)}。

4. 葉面優占種としての Methylobacterium 属細菌

葉面に棲息する微生物について、植物病原菌に関す る研究は古くから行われており、非病原菌も含めて、 どのような微生物種が、どの程度葉面に棲息するかに ついて、集積培養などの手法により研究されてきた。 近年では、環境試料から直接 DNA を抽出してその配 列を決定する非培養法による微生物群集解析手法が 確立され、様々な植物表層に棲息する微生物種とその 分布が決定されている。植物種によってその構成は異 なるものの、どのような植物にも共通して多く存在す る細菌のひとつに Methylobacterium 属細菌があり、多 いものでは葉上の総細菌数の数%~数十%を占めるこ とが知られている^{3.9}。

Methylobacterium 属細菌は、カロテノイド色素を合成してコロニーがピンク色を呈するため、 pink-pigmented facultative methylotroph (PPFM) とも呼ばれる。 α -プロテオバクテリアに属するグラム陰性細菌であり、メタノールやメチルアミンなどの C1 化合物の他、コハク酸などの有機酸を含む様々な化合物を



図 2. Methylobacterium 属細菌と植物間の相互作用メカニズム

図中の略語表記は本文の通り。

炭素源として生育可能な通性メチロトローフ細菌で ある。自然界には土壌、水圏、植物圏に広く棲息し、 植物には表在性菌あるいは内生菌として様々な植物 に共生している。

植物表層に棲息する微生物群集の構成に影響を与 える要因としては、植物の種や器官、栽培する土壌や 地理、気候などが挙げられるが、中でも、植物の種と 地理的要因による影響が大きいという研究結果が報 告されている¹⁰⁾。一方、筆者らは、優占種とし葉面に 存在する Methylobacterium 属細菌については、種レベ ルでの特異性が、植物種との間にあることを最近明ら かにした^{11,12)}。100 m²程度の小さな同一圃場で同時期 に栽培した種々の蔬菜葉面から Methylobacterium 属細 菌を分離し、分離菌株の16S rRNA 遺伝子配列による 系統解析を行ったところ、蔬菜の種類によって Methylobacterium 属細菌の菌数や種が異なること、特 にシソ葉においては葉面微生物の約15%に達するほど 優占化することを見出した。さらに、日本各地で栽培 したアカシソの葉および種子から分離した Methylobacterium 属細菌のほとんどが M. fujisawaense であったという結果は、植物と Methylobacterium 属細 菌の間に種レベルでの特異性があり、その特異性は地 理的要因に左右されないことを示している。

Methylobacterium 属細菌が葉面に優占的に棲息する ために必要な代謝機能のひとつに、メタノール代謝が 挙げられる。Methylobacterium 属細菌の中でモデル菌 株として位置づけられている M. extorquens AM1 株で は、メタノール代謝の初発反応を触媒するメタノール デヒドロゲナーゼの遺伝子 (mxaF) 破壊株の植物上で の生育が野生株より弱まっていることが報告された ¹³⁾。このことから、AM1 株の植物表層での生育にはメ タノール資化能が関与しており、植物から放出される メタノールを炭素源として利用していることを示す と同時に、メタノール以外の炭素源も同時に利用して いることがわかる。この他にもストレス応答に関わる 転写制御因子 PhyR など、植物表層での定着、増殖に 重要な役割を果たす因子の同定が進められている¹⁴⁾。 一方、植物が Methylobacterium 属細菌から享受するメ リットとしては、Methylobacterium 属細菌が生産する 植物ホルモンやその他の化合物による生長促進効果 や、重金属、その他の毒性化合物の除去によるストレ ス緩和が挙げられる。その詳細なメカニズムについて は、未解明な点が多く残されているが、植物生長促進 に関わる因子についてこれまでに明らかとなってい る知見を以下に紹介する(図2)。

5. *Methylobacterium* 属細菌による植物生長促進

5.1. Methylobacterium 属細菌が生産する植物ホルモン

Methylobacterium 属細菌による植物生長促進効果の 主要な要因は、本属細菌が生産する植物ホルモンであ ると考えられている。Methylobacterium 属細菌が、サ イトカイニンの一種であるゼアチンとオーキシンの 一種であるインドール酢酸(IAA)を合成することが 報告されている^{15,16)}。また近年明らかにされた様々な Methylobacterium 属細菌のゲノム解析から、これらの 植物ホルモンの合成を司る遺伝子も同定されている ¹⁷⁾。ゼアチンの合成に関わる miaA 遺伝子や、IAA の 合成に関わる一連の酵素遺伝子群がその例である。

また、Methylobacterium 属細菌自身はエチレンを合 成することはできないが、植物のエチレン合成に影響 を与えている¹⁸⁾。植物細胞内では、エチレンは、S-ア デノシルメチオニン (SAM)から1-アミノシクロプロ パン1-カルボン酸 (ACC)を経て合成されるが、この 合成過程で働くACC合成酵素が、Methylobacterium 属 細菌が生産する IAA によって活性化される。一方、 Methylobacterium 属細菌は、ACC デアミナーゼをコー ドする acdS 遺伝子をもち¹⁷⁾、ACC をα-ケトグルタル 酸とアンモニアに変換することで、植物に由来する ACC を窒素源として利用している可能性が示唆され ている。さらに、エチレンの前駆体である ACC を分 解することによって、エチレンのレベルを低下させ、 植物の生長を促進していると考えられる。

5.2. 栄養減の取り込みを促進する化合物

植物ホルモン生産の他に、Methylobacterium 属細菌 が植物生長促進効果をもたらす因子として、植物の栄 養源の取り込みを促進する化合物がある。例えばシデ ロフォアは、鉄との親和性が高く、鉄を可溶化してそ の吸収を促進する。鉄は好気的な環境では不溶性の Fe³⁺として存在し、生物が取り込みにくい。 Methylobacterium 属細菌は自身の鉄取り込みのために、 シデロフォアを生産しているが、結果的にシデロフォ アで可溶化された鉄が植物にも取り込まれることに なる¹⁹⁻²⁰。

リンもまた重要な栄養源であるが、土壌中ではその ほとんどが植物が取り込めない難溶性の形態で存在 する。土壌中にはこれらの難溶性リンを可溶化する微 生物が存在するが、*Methylobacterium* 属細菌も無機リ ン酸やフィチン酸などの有機態リン酸を可溶化する ことができる²¹⁾。*M. oryzae* は、有機態リン酸のリン酸 への分解を触媒する酵素、酸性ホスファターゼ、フィ ターゼ、C-P リアーゼを持つことが報告されている¹⁷⁾。

植物の生長に最も重要な栄養素である窒素につい ても、Methylobacterium 属細菌が関与することが明ら かにされている。特に大気中の窒素(N₂)からアンモ ニアへの還元は、原核微生物がもつニトロゲナーゼに より触媒されるが、Methylobacterium 属細菌の中にも ニトロゲナーゼを持ち、根粒を形成することができる 種が存在する。M. nodulans は、ニトロゲナーゼをコー ドする nifH 遺伝子や、根粒形成に関わる nodA 遺伝子 を持つ²²⁾。*M. nodulans* は、他の根粒菌が利用できる炭 素源(光合成産物である糖類)に加えてメタノールも 利用できることから、根粒中での生育に有利だと考え られる。また、メタノール資化能を失った M. nodulans 変異株を接種すると、根粒の数が減少し、植物体の乾 燥重量が低下することも報告されている²³⁾。この他、 ウレアーゼ産生による尿素からアンモニア態窒素へ の変換も、Methylobacterium 属細菌が植物の窒素源利 用に影響を与える因子の一つである¹⁷⁾。

5.3. その他の化合物

Methylobacterium 属細菌が生産するピロロキノリン キノン (PQQ) も、植物生長促進に関わる化合物であ る。PQQ は、メタノールデヒドロゲナーゼの補酵素で あり、Methylobacterium 属細菌では著量合成され、培 地中にも分泌される。PQQ は過酸化水素やその他の活 性酸素種の除去に関わる抗酸化物質として機能する 可能性が、別の植物生長促進細菌 (Pseudomonas fluorescens) を用いて明らかにされている²⁴⁾。また、 Methylobacterium 属細菌が生産するビタミン B_{12} にも 植物生長促進効果が認められている²⁵⁾。

5.4. 植物病原菌の感染阻害

最近の生物間相互作用に関する研究により、特に植物内生菌が、植物病原菌に対する抵抗性を増加させる ことが明らかになり、Methylobacterium 属細菌にも同様の効果をもつものがある。Methylobacterium 属細菌 を含む植物内生菌は、幅広い抗菌スペクトルを示す化 合物を生産することができる他、植物病原菌と栄養源 を競合的に奪い合うことでその増殖を抑えたり、植物 の全身誘導抵抗性(Induced Systemic Resistance; ISR) を誘導する化合物を生産したりすることにより、植物 病原菌の感染を阻害すると考えられている。例えば、 ある種の Methylobacterium 属細菌をジャガイモに接種



することで、植物の抗酸化システムが増強され、病原 抵抗性が高まることが知られている²⁶⁾。

6.C1 微生物代謝とカルビンサイクルの融合

Methylobacterium 属細菌による植物生長促進は、上 で述べたような生物間相互作用を通して、植物の CO₂ 固定能が直接的あるいは間接的に高められた結果で ある。同時に、植物から放出された C1 化合物も Methylobacterium 属細菌などの葉面 C1 微生物によって 固定されており、「C1 微生物-植物共生系による C1 炭 素固定」が成り立っている。筆者らは、C1 微生物-植 物共生系ではなく、C1 微生物代謝と植物のカルビンサ イクルを融合させた遺伝子組換え植物を創製し、植物 に C1 炭素固定能を付与することに成功した²⁷⁾。

図1でも示されているように、C1 微生物のC1 化合物代謝では、細胞毒性が極めて高いホルムアルデヒドが重要な代謝中間体であることが特徴である。ホルムアルデヒドはシックハウス症候群の原因物質の一つであり、植物から放出される VOC の一つでもある。 C1 微生物は、ホルムアルデヒドを固定して自らの細胞構成成分を合成するが、C1 微生物のホルムアルデヒドを固定して自らの細胞構成成分を合成するが、C1 微生物のホルムアルデヒド 固定経路の一つであるリブロースモノリン酸(RuMP) 経路は、植物のカルビンサイクルと共通の糖リン酸化 合物を代謝中間体とする。RuMP 経路において、ホルムアルデヒドはリブロース 5-リン酸(Ru5P)とアル ドール縮合して D-アラビノ-3-ヘキスロース 6-リン酸 を生成し、これが異性化されてフルクトース 6-リン酸



Hu6P, hexulose 6-phosphate; F6P, fructose 6-phosphate; R5P, ribose 5-phosphate; RuBP, Ribulose 1,5-bisphospate; 3-PGA, 3-phosphoglycerate; FBP, fructose 1,6-bisphosphate.

(F6P)になる。この2段階の反応は、3-ヘキスロース -6-リン酸シンターゼ(HPS)と6-ホスホ-3-ヘキスロイ ソメラーゼ(PHI)によって触媒される(図3)。本経 路の特徴として、経路全体のエネルギー収支が発エル ゴン的であり、NAD⁺やグルタチオンなどの補酵素や 低分子化合物を必要としないことが挙げられる。また ホルムアルデヒド固定の基質である Ru5Pと生成物で ある F6P、これらの変換に必要な糖リン酸変換系はほ ぼすべての生物に存在することから、RuMP経路を持 たない生物にHPSとPHIを導入するだけで、RuMP経 路を構築することができ、ホルムアルデヒド資化能あ るいは耐性を異種生物に持たせることができる。

RuMP 経路とカルビン回路とは多くの代謝中間体を 共有することから、筆者らは植物に HPS, PHI を導入し て、植物葉緑体内で RuMP 経路を構築し、カルビン回 路をバイパスしてホルムアルデヒドを固定できる代 謝を設計した (図 3)。メタノール資化性細菌 Mycobacterium gastri MB19 由来の hps, phi 遺伝子に葉 緑体移行シグナルを付加した遺伝子を、シロイヌナズ ナとタバコに導入したところ、形質転換体植物ではホ ルムアルデヒド耐性・吸収能が増強された。さらに、 形質転換作業の簡略化と触媒機能向上が認められた hps-phi 人工融合遺伝子を観葉植物であるゼラニウム で発現させたところ、同様の効果が認められた²⁸⁾。こ のような形質転換植物の創成は、植物の C1 炭素固定 能の増強とともに、シックハウスの原因となるホルム アルデヒドの室内環境中からの除去に有効な技術と しても期待される。

7. おわりに

地球上の植物の葉の表面積は、表裏あわせて 10⁹ km² という試算があり、これは地球の表面積の 2 倍に匹敵 する。葉面の平均的な微生物数を 10⁶~10⁷ cells/cm² と すると、地球上の葉圏の総菌数は最大約 10²⁶ cells とい う膨大な数に達する ³⁾。それにもかかわらず、葉圏は 微生物の棲息環境として永年看過され、植物病原菌に 関する研究以外はほとんどなされてこなかった。しか し、葉からメタンやメタノールが放出されていること が報告され、葉面微生物の優占種である *Methylobacterium* 属細菌を代表とする C1 微生物の生息 環境としての葉圏が、注目されるようになり、さらに 次世代シーケンサーやその他の解析技術の進歩も相 まって、葉圏微生物コミュニティーの生理・生態の解 明に関する研究が、現在精力的に進められている。

C1 微生物-植物共生系において、C1 微生物の細胞生 理機能や植物生長促進のメカニズムについては、本稿 で述べたような事実が明らかになってきたが、貧栄養、 乾燥、UV、活性酸素種など様々なストレスに曝される 過酷な環境である葉面に C1 微生物がどのように適応 して生存しているか、C1 微生物が葉面に棲息すること で、植物細胞生理や光合成活性にどのように作用する かについては、まだまだ解明すべき課題が多い。これ らの課題を解明することは、地球規模での炭素循環の 収支やメカニズムの解明、温暖化ガス排出削減のため の技術開発だけでなく、C1 微生物による植物生長促進 能を活用したバイオマス増産技術の開発にもつなが るものと期待される。

Received June 15, 2015; Accepted June 17, 2015; Published August 31, 2015

参考文献

- Nemecek-Marshall, M., MacDonald, R.C., Franzen, J.J., Wojciechowski, C.L. and Fall, R. (1995) Methanol emission from leaves. *Plant Physiol.* 108, 1359–1368.
- Keppler, F, Hamilton, J.T.G., Brass, M. and Rockmann, T. (2006) Methane emissions from terrestrial plants under aerobic conditions. *Nature* 439,

187-191.

- Vorholt, J.A. (2012) Microbial life in the phyllosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* 10, 828–840.
- Iguchi, H., Yurimoto, H. and Sakai, Y. (2015) Interactions of methylotrophs with plants and other heterotrophic bacteria. *Microorganisms* 3, 137–151.
- Laothawornkitkul J., Taylor J.E., Paul N.D. and Hewitt C.N. (2009) Biogenic volatile organic compounds in the Earth system. *New Phytol.* 183, 27–51.
- Kawaguchi K., Yurimoto H., Oku M. and Sakai Y. (2011) Yeast methylotrophy and autophagy in a methanol-oscillating environment on growing *Arabidopsis thaliana* leaves. *PLoS ONE* 6, e25257.
- Iguchi, H., Sato, I., Sakakibara, M., Yurimoto, H. and Sakai, Y. (2012) Distribution of methanotrophs in the phyllosphere. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 76, 1580– 1583.
- Yoshida, N, Iguchi, H., Yurimoto, H., Murakami, A. and Sakai, Y., (2014) Aquatic plant surface as a niche for methanotrophs. *Front. Microbiol.* 5, 30.
- Knief, C., Frances, L., Cantet, F. and Vorholt, J.A., (2008) Cultivation-independent characterization of *Methylobacterium* populations in the plant phyllosphere by automated ribosomal intergenic spacer analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 2218– 2228.
- Knief, C., Ramette, A., Frances, L., Alonso-Blanco, C. and Vorholt, J.A., (2010) Site and plant species are important determinants of the *Methylobacterium* community composition in the plant phyllosphere. *ISME J.* 4, 719–728.
- Mizuno, M., Yurimoto, H., Yoshida, N., Iguchi, H. and Sakai, Y. (2012) Distribution of pink-pigmented facultative methylotrophs on leaves of vegetables. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 76, 578–580.
- Mizuno, M., Yurimoto, H., Iguchi, H., Tani, A. and Sakai, Y. (2013) Dominant colonization and inheritance of *Methylobacterium* sp. strain OR01 on perilla plants. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 77, 1533– 1538.
- 13. Sy, A., Timmers, A.C., Knief, C. and Vorholt, J.A.

(2005) Methylotrophic metabolism is advantageous for *Methylobacterium extorquens* during colonization of *Medicago truncatula* under competitive conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 7245–7252.

- Gourion, B., Rossignol, M. and Vorholt, J.A. (2006) A proteomic study of *Methylobacterium extorquens* reveals a response regulator essential for epiphytic growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 13186– 13191.
- Koenig, R.L., Morris, R.O. and Polacco, J.C. (2002) tRNA is the source of low-level trans-Zeatin production in *Methylobacterium* spp. *J. Bacteriol.* 184, 1832–1842.
- Omer, Z.S., Tombolini, R., Broberg, A. and Gerhardson, B. (2004) Indole-3-acetic acid production by pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria. *Plant Growth Regul.* 43, 93– 96.
- Kwak, M.J., Jeong, H., Madhaiyan, M., Lee, Y., Sa, T.M., Oh, T.K. and Kim, J.F. (2014) Genome information of *Methylobacterium oryzae*, a plant-probiotic methylotroph in the phyllosphere. *PLoS ONE* 9, e106704.
- Hardoim, P.R., van Overbeek, L.S. and Elsas, J.D. (2008) Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol.* 16, 463–471.
- Bar-Ness, E., Hadar, Y., Chen, Y., Shanzer, A. and Libman, J. (1992) Iron uptake by plants from microbial siderophores : a study with 7-nitrobenz-2 oxa-1,3-diazole-desferrioxamine as fluorescent ferrioxamine B analog. *Plant Physiol.* 99, 1329– 1335.
- Tani, A., Sahin, N., Matsuyama, Y., Enomoto T, Nishimura, N., Yokota, A. and Kimbara, K. (2012) High-throughput identification and screening of novel *Methylobacterium* species using whole-cell MALDI-TOF/MS analysis. *PLoS ONE* 7, e40784.
- Agafonova, N.V., Kaparullina, E.N., Doronina, N.V. and Trotsenko, Y.A. (2013) Phosphate-solubilizing activity of aerobic Methylobacteria. *Microbiol.* 82, 864–867.

- Jourand, P., Giraud, E., Béna, G., Sy, A., Willems, A., Gillis, M., Dreyfus, B. and de Lajudie, P. (2004) *Methylobacterium nodulans* sp. nov., for a group of aerobic, facultatively methylotrophic, legume root-nodule-forming and nitrogen-fixing bacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54, 2269–2273.
- Jourand, P., Renier, A., Rapior, S., Miana de Faria, S., Prin, Y., Galiana, A., Giraud, E. and Dreyfus, B. (2005) Role of methylotrophy during symbiosis between *Methylobacterium nodulans* and *Crotalaria podocarpa*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 18, 1061– 1068.
- Choi, O., Kim, J., Kim, J.G., Jeong, Y., Moon, J.S., Park, C.S. and Hwang, I. (2008) Pyrroloquinoline quinone is a plant growth promotion factor produced by *Pseudomonas fluorescens* B16. *Plant Physiol.* 146, 657–668.
- Abanda-Nkpwatt, D., Müsch, M., Tschiersch, J., Boettner, M. and Schwab, W. (2006) Molecular interaction between *Methylobacterium extorquens* and seedlings: growth promotion, methanol consumption, and localization of the methanol emission site. *J. Exp. Bot.* 57, 4025–4032.
- Ardanov, P., Sessitsch, A., Häggman, H., Kozyrovska, N. and Pirttilä, A.M. (2012) *Methylobacterium*-induced endophyte community changes correspond with protection of plants against pathogen attack. *PLoS ONE* 7, e46802.
- Chen, L., Yurimoto, H., Li, K., Orita, I., Akita, M., Kato, N., Sakai, Y. and Izui, K. (2010) Assimilation of formaldehyde in transgenic plants due to the introduction of the bacterial ribulose monophosphate pathway genes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74, 627–635.
- Song, Z., Orita, I., Yin, F., Yurimoto, H., Kato, N., Sakai, Y., Izui, K., Li, K. and Chen, L. (2010) Overexpression of an HPS/PHI fusion enzyme from *Mycobacterium gastri* in chloroplasts of geranium enhances its ability to assimilate and phytoremediate formaldehyde. *Biotechnol. Lett.* 32, 1541–1548.

C1-Carbon Fixation and Plant Growth Promotion Through Symbiotic Interactions between C1-Microorganisms and Plants

Hiroya Yurimoto and Yasuyoshi Sakai*

Graduate School of Agriculture, Kyoto University

サンゴ共生藻における集光アンテナ複合体[‡]

東北大学 大学院生命科学研究科 生物多様性進化分野 丸山 真一朗*

陸上植物とは対極的に、海洋や淡水などの水圏で繁栄を遂げた藻類の中には、進化の末に動物との細胞内共生という独自の生態系を築き上げたものも知られている。サンゴやイソギンチャクなど刺胞動物と共生関係を営む褐虫藻(Symbiodinium spp.)と呼ばれる渦鞭毛藻もその一例である。だが、なぜ褐虫藻が、他の多くの藻類が成し得なかった動物との共生を実現できたのかは、よく分かっていない。本稿では、この褐虫藻を光合成、特に集光に関わるアンテナ装置の制御という観点から見たときに立ち現れる諸問題を、先行研究と筆者の携わった最近の研究から概観し、今後の共生光合成研究に活かす方向性を模索する。

1. 褐虫藻と光合成

渦鞭毛藻は厄介な生き物である。もちろん、海洋に おいて毒素を生産したり赤潮の原因になったりする という生態学的な意味もあるが、ここで言いたいのは モデル生物として実験系を確立する難しさのことで ある。単細胞藻類であるにもかかわらず、ゲノムサイ ズが小さな種でもヒトゲノムと同程度、教科書的な染 色体構造も持たず、ゲノム中に遺伝子重複の産物であ る膨大な相同遺伝子が存在し、遺伝子発現制御もトラ ンススプライシングを介した複雑なシステムを持つ ことで知られる¹⁾。これだけ聞いてポキっと心が折れ るか、かえって興味をそそられるかは研究者の中でも 意見の別れるところではないだろうか。あくまで私見 だが、こんな厄介な藻類の全ゲノム解読なんてとても とても、という雰囲気が漂っていた中、日本の研究チ ームが中心となって発表した褐虫藻のドラフトゲノ ム配列には、その分野の研究者にとっては計り知れな いインパクトがあったものと思われる²⁾。

褐虫藻という生物もまた厄介である。広義の「褐虫 藻」を動物と共生するいくつかの異なる系統の渦鞭毛 藻を含む総称(英語の zooxanthella に対応)とする場 合もあるが、本稿では狭義に Symbiodinium 属を指すこ ととする。比較的ゲノムが小さい(と言ってもヒトゲ

ノムに匹敵する)褐虫藻は、渦鞭毛藻類全体にとって のモデル生物となるだけでなく、刺胞動物の内胚葉細 胞内に共生するという特異な性質から共生生態系の モデルとしても期待が高まっている³⁾。しかし一方で、 光合成という観点から見た場合にはまだまだ謎が多 い。褐虫藻を含む渦鞭毛藻類は紅藻が祖先宿主に細胞 内共生することで進化した二次共生色素体を持つが、 緑色植物やシアノバクテリアなど研究が先行する生 物に比べ、紅藻系二次共生藻類は、もっと言えば紅藻 自体の光合成研究も、大きく遅れをとっていると言わ ざるを得ない⁴⁾。また、刺胞動物と褐虫藻との共生関 係は、褐虫藻の作り出す光合成産物を宿主の刺胞動物 が受け取る代わりに窒素源などの養分を供給する「相 利共生」の典型というイメージがあるが⁵⁾、実験デー タに基づく証拠は実はそれほど多くはなく、先行研究 からの推測や想像で補われている部分が無視できな W.

先行研究では、EST (Expressed sequence tag)やトラン スクリプトーム解析によって褐虫藻遺伝子のリスト を得るプロジェクトが精力的に進められ、そしてドラ フトゲノム解読によって大局的な地図は既に得られ ている³⁾。それでも尚、膨大な遺伝子のリストと光合 成機能とを結びつけるためには、ゲノム科学、生化学、 生理学など様々な観点からの研究がまだまだ不足し ている。理由の一つは、多くの遺伝子ファミリーで遺 伝子重複により増加した遺伝子のうち、どれがどのよ

^{*}解説特集「光合成の多様な世界について」

^{*}連絡先 E-mail: smaruyama@m.tohoku.ac.jp

うな働きを持つのか、一つ一つ照合していく難しさだ と言える。これは他の殆どの光合成生物にも当てはま るのだが、遺伝子が四、五個あるのと百個あるのとで は研究計画の時点で考えるべきことが大きく異なっ てくる。別の理由としては、褐虫藻がサンゴの共生藻 である以上、どうしても動物体内に共生している状態 の光合成のことが気になるのだが、光合成研究者が無 脊椎動物を実際に取り扱うということについての心 理的な、あるいは技術的な壁が、思いのほか厚いとい うことが言えるのではないだろうか。

光合成研究のみならず、生物学の目的が普遍性と多 様性の解明にあるのだとすれば、サンゴ共生藻である 褐虫藻を用いることで、後者の追究に向けた歩みがま さに始まったような段階にある。多様性の粋とも言え る共生光合成系を理解するために、まず何から始めた ら良いのだろうか。以下では、光合成アンテナ装置の 進化や機能制御を中心に、その一端について議論して みたい。

2. 褐虫藻とアンテナ

集光アンテナ複合体(light-harvesting complex [LHC]) は、葉緑体進化の過程で真核光合成生物が「発明」し た集光タンパク質として知られる⁶。遺伝子発現レベ ルの高さなどから、多くの系統において遺伝子配列が 解読されているが、機能的な面からの研究は緑色植物 に殆ど限られてしまっている。配列の保存性の高さか ら、おそらく集光という共通の機能を持つことが予想 されているが、遺伝子重複により多重化したパラログ 群の中にユニークな機能を持つ遺伝子があったとし ても、驚くには値しないだろう。

特に褐虫藻のアンテナ複合体遺伝子の配列がトラ ンスクリプトームレベルで報告された際も、「超多様 化」した遺伝子ファミリーとして驚きを以って迎えら れた⁷⁾。それに続くゲノム配列解読からも、単一のゲ ノムが膨大の数の LHC 遺伝子を持つことが浮かび上 がってきた^{2,8)}。そして次なる疑問は当然「これほど多 くの LHC 遺伝子がどのように機能を分担あるいは協 働しているのだろうか?」というものであった。

先に答えを言ってしまえば、渦鞭毛藻の LHC の機 能は不明である。未だに遺伝子破壊やノックダウン技 術が確立しておらず、遺伝子ごとの解析が難しいとい うのが現状だ。しかし、そもそも他の紅藻や二次共生 藻類でも LHC の遺伝子は数多く同定されているが、 その機能は推測にすぎないものが殆どである。そこで、 まずは遺伝子ごとの系統関係を整理し、それらの進化 過程を明らかにする研究が進んだ⁴⁾。

これまで知られている全ての LHC 遺伝子を網羅す るような分子系統学的解析が行われた結果、「なんだ か遺伝子がたくさんある」という混沌から「これくら いの系統的な、そしておそらく機能的な単位がありそ うだ」という状態へと知識が整理され、祖先的なクロ ロフィル結合タンパク質から多様な LHC が進化して いく過程が描かれるようになった⁶。ここに、さらに 膨大な数の褐虫藻 LHC 遺伝子が加えられることとな り、褐虫藻を含め、謎の多い渦鞭毛藻類のアンテナ装 置の進化についての理解が進むものと期待された。

そもそも、渦鞭毛藻は peridinin-chlorophyll *a* protein (PCP) と呼ばれる独自の水溶性アンテナタンパク質も 持つことが知られており、いわば「特異性」に関する 多くの先行研究が行われてきたが⁹⁻¹¹⁾、次世代シーク エンシングの時代を迎え、他の生物に広く保存された LHC ファミリー (渦鞭毛藻では chlorophyll *a*chlorophyll *c*2-peridinin-protein complex [acpPC]とも呼 ばれる) という「普遍性」とその「多様性」にも注目 が集まるようになってきた。

3. アンテナ遺伝子の進化

Maruyama et al.では、ドラフトゲノム情報から LHC 遺伝子を全て抽出し、「超多様化」していると言われ た LHC 遺伝子ファミリー全体を分子系統学的に整理 し、分類を行った¹²⁾。褐虫藻では、そしておそらく殆 どの渦鞭毛藻類でも、染色体上でポリプロテインとし てコードされている LHC は翻訳後に切断され、単一 のタンパク質として機能することが知られているた め、まずそれぞれの機能タンパク質がどのような系統 関係にあり、次にそれらが染色体上でどのような位置 関係に並んでいるかを調べた。その結果、まず紅藻の 祖先から受け継がれた LHC (ここでは LHCR と呼ぶ) の遺伝子ファミリーと、二次共生藻類のみに保存され ている LHC (ここでは LHCF) の遺伝子ファミリーの 二つに大別できることが示された(図1)。ここで注目 すべきは、膨大な数に上る褐虫藻 LHC 遺伝子の中で、 遺伝子重複により増大したのは実は LHCF のうちごく 一部のサブファミリーのみであり、他の LHCF、

光合成研究 25 (2) 2015



図1. 褐虫藻S. minutumと 近縁藻類のLHCタンパ ク質系統樹

LHCFサブファミリーの一 群で極端な重複が起こっ ている。枝上の数値はSH 様支持率。SmはS. *minutum、*C3は *Symbiodinium* sp. C3を示 す。Maruyama et al.¹²⁾より 改変。



図2.S. minutumの染色体 上でのLHC遺伝子構造 各遺伝子座位(Locus ID) は様々な系統的由来を持 つ各タンパク質ユニット がタンデムに重複したポ リプロテインをコードし (A)、特にF1サブファミ リーを含む座位をさらに 詳細に見ると、系統関係が モザイク状に入り組んだ 遺伝子構造を成している ことがわかる (B)。星印は 異なるファミリー (LHCF とLHCR) の融合した遺伝 子、「0」はどのグループ にも属さないユニットを 示す。Maruyama et al.¹²⁾よ り改変。



図3. 褐虫藻におけるLHC遺伝子の進化モデル 遺伝子内および遺伝子間重複が繰り返し起きることで、 現在のような多様なゲノム構造が進化してきたと考えら れる。Maruyama et al.¹²⁾より改変。

および LHCR に分類される遺伝子は、それぞれのサブ ファミリーが複数の遺伝子を持つとはいえ、重複度合 いは低く、遺伝子数としては他の藻類と大差はないこ とであった。つまり、褐虫藻 LHC の「超多様化」は 複雑怪奇な泥沼迷宮ではなく、一部のサブファミリー メンバーの多重化という特徴に絞って考えることが できるかもしれないのだ。

次に、それらの遺伝子の染色体座位間の位置関係を ゲノム情報に基づいて再構成してみると、系統的に近 い遺伝子同士が近傍に並びポリプロテインを成して いることもあれば、異なるサブファミリーに属する遠 い系統の遺伝子同士が隣接しているケースもあるこ とが分かった(図2)。仮に、遺伝子重複が単一遺伝子 座位上でのみ起こるとすれば、ポリプロテインを構成 する遺伝子は比較的近い祖先的遺伝子から派生した よく似た遺伝子の集まりになるだろう。しかし、系統 的位置の異なる遺伝子がモザイク状に単一のポリプ ロテインを構成するということは、物理的に離れた座 位で遺伝子ファミリーが分化した後に一つの座位に 集まって、或いは異なるファミリーと染色体間で置き 換わることによってモザイク状遺伝子構造が生じた と考えられる。つまり一口に遺伝子重複と言っても、 前者は遺伝子「内」重複、後者は遺伝子「間」重複と 呼ぶことができるだろう(図3)。

現象論的には二つの異なる遺伝子重複過程により 現在の多様性が生まれたことが示されたが、それがど のように生じたのかという分子機構は未だよく分か



図4. Symbiodinium属のLHC遺伝子重複パターン比較 ポリプロテインを構成する遺伝子構の一部は、同一ゲノ ム内での異なる染色体座位、また別種株の遺伝子間でも 共通していることから、種分化以前の段階で既にゲノム 重複が確立していたと考えられる。SmはS. minutum、C3 はSymbiodinium sp. C3を示す。Maruyama et al.¹²⁾より改変。

らない。染色体の組換え、挿入、転移ないし遺伝子変 換など教科書的な染色体構造変化の蓄積の結果かも しれないし、渦鞭毛藻特有の機構によるのかもしれな い。一つの可能性として、Slamovits と Keeling により 提案された、mRNA の逆転写による遺伝子進化モデル が挙げられる¹³⁾。元々このモデルは渦鞭毛藻類のスプ ライスリーダー配列の進化について提案されたもの だが、LHC のあるファミリーに属する mRNA が逆転 写により別の遺伝子ファミリーの染色体領域近傍に ゲノム DNA として挿入されれば、現在見られるよう な重複遺伝子構造がうまく説明できる。いずれにせよ、 こうした現象論的なモデルの背後にある分子機構を 解明することも今後の重要な研究課題と言えるだろ う。また、「なぜポリプロテインなのか?」という問 いについても、未だ解はない。同一のポリプロテイン に含まれる遺伝子が同じような発現調節を受けてい るかどうかも、少なくともトランスクリプトームなど mRNA レベルでの解析からは明らかになっていない。 というのも、褐虫藻を異なる温度条件に置いても mRNA レベルには大きな変化が起こらないことから、 おそらく遺伝子発現には転写そのものよりも転写後 の調節の方が重要である可能性が高いと考えられる

からである^{12,14)}。褐虫藻の光合成研究の発展のために は、遺伝子情報と結び付いたタンパク質レベルでの解 析が渇望される。

これまで述べてきた遺伝子重複やそれに伴う染色 体構造変化は、一体「いつ」起こったのだろうか。褐 虫藻の分類は現在進行形で再検討されているが、現在 は少なくとも複数の「クレード」と呼ばれる種レベル に相当する分類単位が認識されうることが広く知ら れている。Shoguchi et al.の報告したクレードBに属す る Symbiodinium minutum の LHC 遺伝子²⁾と、Boldt et al. の報告したクレード C の褐虫藻由来の LHC 遺伝子 7) とを比較すると、いくつかの遺伝子座において、異な る系統的位置にある遺伝子がモザイク状に並んだポ リプロテイン構造が保存されていることが分かった (図 4)。このことは、複雑な LHC の遺伝子重複パタ ーンが、S. minutum の種分化以前、ともすると Symbiodinium 属が分化する以前には既に確立されてい たことを示している。褐虫藻の各クレードは、サンゴ など宿主刺胞動物について異なる選択性を持つこと が知られているが¹⁵⁾、LHCをはじめとする重複遺伝子 が基本的な構造進化を遂げた後に、各環境に適応する 形でクレード毎にファインチューニングとも言える 個別の進化を重ねていったのかもしれない。

4. 褐虫藻のアンテナ研究から共生光合成研 究へ

本稿では、ゲノム科学的視点からみた褐虫藻のアン テナ遺伝子の進化過程を概観した。今後必要となるの は、どの遺伝子がどのタンパク質の機能にどれくらい 貢献しているのか、という非常に基本的な問いに答え るための研究だろう。光化学 Iと II にどのような LHC タンパク質が含まれるのか、LHCR や LHCF などそれ ぞれの遺伝子ファミリーがどのような機能を担うの か、強光や高温などといったストレス環境において働 く LHC はあるのか、など、疑問は尽きない。もう一 つの方向は当然、共生状態にある褐虫藻が宿主動物細 胞からの刺激に対してどのように応答しているのか という共生生態についての理解を深めることだと言 える。それを聞いて「そんな基本的なことも分かって ないのか・・・」と呆れる向きもあるだろうが、「そ んな基本的なことも分かっていないのか!」と新たな 開拓の地平をそこに見出し胸を弾ませる人もいるか もしれない。筆者としては、後者の勢いが増していく ことを期待したい。実際、共生生態系というのは、生 物種一つとっても十分難解な複雑系だというのに、そ れが複数組み合わさった混沌そのものであり、分かっ た気になっていたものが実は良く分かっていなかっ たことを気付かせてくれる貴重なサンプルという気 がしてならない。

サンゴやイソギンチャクなどの刺胞動物を、褐虫藻 にとってのいわば「外部環境」と捉えるならば、藻類 と動物との共生系は、光合成研究者にとって何も特別 なものではないだろう。地球が一つの大きな共生系だ とすれば、すべての光合成生物は多かれ少なかれ他の 生物からの影響を相互に与え合う共生的な関係を持 たざるを得ないのだ。これまでの均一な理想系を基に した光合成研究から、ある程度の混沌を受け入れた 「共生光合成」の研究が発展していくことを願ってや まない。

謝辞

本稿の基となる研究を共に遂行して下さった基礎 生物学研究所の皆川純教授、沖縄科学技術大学院大学 の佐藤矩行教授、將口栄一博士に厚く御礼申し上げま す。また、光合成とゲノム進化学の融和を図るべく、 分野の新参者である筆者に格別のご配慮を以って研 究紹介と学会へ貢献の機会を与えて下さった基礎生 物学研究所の高橋俊一准教授に厚く御礼申し上げま す。

Received June 19, 2015; Accepted June 25, 2015; Published August 31, 2015

参考文献

- Wisecaver, J.H. and Hackett, J.D. (2011) Dinoflagellate genome evolution. *Annu. Rev. Microbiol.* 65, 369–387.
- Shoguchi, E., Shinzato, C., Kawashima, T., Gyoja, F., Mungpakdee, S., Koyanagi, R., Takeuchi, T., Hisata, K., Tanaka, M., Fujiwara, M., Hamada, M., Seidi, A., Fujie, M., Usami, T., Goto, H., Yamasaki, S., Arakaki, N., Suzuki, Y., Sugano, S., Toyoda, A., Kuroki, Y., Fujiyama, A., Medina, M., Coffroth, M.A., Bhattacharya, D. and Satoh, N. (2013) Draft

assembly of the *Symbiodinium minutum* nuclear genome reveals dinoflagellate gene structure. *Curr. Biol.* 23, 1399–1408.

- Shinzato, C., Mungpakdee, S., Satoh, N. and Shoguchi, E. (2014) A genomic approach to coral-dinoflagellate symbiosis: studies of *Acropora digitifera* and *Symbiodinium minutum*. *Front. Microbiol.* 5, 336.
- Hoffman, G.E., Puerta, M.V.S. and Delwiche, C.F. (2011) Evolution of light-harvesting complex proteins from Chl *c*-containing algae. *BMC Evol. Biol.* 11, 101.
- Davy, S.K., Allemand, D. and Weis, V.M. (2012) Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 76, 229–261.
- Engelken, J., Brinkmann, H. and Adamska, I. (2010) Taxonomic distribution and origins of the extended LHC (light-harvesting complex) antenna protein superfamily. *BMC Evol. Biol.* 10, 233.
- Boldt, L., Yellowlees, D. and Leggat, W. (2012) Hyperdiversity of genes encoding integral light-harvesting proteins in the dinoflagellate Symbiodinium sp. PLoS ONE 7, e47456.
- Mungpakdee, S., Shinzato, C., Takeuchi, T., Kawashima, T., Koyanagi, R., Hisata, K., Tanaka, M., Goto, H., Fujie, M., Lin, S., Satoh, N. and Shoguchi, E. (2014) Massive gene transfer and extensive RNA editing of a symbiotic dinoflagellate plastid genome. *Genome Biol. Evol.* 6, 1408–1422.
- Lohuis, ten, M.R. and Miller, D.J. (1998) Light-regulated transcription of genes encoding peridinin chlorophyll a proteins and the major

intrinsic light-harvesting complex proteins in the dinoflagellate *Amphidinium carterae* Hulburt (Dinophycae). *Plant Physiol.* 117, 189–196.

- Reynolds, J.M., Bruns, B.U., Fitt, W.K. and Schmidt, G.W. (2008) Enhanced photoprotection pathways in symbiotic dinoflagellates of shallow-water corals and other cnidarians. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 13674–13678.
- Kanazawa, A., Blanchard, G.J., Szabó, M., Ralph, P.J. and Kramer, D.M. (2014) The site of regulation of light capture in *Symbiodinium*: Does the peridinin-chlorophyll *a*-protein detach to regulate light capture? *Biochim. Biophys. Acta* 1837, 1227– 1234.
- Maruyama, S., Shoguchi, E., Satoh, N. and Minagawa, J. (2015) Diversification of the light-harvesting complex gene family via intra- and intergenic duplications in the coral symbiotic alga *Symbiodinium. PLoS ONE* 10, e0119406.
- Slamovits, C.H. and Keeling, P.J. (2008) Widespread recycling of processed cDNAs in dinoflagellates. *Curr. Biol.* 18, R550–2.
- Barshis, D.J., Ladner, J.T., Oliver, T.A. and Palumbi, S.R. (2014) Lineage-specific transcriptional profiles of *Symbiodinium* spp. unaltered by heat stress in a coral host. *Mol. Biol. Evol.* 31, 1343–1352.
- Baker, A.C. (2003) Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology, and biogeography of *Symbiodinium*. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 34, 661–689.

Light-Harvesting Complexes in Coral-Algal Symbiosis

Shinichiro Maruyama*

Division of Ecology and Evolutionary Biology, Department of Environmental Life Sciences, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

藻類の多様性を利用した光化学系研究[‡]

¹東京理科大学理学部²名古屋大学大学院理学研究科 辆 達也^{1,*} 山田 聖人¹ 清水 信介¹ 伊藤 道俊¹ 長尾 遼²

近年の急速なゲノム解析によって、生物の多様性は強く意識されるようになり、また多様性が地球環 境を支えていることが理解された。これまでの研究の多くはモデル生物を用いて行われてきたが、こ れからは多様性ある生物材料を用いることにより、生命反応の理解がより進み、次世代のためのエネ ルギーや環境問題の解決へとつながると期待される。本稿では数ある光合成の多様性の中からほんの 一部の光化学系を構成するタンパク質の研究だけを採りあげるに過ぎないが、進化を通じて得た多様 性を理解し、生理学、分子生物学、生物物理学だけでなく多方面の研究者が力を合わせて取り組んで 行くことにより、光合成全体を俯瞰する原理が明らかになると期待している。

1. はじめに

光合成の普遍的な機構を明らかにする上で種の多 様性は強力なツールになる。筆者(鞆)はこれまで光化 学系の研究を行ってきたが、大学院生の頃(1990年代 前半)は、もっぱらホウレンソウを実験材料として光 化学系Ⅱを単離・精製し実験を行ってきた。もっと昔 の話だと圃場で栽培したホウレンソウを実験材料と して使用していたらしいが、我々は楽をしてスーパー マーケットで購入していた。1986年にタバコ葉緑体の 全ゲノム配列が決定されていたが¹⁾、筆者らはスーパ ーマーケットで購入可能な簡便さには勝てなかった。 筆者が大学院生として基礎生物学研究所にいた頃、藤 田先生や村田先生が光合成藻類を使用していたのを 横目にしていたが、筆者はホウレンソウを実験材料と して使用していた。それは、当時の研究対象が佐藤先 生らによって単離精製された光化学系 II 反応中心複 合体であり²⁾、そのタンパク質相同性が種間で非常に 高かったことも理由の一つであった。その後、ホウレ ンソウ(エンドウマメを用いていた研究グループもあ ったが)を用いて生化学的、生物物理学的に光化学系 反応の解析が一気に進んだが、それが普遍的なものか どうか、"ホウレンソウ学"でないのかは疑問に思っ ていた。以前より高等植物とシアノバクテリア・紅藻

の光捕集系が違うこと、藻類は緑色だけで無くカロテ ノイドの色を強く反映した種がいることは既知であ り、研究室には好熱性の藻類が培養されていたことも あって、それらの光合成の独自性、普遍性は興味の的 であった。1991年に緑藻クラミドモナスに形質転換技 術の導入3の報告があり、1996年に形質転換が容易な シアノバクテリア Synechocystis sp. PCC 6803 の全 ゲノムが決定された 4ことから、遅ればせながら筆者 らも光合成藻類を用いた「多様性ある光化学系研究」 に突入していった。光合成藻類は古細菌には存在しな いものの原核生物から第二次、三次共生を経た進化過 程で真核生物の多くの系にまたがる多様性を獲得し ている。多様性は天然の変異株であり、それを調べる ことによって、光合成のエネルギー伝達、電子移動反 応、水分解反応等の原理解明につなげることができる。 さらに、これを発展させ遺伝子の多様性を人工的に導 入することにより自然界に存在しない現象から光合 成原理の到達に進むことも期待できる。化石燃料の枯 渇は喫緊の課題となっているが、太陽光は莫大なエネ ルギーをもつ有力なリソースである。光合成の多様性 を生かすことにより効率のよいエネルギー変換機構 を明らかにすることは、地球環境の維持につながって いく。本稿では、多様性ある藻類の中の極一部である が、我々の行っている光化学系タンパク質に関する研 究を紹介する。

^{*}解説特集「光合成の多様な世界について」

^{*}連絡先 E-mail: tomo@rs.tus.ac.jp

光化学系 II 表在性タン パク質の多様性

光化学系 II は水分解を行い、従 属栄養生物に酸素を供給する点か らもその反応機構の理解は重要で ある。最近の結晶構造解析により、 シアノバクテリアの光化学系 II の構造は高分解能で明らかになっ てきた 5.0が、シアノバクテリア 以外の光化学系 II の構造は論文 としては報告されていないのが現 状である。光化学系 II においては 生化学および遺伝子配列の解析が 進み、集光性タンパク質は多様性



図 1. PsbQ (A), PsbQ' (B), Psb31 (C)の構造 (A)PDB:1VYK, (B)PsbQ の構造を元に SWISS MODEL で作製、(C)PDB: 4K7B

があるものの反応中心を構成するコアタンパク質の 相同性は高いことが理解されていた。また、多様性は 集光性タンパク質のみでなく、生化学的解析により酸 素発生の機能保持と安定化を担う光化学系 II 表在性 タンパク質にも存在することが明らかになってきた 7, 8)。そのため、シアノバクテリア以外の結晶構造解析 が待たれている。高等植物および緑藻の光化学系 II 表 在性タンパク質はルーメン (チラコイド膜内腔) 側に 結合している PsbO, PsbP, PsbQ の三種類であり、 PsbP タンパク質は伊福らによって結晶構造解析が報 告され⁹、PsbQについても構造が報告されている¹⁰⁾。 これらの局在位置については詳細な結晶構造解析の 報告は無いものの電子顕微鏡による一分子観察や架 橋反応により、ある程度の配置は推察されてきた。し かしながら、高等植物と緑藻では同じ表在性タンパク 質組成ではあるものの PsbP と PsbQ の膜への結合様 式は再構成の解析から少し異なっており、同じ表在性 タンパク質の組成でも多様性があると考えられてい る^{11,12)}。結晶構造が報告されている好熱性シアノバク テリアの光化学系 II の表在性タンパク質組成は PsbO, PsbV, PsbU であり、PsbO を除き高等植物型の組成と は異なっている。もっとも、ゲノム解析の結果、シア ノバクテリアにも PsbP, PsbQ のホモログが存在して おり、それぞれ CyanoP、CyanoQ と呼ばれているが、 結晶構造の中には含まれておらず、光化学系 II との相 互作用についてはよく明らかになっていない。PsbP, PsbQ の詳細については総説を参考にされたい^{13,14)}。 単離光化学系 II の研究により一次共生藻の紅藻は

PsbO, PsbV, PsbU に加えて四番目の表在性タンパク 質である PsbQ'が¹⁵⁾、紅藻の二次共生生物である珪藻 には紅藻の表在性タンパク質に加えて五番目の表在 性タンパク質である Psb31 が存在する¹⁶⁾。PsbQ'は結 晶構造解析されている PsbQ や CyanoQ との相同性か ら4ヘリックスバンドル構造と考えられている。珪藻 Chaetoceros gracilis の Psb31 は 2013 年に結晶構造 解析され 17)、こちらも4ヘリックスバンドル構造であ った。PsbQ、PsbQ'およびPsb31の構造を図1に示す。 PsbQとPsbQ', Psb31の間ではアミノ酸配列の相同性 は低いものの、同じ光化学系 II 表在性タンパク質であ ることから部分的に機能を相補していると示唆され ている。また、PsbQ'、Psb31 ともに再構成の実験に より直接光化学系 II に結合することが確かめられて いる^{18,19)}。PsbQ'は紅藻ばかりでなく、シアノバクテ リア光化学系 II にも化学量論的に結合する(図 2)。 このことから、PsbQ'はシアノバクテリアの表在性タ ンパク質 PsbO, PsbV, PsbU の膜への結合部位以外の 部位と直接相互作用すると考えられ、紅藻が進化の過 程で空いている空間に PsbQ'を結合したものと示唆さ れる。再構成実験の結果、シアノバクテリアの光化学 系IIにPsbQ'を結合させても飽和光による酸素発生活 性に変化は見られなかった。それでは、PsbQ'の機能 は何なのであろうか。種々の表在性タンパク質の異な る種から単離精製した光化学系 II を用いて、それらの 第二次電子受容体 QA の酸化還元電位が測定されてい る²⁰⁾。その結果、第四の表在性タンパク質 PsbQ'をも つ原始紅藻 Cyanidioschyzon merolae の QA の酸化還 元電位は PsbO, PsbV, PsbU のみからなるシノアバク



図 2. T.elongatus 光化学系 II に Psb Q'を再構成した電 気泳動プロファイル

テリア Thermosynechococcus elongatus の電位より も正方向に約40 mV シフトしており約-104 mV であ った。これが、種の違いによるものなのか、表在性タ ンパク質の違いによるものかを調べるために、T. *elongatus* の表在性タンパク質に紅藻 *Cyanidium caldarium*の PsbQ'を再構成し QAの電位を測定した。 その結果、PsbQ'を再構成させたシアノバクテリア光 化学系 IIの QAの電位は正方向に約42 mV シフトして いた²¹⁾。この QAの正方向への電位シフトは三重項ク ロロフィルを経由しない直接的な電荷再結合の収率 を増やすことから、一重項酸素の形成を減少させるこ とが種々の分光測定より示唆されている(図 3)^{22,23)}。 結果として、紅藻における PsbQ'の獲得は電子伝達の 逆反応による障害を低下させていることが示唆され る。光化学系の酸化側に結合する表在性タンパク質が 還元側に位置するQAの電位に影響するのは興味深い。 同じような例は、ホウレンソウの光化学系 II 膜標品に 対してトリプシン消化を行うと、PsbO を取り除いた 場合は PsbO が結合している場合と異なり、ルーメン 側に位置する CP43 のループ部分に加えて膜に対して 反対側のストロマ側にあるC末端が消化を受けること が報告されている²⁴⁾。チラコイド膜内腔に結合してい るタンパク質が膜の反対側に作用することは遺伝子 変異を用いた研究でも同じ可能性があるため注意が 必要である。また、これら結果は機能改良には活性部 位周辺だけで無く複合体全体の構造も考慮に入れな くてはならないことを示唆している。我々の測定によ

り PsbQ'の獲得は電子伝達の逆反応で生じる一重項酸 素の収率を低下させることが示唆されたが、一重項酸 素は寿命が短いため、別の試薬にトラップさせて ESR 等の測定を行う必要があり、検出は容易ではない。し かし、われわれは光化学系を用いた近赤外領域におけ る一重項酸素の発光による直接的な観測に成功して おり、この方法であれば収率と同時に寿命も測定可能 である²⁵⁾。このため、PsbQ'再構成後の一重項酸素の 収率について測定を予定している。一方、PsbQ'の酸 化側に対する影響は、光誘起フーリエ変換赤外差スペ クトルで調べられている 26)。表在性タンパク質を全て 取り除いた状態あるいは PsbO のみ結合させた光化学 系 II 標品に PsbQ'を再構成した場合、Mn4CaO5クラ スターのS₁→S₂遷移において、タンパク質主鎖のアミ ド基およびカルボニル基の振動に回復があまり見ら れなかった。一方、PsbO と PsbQ'を結合した標品に PsbV を再構成させた時はそれらの回復が観測された。 このことから、少なくとも S1→S2 遷移間では PsbQ' が Mn₄CaO₅クラスター周辺の光化学系 II 膜タンパク 質の安定化に大きな寄与を与えていないことになる 26)。この酸化側と還元側の一見、相反する性質は今後 解明する必要がある。また、現在 Psb31 についても同 様の測定を行っている。以上、記載したように同じ酸 素発生型光合成であってもタンパク質組成に大きな 違いがある。光化学系 II 表在性タンパク質は水分解の 機能と安定化に大きく寄与しており、多様性を通じて その反応機構を理解することは、安全安心なエネルギ 一創生につながっていく。



図 3. 光化学系電子移動エネルギー準位図と一重項 酸素発生

3. その他現在解析中の多様性

現在、当研究室では珪藻二種 (C. gracilis, Phaeodactylum tricornutum)、原始紅藻二種(C. merolae, C. caldarium)、緑藻二種 (Chlamydomonas reinhardtii, Botryococcus braunii)、共生藻二種 (Symbiodinium sp. OAH-1, Symbiodinium minutum)、シアノバクテリア六種 (Synechocystis sp. PCC 6803, T. elongatus, Acaryochloris marina, hongdechloris, Halomicronema Arthrospira (Spirulina) platensis, Anabaena variabilis) の野生株 および変異株の培養を行っている。近年になり、微生 物を培養すること無く、その機能の一部を解析できる ようになってきた。いわゆるメタゲノム解析である。 現在はアノテーションの精度に難があると思われる が、今後光合成の多様性がより明らかになると思われ る。一方、生化学的な研究は培養可能なことが第一条 件である。池や堀の水を光学顕微鏡で見てみると多様 な光合成生物を観察できるが、それらのほとんどはす ぐ死んでしまい、培養可能そうに見えるのはほんのわ ずかである。成長速度が遅い問題の解決は難しいよう に思えるが、培養環境の改善で多くの光合成生物が生 育できるよう研究が進むことを期待している。そうい う意味でも、たまたま培養できている上記生物の中で、 Acaryochloris marinaはクロロフィル dを主要色素と してもつシアノバクテリアであり、この生物は宮下ら によって最初に報告され 27)、その後淡路島沿岸で村上 らにより紅藻表面において発見された 28)。また柏山ら の HPLC 分析等により多くの環境中からクロロフィ ル d が検出されている²⁹⁾。クロロフィル d はクロロフ ィルaより、約100mV低エネルギー側に吸収極大を 持つ特徴的な色素であり、光合成色素の多様性を表し ている。我々はこのシアノバクテリアより光化学系 II を単離精製し、その初期電子供与体はクロロフィル d であり、その酸化還元電位はクロロフィル a型の光化 学系 Ⅱ のそれとほとんど変わらない約+1.2 V である ことを明らかにし、低いエネルギーの補償は酸化側で 無く、還元側の電子伝達成分の酸化還元電位を正方向 にシフトして制御していることを報告した^{30,31)}。これ は光合成水分解反応に重要な初期電子供与体の電位 は初期電子供与体の色素種が変化しても変えてはい けないという水分解反応における普遍性を示したこ とになる。また、先の会報ではクロロフィル fをもつ



図 4. 光化学系 I 電気泳動プロファイル lane 1: *T. elongatus*, lane 2: *Symbiodinium* sp. OAH-1

シアノバクテリア *H. hongdechloris*のクロロフィル f からクロロフィル a へのアップヒルなエネルギー移動 を報告した³²⁾。これは独自なエネルギー移動経路の獲 得により、これまでに酸素発生型光合成に使用されて いなかった光を光合成に使えることを意味している。

共生藻は本号の丸山の報告にあるように、造礁サン ゴあるいはイソギンチャク等に共生する渦鞭毛藻で あり、それ自体が多様性をもつとともに多様な生態系 を支えている。しかし、これまで共生藻を材料として の単離光化学系の報告はほとんどなかった。我々が、 共生藻 Symbiodinium sp. OAH-1 から単離精製した 光化学系Iはカロテノイドとしてペリジニンを集光性 膜タンパク質に結合しており、多数のサブユニットか ら構成されていた。その集光性タンパク質のペプチド 様式は珪藻から単離された光化学系 I³³⁾とよく似てい た。一方、コアタンパク質である PsaA/B サブユニッ トは既知の PsaA/B の分子量と比較して低分子量側に 大きくシフトしていた (図 4)。このシフトは最近明ら かになった Symbiodinium のドラフトゲノム解析 ³⁴⁾ の結果とよく一致していた。光化学系コアタンパク質 は進化速度が速く、種間において相同性が高いと考え られていたことから、この結果は意外であった。ホウ レンソウの光化学系Iだけを研究していたら、この違 いにはたどりつかなかったであろう。共生とこの分子 量シフトの関わりはまだ不明であるが、この事例から わかるように、多様性を利用することによって独自な

光合成反応や普遍的な光合成反応についての新たな 知見を得ることが可能になる。

4. おわりに

環境の多様性、遺伝子の多様性そして種の多様性は 地球環境を支えてきた。生態学者を除けば多くの研究 者は生物種を限って研究に使用していると思われる。 しかし、これら多様性は光合成の根本原理解明の大き な手助けとなるのも事実である。酸素発生型クロロフ イルは a 型から f 型(e を除く)までの多様性が存在 し、土屋らによって遺伝子改変によりフォルミル基を 二つ導入した新規クロロフィルが遺伝子工学の手法 を用いて作製されており 35)、今後自然界にそのような 構造をもつクロロフィルが見つかるかもしれない。カ ロテノイドに関しては高市らに報告されているよう にクロロフィルをはるかに超える多様性が存在して いる³⁶⁾。本稿に記したように、光化学系タンパク質に おいても多様性が存在し、その機構解析による独自 性・普遍性の理解は今後ますます求められている。本 稿では触れなかったが、非酸素発生型の光合成細菌に おいても多くの多様性が存在し、日本から重要な成果 が報告され続けている。既に光化学系 I, II およびシト クロム bef 複合体の結晶構造解析が報告されており、 これらは光化学反応の解明に大きく寄与した。しかし、 光合成反応にはいまだ想像のできない多様性が存在 し、それらを知ることが、持続的なエネルギー創生へ とつながっていく。そして、それらの理解のためには 同じ分野の研究者のみでは限界があり、地球環境学者、 生態学者、生理学者、(分子)生化学者、化学者、物 理学者の連携がますます重要になると考えられる。

謝辞

本研究は東京理科大学で長年行われていた、榎並勲 先生の研究を引き継いでいるものであり、先生の御指 導と御功績に感謝申し上げます。本研究で紹介した研 究成果は一緒に研究を遂行してくれた卒研生、大学院 生や多くの共同研究者によるものであり、深く感謝申 し上げます。とりわけ、故三室守先生には多様性の面 白さを教えていただき感謝いたします。また、共生藻 の研究は基礎生物学研究所の高橋俊一先生との共同 研究であることを述べさせていただきます。最後に本 特集の共同編集者であり、本執筆の機会をいただきま した、園池公毅教授に感謝申し上げます。

Received June 19, 2015; Accepted June 22, 2015; Published August 31, 2015

参考文献

- Shinozaki, K., Ohme, M., Tanaka, M., Wakasugi, T., Hayashida, N., Matsubayashi, T., Zaita, N., et al. (1986), The complete nucleotide sequence of the tobacco chloroplast genome: its gene organization and expression, *EMBO J.*, 5, 2043–2049.
- Nanba, O. and Satoh, K. (1987), Isolation of a photosystem II reaction center consisting of D-1 and D-2 polypeptides and cytochrome *b*-559, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 109–112.
- Takahashi, Y., Goldschmidt-Clermont, M., Soen, S.Y., Franzen, L.G. and Rochaix, J.D. (1991), Directed chloroplast transformation in *Chlamydomonas reinhardtii*: insertional inactivation of the psaC gene encoding the iron sulfur protein destabilizes photosystem I, *EMBO J.*, 10, 2033–2040.
- Kaneko, T., Sato, S., Kotani, H., Tanaka, A., Asamizu, E., Nakamura, Y., Miyajima, N., et al. (1996), Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions, *DNA Res.*, 3, 109–136.
- Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.-R. and Kamiya, N. (2011), Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å, *Nature*, 473, 55–60.
- Suga, M., Akita, F., Hirata, K., Ueno, G., Murakami, H., Nakajima, Y., Shimizu, T., Yamashita, K., Yamamoto, M., Ago, H. and Shen, J.-R. (2014), Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses, *Nature*, 517, 99–103.
- Enami, I., Suzuki, T., Tada, O., Nakada, Y., Nakamura, K., Tohri, A., Ohta, H., Inoue, I. and Shen, J.-R. (2005), Distribution of the extrinsic proteins as a potential marker for the evolution of photosynthetic

oxygen-evolving photosystem II, FEBS J., 272, 5020–5030.

- Enami, I., Okumura, A., Nagao, R., Suzuki, T., Iwai, M. and Shen, J.-R. (2008), Structures and functions of the extrinsic proteins of photosystem II from different species, *Photosynth. Res.*, 98, 349–363.
- Ifuku, K., Nakatsu, T., Kato, H. and Sato, F. (2004), Crystal structure of the PsbP protein of photosystem II from Nicotiana tabacum, *EMBO Rep.*, 5, 362–367.
- Balsera, M., Arellano, J. B., Revuelta, J. L., de las Rivas, J. and Hermoso, J. A. (2005), The 1.49 Å resolution crystal structure of PsbQ from photosystem II of *Spinacia oleracea* reveals a PPII structure in the N-terminal region, *J. Mol. Biol.*, 350, 1051–1060.
- Suzuki, T., Minagawa, J., Tomo, T., Sonoike, K., Ohta, H. and Enami, I. (2003), Binding and functional properties of the extrinsic proteins in oxygen-evolving photosystem II particle from a green alga, *Chlamydomonas reinhardtii* having his-tagged CP47, *Plant Cell Physiol.*, 44, 76–84.
- Nagao, R., Suzuki, T., Okumura, A., Niikura, A., Iwai, M., Dohmae, N., Tomo, T., Shen, J.-R., Ikeuchi, M. and Enami, I. (2010), Topological analysis of the extrinsic PsbO, PsbP and PsbQ proteins in a green algal PSII complex by cross-linking with a water-soluble carbodiimide, *Plant Cell Physiol.*, 51, 718–727.
- Ifuku, K., Ido, K. and Sato, F. (2011), Molecular functions of PsbP and PsbQ proteins in the photosystem II supercomplex, *J. Photochem. Photobiol. B*, 104, 158–164.
- Ifuku, K. (2014), The PsbP and PsbQ family proteins in the photosynthetic machinery of chloroplasts, *Plant Physiol. Biochem.*, 81, 108–114.
- Ohta, H., Suzuki, T., Ueno, M., Okumura, A., Yoshihara, S., Shen, J.-R. and Enami, I. (2003), Extrinsic proteins of photosystem II; An intermediate member of the PsbQ protein family in red algal PS II, *Eur. J. Biochem.*, 270, 4156–4163.
- Nagao, R., Ishii, A., Tada, O., Suzuki, T., Dohmae, N., Okumura, A., Iwai, M., Takahashi, T., Kashino,

Y. and Enami, I. (2007), Isolation and characterization of oxygen-evolving thylakoid membranes and photosystem II particles from a marine diatom *Chaetoceros gracilis, Biochim. Biophys. Acta*, 1767, 1353–1362.

- Nagao, R., Suga, M., Niikura, A., Okumura, A., Koua, FHM., Suzuki, T., Tomo, T., Enami, I. and Shen, J.-R. (2013), Crystal structure of Psb31, a novel extrinsic protein of photosystem II from a marine centric diatom and implications for its binding and function, *Biochemistry*, 52, 6646–6652.
- Enami, I., Kikuchi, S., Fukuda, T., Ohta, H. and Shen, J.-R. (1998), Binding and functional properties of four extrinsic proteins of photosystem II from a red alga, *Cyanidium caldarium*, as studied by release-reconstitution experiments, *Biochemistry*, 37, 2787–2793.
- Nagao, R., Moriguchi, A., Tomo, T., Niikura, A., Nakajima, S., Suzuki, T., Okumura, A., Iwai, M., Shen, J.-R., Ikeuchi, M. and Enami, I. (2010), Binding and functional properties of five extrinsic proteins in oxygen-evolving photosystem II from a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*, *J. Biol. Chem.*, 285, 29191–29199.
- Shibamoto, T., Kato, Y., Nagao, R., Yamazaki, T., Tomo, T. and Watanabe, T. (2010), Species-dependence of the redox potential of the primary quinone electron acceptor Q_A in photosystem II verified by spectroelectrochemistry, *FEBS Lett.*, 584, 1526–1530.
- Yamada, M. and Tomo, T. (2014), Function and characterizaiton of photosystem II extrinsic protein PsbQ', Proceedings of International meeting "Photosynthesis Research for Sustainability-2014".
- Vass, I. and Cser, K. (2009), Janus-faced charge recombinations in photosystem II photoinhibition, *Trends Plant Sci.*, 14, 200–205.
- Rutherford, A. W., Osyczka, A. and Rappaport, F. (2012), Back-reactions, short-circuits, leaks and other energy wasteful reactions in biological electron transfer: redox tuning to survive life in O₂, *FEBS Lett.*, 586, 603–616.

- Enami, I., Tohri, A., Kamo, M., Ohta, H. and Shen, J.-R. (1997), Identification of domains on the 43 kDa chlorophyll-carrying protein (CP43) that are shielded from tryptic attack by binding of the extrinsic 33 kDa protein with photosystem II complex, *Biochim. Biophys. Acta*, 1320, 17–26.
- Tomo, T., Kusakabe, H., Nagao, R., Ito, H., Tanaka, A., Akimoto, S., Mimuro, M. and Okazaki, S. (2012), Luminescence of singlet oxygen in photosystem II complexes isolated from cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803 containing monovinyl or divinyl chlorophyll *a*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1817, 1299–1305.
- Uno, C., Nagao, R., Suzuki, H., Tomo, T. and Noguchi, T. (2013), Structural coupling of extrinsic proteins with the oxygen-evolving center in red algal photosystem II as revealed by light-induced FTIR difference spectroscopy, *Biochemistry*, 52, 5705– 5707.
- Akimoto, S., Murakami, A., Yokono, M., Koyama, K., Tsuchiya, T., Miyashita, H., Yamazaki, I. and Mimuro, M. (2006), Fluorescence properties of the chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris* sp. strain Awaji, *J. Photochem. Photobiol. A*, 178, 122–129.
- Murakami, A., Miyashita, H., Iseki, M., Adachi, K. and Mimuro, M. (2004), Chlorophyll *d* in an epiphytic cyanobacterium of red algae, *Science*, 303, 1633–1633.
- Kashiyama, Y., Miyashita, H., Ohkubo, S., Ogawa, NO, Chikaraishi, Y., Takano, Y., Suga, H., Toyofuku, T., Nomaki, H. and Kitazato, H. (2008), Evidence of global chlorophyll *d*, *Science*, 321, 658.
- Tomo, T., Okubo, T., Akimoto, S., Yokono, M., Miyashita, H., Tsuchiya, T., Noguchi, T. and Mimuro, M. (2007), Identification of the special pair of

photosystem II in a chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 7283–7288.

- Allakhverdiev, S. I., Tomo, T., Shimada, Y., Kindo, H., Nagao, R., Klimov, V. V. and Mimuro, M. (2010), Redox potential of pheophytin *a* in photosystem II of two cyanobacteria having the different special pair chlorophylls, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 3924– 3929.
- Shinoda, T., Akimoto, S., Nii, D., Ohta, H. and Tomo, T. (2015), Spectroscopic analysis of new chlorophyll–containing cyanobacterium, *Kougousei Kenkyu*, 25, 29–33.
- Ikeda, Y., Komura, M., Watanabe, M., Minami, C., Koike, H., Itoh, S., Kashino, Y. and Satoh, K. (2008), Photosystem I complexes associated with fucoxanthin–chlorophyll–binding proteins from a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis, Biochim. Biophys. Acta*, 1777, 351–361.
- Shoguchi, E., Shinzato, C., Kawashima, T., Gyoja, F., Mungpakdee, S., Koyanagi, R., Takeuchi, T., Hisata, K., Tanaka, M. and Fujiwara, M. (2013), Draft assembly of the *Symbiodinium minutum* nuclear genome reveals dinoflagellate gene structure, *Curr. Biol.*, 23, 1399–1408.
- 35. Tsuchiya, T., Akimoto, S., Mizoguchi, T., Watabe, K., Kindo, H., Tomo, T., Tamiaki, H. and Mimuro, M. (2012), Artificially produced 7-formyl-chlorophyll *d* functions as an antenna pigment in the photosystem II isolated from the chlorophyllide a oxygenase-expressing *Acaryochloris marina*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1817, 1285–1291.
- Takaichi, S. (2011), Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions, *Mar. Drugs*, 9, 1101–1118.

Research of Photosystems in Various Photosynthetic Algae

Tatsuya Tomo^{1,*}, Masato Yamada¹, Shinsuke Shimizu¹, Doshun Ito¹, Ryo Nagao²

¹Faculty of Science, Tokyo University of Science, ²Graduate School of Science, Nagoya University

解説特集

「光合成と脂質」

Editors: 小林 康一(東京大学 大学院 総合文化研究科) 粟井 光一郎(静岡大学 理学部)

序文

- 小林 康一(東京大学) 粟井 光一郎(静岡大学) 114
- 解説 光合成タンパク質複合体と脂質 遠藤 嘉一郎(東京大学) 小林 康一(東京大学) 和田 元(東京大学) 116
- 解説 植物のチラコイド膜脂質の合成と葉緑体発達における役割

小林 康一(東京大学) 126

解説 脂質による葉緑体分裂の制御

岡崎 久美子(東京工業大学) 138

- 解説 光合成生物におけるガラクト脂質合成経路の分布と進化
 - 粟井 光一郎(静岡大学) 143
- 解説 光合成細菌の脂質塚谷 祐介(東京工業大学) 民秋 均(立命館大学) 溝口 正(立命館大学) 151

序文[‡]

東京大学 大学院 総合文化研究科 小林 康一¹ 静岡大学 理学部 粟井 光一郎²

本年1月に Andrew Alm Benson 博士がなくなられました。97歳だったそうです。Benson 博士は言わずと知れた 光合成研究の大家であり、カルビン・ベンソン回路において、二酸化炭素が固定される基質がリブロース1,5-ビス リン酸であることを発見されたことで著名です。実は、Benson 博士は光合成膜脂質分野でも先駆的な研究をされ ています。光合成反応の場であるチラコイド膜の脂質二重層は主に4種の脂質で構成されており、モノガラクト シルジアシルグリセロール (MGDG) がおよそ5割、ジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG) が3割、 スルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG) とホスファチジルグリセロール (PG) がそれぞれ1割を占め ています。Benson 博士は、1958年に東京大学の丸尾文治先生と共同で葉緑体リン脂質 PG を発見され¹⁾、1959年 には SQDG を発見されました²⁾。また、当初 MGDG と DGDG は小麦粉の微量成分として見つかっていましたが ³⁾、それらがチラコイド膜の主要成分であることも報告しています⁴。

日本での光合成と脂質に関する研究で、一番に思い浮かぶのは本学会の元会長でもある村田紀夫先生です。村 田先生はステート遷移やNPQの発見、光阻害の新モデル提案に加え、膜脂質の脂肪酸組成が膜の流動性を調節し、 低温での光合成活性の維持に寄与していることを解明されました⁵⁾。実は、本特集の編集者両名は上記「光合成と 脂質」関する研究の先人達と浅からぬ(?)縁があります。我々の指導教員でもあった故・高宮健一郎先生(本 学会元会長)は村田先生の学生時代の後輩にあたり、高宮先生が学位を取られた時、丸尾先生は審査員の一人で あったと伺っています。また編集者両名は、村田研で研鑽を積んだ先生方のもと、学生や助教として長年培われ てきた知恵を学ぶ機会を得ています。このように、「光合成」と「脂質」は科学的な面だけでなく、研究者のつな がりといった面においても古くから深い関係にあります。今回、このようなタイトルの解説特集を組むことがで きたのも、両分野にまたがって先駆的な研究されてきた先輩方の「お導き」があってこそだと強く感じます。

本特集では、脂質をキーワードとした光合成に関する記事を、光合成細菌からシアノバクテリア、藻類、陸上 植物まで、また分子レベルから、オルガネラ・細胞内構造まで集めました。遠藤嘉一郎さんらには脂質と光合成 タンパク質複合体の関係、小林が植物のチラコイド膜脂質の機能、岡崎久美子さんには葉緑体分裂における脂質 の役割、粟井がチラコイド膜ガラクト脂質合成経路の分布と進化、塚谷祐介さんらには光合成細菌の脂質に関す る記事を執筆していただきました。脂質は馴染みの薄い分野と思われがちですが、実際は各研究分野と密接にか かわっている領域です。これから、光合成分野における研究で、脂質に関することを考慮に入れる必要が出てく る機会が益々増えてくると思います。本特集が、会員の皆様の光合成における脂質の機能を理解する一助となれ ば幸いです。

本特集の編集に当たっては、光合成研究編集長の西山佳孝さんに大変お世話になりました。この場を借りてお 礼申し上げます。

^{*}解説特集「光合成と脂質」

¹連絡先 E-mail: kkobayashi@bio.c.u-tokyo.ac.jp

²連絡先 E-mail: awai.koichiro@shizuoka.ac.jp

参考文献

- Benson, A.A. and Maruo, B. (1958) Plant phospholipids. I. Identification of the phosphatidyl glycerols. *Biochim. Biophys. Acta* 27, 189–195.
- 2. Benson, A.A., Daniel, H. and Wiser, R. (1959) A sulfolipid in plants. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 45, 1582–1587.
- 3. Carter, H.E., McCluer, R.H. and Slifer, E.D. (1956) Lipids of wheat flour. I. Characterization of galactosylglycerol components. *J. Am. Chem. Soc.* 78, 3735–3738.
- 4. Benson, A.A., Wiser, R., Ferrari, R.A. and Miller, J.A. (1958) Photosynthesis of galactolipids. J. Am. Chem. Soc. 80, 4740.
- Wada, H., Gombos, Z. and Murata, N. (1990) Enhancement of chilling tolerance of a cyanobacterium by genetic manipulation of fatty acid desaturation. *Nature* 347, 200–203.

光合成タンパク質複合体と脂質[‡]

東京大学大学院 総合文化研究科 広域科学専攻 遠藤 嘉一郎 小林 康一 和田 元*

生体膜の基本構造である脂質二重層は、一般にリン脂質によって構成されているが、光合成の初期過 程の場であるチラコイド膜は糖脂質が主成分であり、ホスファチジルグリセロール (PG)のみがおも なリン脂質として含まれるという特徴をもっている。チラコイド膜の脂質は、脂質二重層を形成して いるだけでなく、光合成タンパク質複合体(光合成装置)の構成要素でもあり、複合体においても重 要な役割を担っていると考えられる。本稿ではシアノバクテリアと高等植物の脂質合成欠損株を用い た分子生物学・生化学的な解析および光合成タンパク質複合体の結晶構造解析によって得られた脂質 の機能に関する知見を紹介し、光合成における脂質の重要性について解説する。

1. はじめに

酸素発生型の光合成を行うシアノバクテリアの細 胞や高等植物の葉緑体に存在するチラコイド膜には、 おもに4種類の脂質、モノガラクトシルジアシルグリ セロール (MGDG)、ジガラクトシルジアシルグリセ ロール (DGDG)、スルホキノボシルジアシルグリセロ ール (SQDG) とホスファチジルグリセロール (PG) が存在する。MGDG と DGDG はガラクトース、SQDG はスルホキノボースという糖を結合しているので糖 脂質、一方、PG はリンを結合しているのでリン脂質 に分類される。チラコイド膜の全脂質量の60~80%程 度をガラクト脂質である MGDG と DGDG が占め、残 りを SQDG と PG が占める。SQDG と PG は、極性基 にマイナスの電荷を持つため、酸性脂質にも分類され、 電荷を持たない MGDG や DGDG では置き換えること のできない特殊な機能を持つことが示唆されている。 そして、これらの脂質はチラコイド膜の脂質二重層を 構成するだけでなく、光合成タンパク質複合体の中に も組み込まれており、複合体のアセンブリーや安定化 においても重要な役割を担っているものと推測され ている。X 線結晶構造解析に加え、これまで、シアノ バクテリアやシロイヌナズナから数々の脂質合成欠 損株が作製され、それらの変異株を用いた解析から、

*連絡先 E-mail: hwada@bio.c.u-tokyo.ac.jp

光合成における脂質の役割が徐々にわかってきた。以 下に、光合成における脂質の役割、特に光合成タンパ ク質複合体に存在する脂質分子の役割を中心に、最近 の解析によって明らかとなった知見を紹介する。

2. 光合成タンパク質複合体に含まれる脂質 分子

近年、光合成タンパク質複合体の X 線結晶構造解析 における分解能が向上し、複合体の中に多くの脂質分 子が同定され、それらの脂質分子の局在位置や詳細な 構造が明らかになってきた¹⁻⁶⁾。光化学系II複合体(PSII) の二量体では、単量体あたり6分子のMGDG、5分子 の DGDG と PG、4 分子の SQDG、合計 20 の脂質分子 が存在することが、Thermosynechococcus vulcanus から 精製した PSIIの X線結晶構造(1.9Åの分解能)から 判明した(表1、図1)³⁾。これらの脂質の分子数や組 成は、同株や Synechocystis sp. PCC 6803 から精製され た PSII の二量体に含まれる脂質を生化学的に解析し た結果とよく一致している⁷⁾。光化学系 I (PSI) につ いても、Thermosynechococcus elongatus BP-1 から精製 した PSI 三量体の X 線結晶構造解析から、単量体あた り3分子のPGと1分子のMGDG が結合していること が明らかとなった (図 2)¹⁾。Synechocystis sp. PCC 6803 から精製した PSI 三量体に含まれる脂質の生化学的な 分析では、単量体あたり2分子の MGDG と PG、1分 子の DGDG と SQDG、合計 6 分子が結合していること

^{*}解説特集「光合成と脂質」

表 1. 光合成タンパク質複合体に結合している脂質分子数

X線結晶構造解析と生化学的な脂質分析によって明らかになった各複合体に存在する脂質分子数(すべて単量体あたりの分子数)

複合体	生物種	脂質分子数(単量体あたり)				参考文献	
		MGDG	DGDG	SQDG	PG	_	
X線結晶構造解析							
PSII	Thermosynechococcus elongatus	11	7	5	2	Guskov et al. $(2009)^{2}$	
	Thermosynechococcus vulcanus	6	5	4	5	Umena et al. $(2011)^{3}$	
PSI	Thermosynechococcus elongatus	1	0	0	3	Jordan et al. (2001) ¹⁾	
LHCII	Spinacia oleracea	0	1	0	1	Liu et al. (2004) ⁴⁾	
Cyt b ₆ f	Chlamydomonas reinhardtii	2 (?)	0	1	0	Stroebel et al. $(2003)^{6}$	
脂質分析							
PSII	Synechocystis sp. PCC 6803	6	3	5	6	Sakurai et al. (2006) ⁷⁾	
	Thermosynechococcus vulcanus	8	6	6	8	Sakurai et al. (2006) ⁷⁾	
PSI	Synechocystis sp. PCC 6803	2	1	1	2	Kubota et al. (2010) ⁸⁾	

が示された⁸⁾。これらの結果は、シアノバクテリアの 種によって PSI に結合している脂質分子の数や組成に 違いがあることを示唆している。Cyt b₆f 複合体の二量 体の結晶構造にも、単量体あたり MGDG と推定され る分子が 2 分子、SODG が 1 分子結合しており 0 、そ れに加え PG や SODG の存在も、ホウレンソウから精 製された Cyt bd 複合体の MS スペクトル解析から見出 されている 9。さらに、高等植物において光エネルギ ーを集めるアンテナとして働いているLHCIIのX線結 晶構造も、ホウレンソウとエンドウについて、それぞ れ 2.7 Å⁴⁾と 2.5 Å⁵⁾の分解能で報告されており、どちら の構造においても、LHCII 単量体あたり 1 分子の DGDG と PG が存在することがわかっている。ホウレ ンソウの結晶構造によると⁴⁾、三量体の LHCII 同士は 2分子のDGDGを介する相互作用により結合している と推定されている。シロイヌナズナの DGDG 欠損変異 体(dgd1)ではLHCIIの単量体が増加することが報告 されており、DGDG は三量体の形成や安定化に関わっ ていると考えられる¹⁰⁾。また、クラミドモナスの PG 分子種の組成が変化した変異株での実験や11)、単離し た LHCII にホスホリパーゼ処理を行った実験から¹²⁾、 PG も LHCII の三量体化に必要であることが示されて いる。

3. 光合成における各脂質分子の役割

3.1 MGDG

高等植物とシアノバクテリアでは MGDG や DGDG

の合成経路が異なっている。シアノバクテリアでは、 まずジアシルグリセロール (DAG) に UDP-グルコー スからグルコースが転移することにより、モノグルコ シルジアシルグリセロール (GlcDG) が合成される。 その後、エピメラーゼ (MgdE) によって GlcDG 分子 中のグルコースがガラクトースに異性化することで MGDG が合成される。さらに、DGDG 合成酵素 (DgdA) の働きで MGDG にもう 1 分子のガラクトースが転移 することにより DGDG が合成される。高等植物の場合 は、DAG にガラクトースが MGDG 合成酵素の働きに よって UDP-ガラクトースから直接転移して MGDG が 合成され、さらに DGDG 合成酵素の働きでもう 1 分子 のガラクトースが転移して DGDG となる。

シアノバクテリアと高等植物の両方において、 MGDGの合成に引き続いてDGDGも合成されるため、 MGDGの合成を欠損させると、DGDGの合成も欠損す ることになる。したがって、MGDGだけを欠失させた 変異株を得ることは難しく、MGDGとDGDGの両方、 あるいは DGDGの合成のみが欠損した株が解析に用 いられている。シアノバクテリアでは、GlcDGから MGDGを合成するMgdEの遺伝子をノックアウトした *mgdE*破壊株が*Synechocystis* sp. PCC 6803において作 製されている¹³⁾。この株はMGDGとDGDGの両方を 合成できず、その代わりにGlcDGを蓄積する。ガラク ト脂質が完全に欠損しているにも拘らず、この株は野 生株に比べて若干低いものの高い光合成活性を有し、 チラコイド膜も正常に形成する。従来、ガラクト脂質





X線結晶構造解析(1.9Åの分解能)により得られた PSII 二量体の構造(PDB ID: 3ARC)。表示しているのは、細 胞質側から見た構造である。(A)タンパク質サブユニッ トの配置。(B)ガラクト脂質分子の局在。MGDGの炭素 原子と酸素原子を紫と赤、DGDGの炭素原子と酸素原子 を黄と赤、プラストキノンを橙でそれぞれ示している。1 分子(単量体あたり)の MGDGを除いて、全てのガラク ト脂質分子の極性頭部はルーメン側を向いている。(C) 酸性脂質分子の局在。SQDGの炭素原子、酸素原子と硫 黄原子を水色、赤と橙、PGの炭素原子、酸素原子とリン 原子を緑、赤と橙でそれぞれ示している。全ての酸性脂 質分子の極性頭部は細胞質側を向いている。

は光合成に必須であると考えられていたが、これらの 研究によって得られた知見は、ガラクト脂質は光合成 には必須ではなく、GlcDGによって機能が相補できる ことを示している。

シロイヌナズナでは、MGDG 合成酵素として MGD1、 MGD2 と MGD3 の 3 つが存在する。葉における主要な MGDG 合成酵素は MGD1 であり、この MGD1 の遺伝



図2.光化学系 I 複合体の構造

X線結晶構造解析(2.5 Åの分解能)により得られた PSI の構造(PDB ID: 1JB0)。単量体の結晶構造をもとにして 三量体の構造を作製した。表示しているのは、細胞質側 から見た構造である。(A) 各脂質分子の局在。MGDG の炭素原子と酸素原子を紫と赤、PGの炭素原子、酸素原 子とリン原子を緑、赤と橙でそれぞれ示している。(B) タ ンパク質サブユニットの配置。(C) 色素分子(緑:クロ ロフィル、橙:βカロテン)とフィロキノン(紫)の配置。

子の発現が野生株の約 25%程度に低下した mgd1-1 変 異体が Jarvis らによって単離されている¹⁴⁾。mgd1-1 変 異体では野生株の 40%程度に MGDG の含量が低下し ているが、PSII 活性(Fv/Fm)は野生株とほとんど同 じであった¹⁵⁾。しかし、変異体の PSII は光阻害を受け やすく、強光下での熱放散が抑制されていた。チラコ イド膜のルーメン側での酸性化が野生株に比べて低 下しており、その影響でキサントフィルサイクルの活 性化が抑制され、熱放散も抑制されるものと考えられ る。その後、MGD1 のノックアウト変異体である mgd1-2 が単離されたが¹⁶⁾、この変異体ではガラクト脂 質の合成が大幅に低下しており、チラコイド膜の形成 そのものが阻害されるため、光合成についての詳しい 解析は行われていない。しかし、mgd1-2はリン欠乏条 件下で育てることで、MGD2 と MGD3 の活性化により DGDG が蓄積し、若干ではあるが緑化することがわか った¹⁷⁾。このとき、チラコイド膜の形成と共に光合成 タンパク質も微量ながら合成されたが、低温クロロフ ィル蛍光スペクトルから、光化学系複合体の形成は大 きく損なわれていることが明らかとなった。この結果 は、MGDG が光化学系複合体の正常な形成に必須であ ることを示唆している。さらに最近、筆者らは人工マ
イクロ RNA を用いて MGD1 遺伝子の発現を人為的に コントロールできる amiR-MGD1 変異体を作製し、そ の変異体を用いた解析から、ガラクト脂質の合成の低 下は子葉におけるチラコイド膜の発達を抑え、PSII の アクセプター側 (Q_Aの電子受容能力の低下) や Cyt b_d に影響を及ぼし、PSII の電子伝達速度を低下させるこ とを明らかにした¹⁸⁾。タバコの MGD1 ノックダウン変 異体を用いた解析からも、MGDG が Cyt b_d の蓄積や それを介した電子伝達に重要であることが示されて いる¹⁹⁾。現在、amiR-MGD1 変異体を用いて、ガラク ト脂質の合成とチラコイドの形成、葉緑体の分化、光 合成活性との関係について解析を進めている。

T. elongatus BP-1 の PSI の X 線結晶構造解析による と、PSI には 1 分子の MGDG が反応中心である PsaA/PsaB の周辺に結合しており¹⁾(図 2)、この MGDG 分子が重要な機能を担っていることが示唆されてい る。しかし、この MGDG 分子に注目した解析、例え ば、この MGDG 分子と相互作用しているタンパク質 のアミノ酸残基を改変して MGDG を欠失させたとき におこる PSI への影響などを調べる解析方法などが考 えられるが、そのような例は今のところまだ報告され ていない。

3.2 DGDG

Synechocystis sp. PCC 6803 から DGDG 合成酵素の遺 伝子を欠損させた dgdA 変異株が 2 つのグループによ って作製された。これらの株は DGDG を全く合成でき ないが、野生株と同様に生育できる。このことから、 DGDG は Synechocystis sp. PCC 6803 の増殖に必須では ないことが明らかとなった^{20,21)}。桜井らは CP47 に導 入したヒスチジンタグを利用し、dgdA 変異株から PSII を精製した。SDS-PAGE によって精製した PSII のタン パク質組成を調べたところ、変異株の PSII では表在性 タンパク質である PsbO、PsbV と PsbU の量が減少し ていることが見出された。各表在性タンパク質を欠損 させた psbO、psbVと psbU変異株との比較により、dgdA 変異株において PsbU は in vivo でも機能的に結合して おらず、PsbO と PsbV に関しては、in vivo では結合し ているものの、結合が不安定であるために精製の段階 で PSII から解離し易くなっていることが判明した。こ のため、dgdA 変異株は高温や強光条件下での生育や PSII の修復過程が阻害されることも見出された^{22,23)}。

さらに、この変異株では CP43 が欠失した PSII の単量 体が蓄積することがわかり²⁴⁾、PSII の結晶構造の中の DGDG の位置に基づいて考えると、CP43 と反応中心 タンパク質 D1/D2 との界面に存在する 2 分子の DGDG が、CP43 と D1/D2 との結合に寄与している可能性が 高い(図 1)。

シロイヌナズナでは DGDG 合成酵素の遺伝子とし て、DGD1とDGD2の2つが存在する。DGD1遺伝子 をノックアウトした変異体 dgd1 では、野生株の 10% 程度に DGDG 含量が低下しているが²⁵⁾、dgd2 変異体 では DGDG 含量が低下せず、野生株と同様に生育する ²⁶⁾。このことは、通常の条件下での DGDG 合成は、お もに DGD1 によって担われていることを示している。 dgd1と dgd2 を掛け合わせて二重変異体 dgd1dgd2 も作 製されており、得られた二重変異体は dgd1 よりも厳 しい表現型を示す。dgd1 変異体では、PSII と PSI の比 が野生株の60%にまで減少しているが、酸素発生活性 は野生株と変わらない²⁷⁾。また、パルス光を利用した クロロフィル蛍光測定の結果、Reifarth²⁸⁾や Steffen²⁹⁾ らは dgd1 と dgd1 dgd2 において P680⁺と QA⁻の電荷再結 合に影響が出ていることを報告し、その原因はドナー 側からの電子の供給の異常にあると結論付けている。 さらに、dgd1dgd2 二重変異体では光傷害に対する PSII の感受性が高くなっていることが報告されており、ド ナー側の異常が原因であると推測されている¹⁰⁾。 DGDGの減少が PSI に与える影響もシロイヌナズナに おいて報告されている。dgdl 変異体から調製したチラ コイド膜の Blue Native PAGE による解析では、PSI に おいて PsaD と PsaE が減少していることが示され 30 、 また、Ivanovらの研究ではPSIコアタンパク質のPsaA、 PsaB、PsaC、PsaL と PsaH の減少やアクセプター側に おける阻害が確認されている³¹⁾。

3.3 SQDG

SQDG はシアノバクテリアと高等植物の両方におい て、UDP-スルホキノボースから DAG にスルホキノボ ースが SQDG 合成酵素の働きで転移することによって 合成される。UDP-スルホキノボースは、UDP-グルコ ースから UDP-スルホキノボース合成酵素によって合 成され、その酵素はシアノバクテリアでは sqdB、シロ イヌナズナでは SQD1 にコードされている。シアノバ クテリアの SQDG 合成欠損株は、Synechocystis sp. PCC 6803 と Synechococcus sp. PCC 7942 において、sqdB を 破壊することによって作製されている^{32,33)}。これらの 変異株には大きな違いがある。Synechocystis の sqdB 変 異株は、SQDG を添加していない培地では生育できな いのに対し、Synechococcus の sqdB 変異株は、培地へ の SODG 添加の有無に拘らず生育できる。 *Synechocystis* の *sqdB* 変異株では、DMCU への感受性 が野生株に比べて高く、SQDG を培地から除くと PSII 活性が大きく低下することから、SQDG が光合成の電 子伝達反応に関与していることが示唆されている。一 方、シアノバクテリアの SQDG 含量は種によって大き く異なり、また、培地に含まれるリンや硫黄の濃度に よっても含量が大きく変動することが知られている ³⁴⁾。これらの知見は、シアノバクテリアの種によって 生育や光合成に対する SQDG の要求性が異なることを 示している。

クラミドモナスの変異株 (*hf-2*) では、PSII 活性が 野生株の30~40%程度まで減少し^{35,36}、その原因とし て SQDG の欠損により、Q_B結合サイトの構造が変化 した可能性が考えられている。また、高温処理やヒド ロキシアミン処理に対する感受性も高くなることか ら、SQDG は表在性タンパク質やマンガンクラスター の安定化にも寄与していることが示唆されている^{37,38}。一方、*hf-2*株において SQDG 欠損による PSI への 影響も調べられたが、異常は観察されなかった³⁹)。

SQDG 合成酵素の遺伝子である SQD2 をノックアウ トしたシロイヌナズナの変異株 sqd2 は、完全に SQDG を欠損している⁴⁰⁾。この sqd2 変異体は、通常の培養 条件下では野生株と同様に生育し、PSII 活性 (Fv/Fm) にも変化が見られない。しかし、この sqd2 変異体と PG 合成のノックダウン変異体 (pgp1-1) との二重変異 体 (sqd2pgp1-1) では、PSII 内の QA の再酸化が起こり にくくなることや、DCMU に対しての感受性が高まる ことが報告されており⁴¹⁾、SQDG は通常条件下では PSII に必要ないが、PG が欠損したときには必要であ ると考えられる。また、野生株をリンが欠乏した培地 で生育させると PG が減少し、SQDG が増加するとい う現象が観察され、sqd2変異体ではリン欠乏下での生 育が野生株に比べて悪くなる⁴⁰⁾。このことは、SQDG はリン欠乏条件下において減少する PG の機能の一部 を相補する働きを持つことを示している。

3.4 PG

シアノバクテリアと高等植物の両方において、PG はホスファチジン酸(PA)から CDP-DAG と PG リン 酸(PGP)を介して合成され、PAからPGまでの3つ の反応は順に、CDP-DAG 合成酵素、PGP 合成酵素と PGP ホスファターゼによって触媒される。 Synechocystis sp. PCC 6803 において、CDP-DAG 合成酵 素と PGP 合成酵素の遺伝子を破壊することにより、2 種類の PG 合成欠損株 (cdsA と pgsA) が作製されてい る^{42,43)}。これらの変異株は培地に PG を添加しないと まったく生育できない。そのため、PG を添加した培 地で培養した細胞を PG 無添加の培地に移して増殖さ せ、そのときに細胞あたりの PG 含量の低下に伴って おこる、光合成活性の変化などを調べることによって PGの機能が解析されている。pgsA 変異株の場合には、 細胞を PG 無添加の培地に移してから 3~7 日経過する と、チラコイド膜の PG が減少し、それに伴って光合 成活性が低下する。この細胞の培養液に PG を再添加 すると、光合成活性は元のレベルに回復し、この回復 は他のリン脂質ではおこらない。このことは、PG が 増殖や光合成に必須であることを示している⁴³⁾。PG の含量が減少すると、それに伴ってなぜ光合成活性が 低下するのかについては、光合成の諸過程を詳細に調 べることによって明らかとなった。PG 含量が低下す ると、その影響はおもに PSII で見られ、QAから QBへ の電子伝達が阻害されることで光合成活性が低下す ることが判明した⁴⁴⁾。変異株の細胞の熱発光を測定す ると、PG含量の低下に伴って、QBとS2間の電荷再結 合に由来するBバンドのピークの位置が低温側へシフ トし、DCMU を添加したときに見られる Q_Aと S₂間の 電荷再結合に由来するQバンドのピークの位置に近づ き、PG を再添加すると元の位置にピークがシフトし た。また、DCMU を添加したときのQバンドのピーク の位置は、PG 含量が低下しても変化しなかった。こ れらの結果は、PG 含量が低下すると Q_Aから Q_Bへの 電子伝達が阻害され、それによって QA が蓄積し、 DCMU を添加しなくても、添加したときと同様にQバ ンドの位置にピークがシフトすることを示しており、 QAではなく QBの酸化還元電位に変化が生じているも のと考えられる⁴⁴⁾。これらの知見が得られた後、PSII の X 線結晶構造解析により、Q_Bの近傍に PG (PG772、 図 1C) が結合していることが報告され^{2,3)}、pgsA 変異

株ではこのPG分子が欠失することで Q_B の機能が損な われたものと推定された⁴⁵⁾。一方、桜井らは *pgsA* 株 から PSII 複合体を精製して分析し、単量体の割合が野 生株に比べて高く、表在性タンパク質の含量が減って いることを見出した⁴⁶⁾。*dgdA* 変異株と同様、各表在 性タンパク質を欠損させた *psbO*、*psbV* と *psbU* 変異株 との比較により、PsbU と PsbV もしくは PsbO が *in vivo* においても機能的に PSII に結合していないことが示 唆された。

pgsA株を14日以上PG無添加培地で生育させると、 PSII に加えて PSI の活性も低下する⁴⁷⁾。また、PSI の 単量体が蓄積し、三量体と単量体の比が大きく変化す る。PSIの結晶構造解析の結果から、PGは単量体あた り3分子結合していることがわかっている(図2)。そ のうち、1 分子 (PG1) はコアタンパク質付近に存在 し、残りの 2 分子 (PG2、PG3) は単量体同士の界面 に局在している。PG2 は三量体化に関わっている PsaL とも近接している。pgsA 変異株において PG 含量が低 下すると、PsaLが PSI から解離してモノマーが蓄積し、 PG を再添加すると PsaL が再結合して三量体が形成さ れる⁴⁷⁾。これらの知見は、PG2 が PsaL との結合を介 して PSI の三量体化に関わっていることを示している。 PG3 は PsaB と PsaX のサブユニットに挟まれており、 PsaX と PSI 複合体の結合の安定化に関与している可能 性がある。

シロイヌナズナの PG 合成欠損変異体には、PGP 合 成酵素をコードした *PGP1* 遺伝子に点変異をもつ *pgp1-1*⁴⁸⁾と T-DNA が挿入された *pgp1-2* が分離されて いる^{49,50}。前者は野生株と比べて70%程度、後者は20% 程度の PG を含んでいる。*pgp1-1* では葉の表現型が黄 緑色になるなどの特徴はあるが、光合成活性はそれほ ど変化がない。*pgp1-2* は厳しい表現型を示し、葉緑体 の発達が大きく阻害され、光合成活性の著しい低下が おこり、スクロースを添加していない培地では生育で きない。小林らは、*pgp1-2* 変異体をリン欠乏条件で生 育させると、PG の量がさらに減少し、他の糖脂質 (MGDG、DGDG、SQDG)が増加することを明らか にした⁵¹⁾。しかし、クロロフィルの増加と共に、チラ コイド膜の形成は促進されるものの、PSII の機能は回 復せず、むしろ低下した。このことは、糖脂質は PSII における PG の機能を相補できないことを示している。

4. PSII での PG1 分子ごとの機能解析

PSIIのX線結晶構造解析の結果から、PSIIに存在している5分子のPGと相互作用するタンパク質のアミノ酸残基を推定できるようになった。筆者らはPG分子と相互作用していると推定されるタンパク質のアミノ酸残基を改変した変異株を作製して、各PG分子のPSIIにおける機能を解析している。5分子のPGのうち、PG772はQB付近に存在している(図1C)。このPG772と相互作用するアミノ酸残基はPsbEの5番目のスレオニンと11番目のセリンであり、これらのアミノ酸残基変異株では酸素発生活性が若干低下した。しかし、QAからQBへの電子伝達速度はほとんど変化していないことがわかった。このことからPG772はQBの機能に直接影響を与えない可能性がある。先



図 3. PSII の Q_A付近に存在する PG 分子 PG664、PG694 と PG702 の 3 分子の PG は Q_A、PsbM、PsbL と PsbT の近傍に存在している。D1 タンパク質の Ser-232 と Asn-234 のアミノ酸残基は、それぞれ PG664、PG694 と水素結合していると考えられる。

行研究の PG 合成欠損株を用いた解析では、Q_B近傍の PG が電子伝達反応に関与していると考えられていた が⁴⁵⁾、その結果を覆す新たな知見になるかもしれない (筆者ら、未発表)。

その他の PG 分子のうち、3 分子 (PG664、PG694、 PG702) は Q_A 近傍に存在しており、PG664 と PG694 は D1 タンパク質の 232 番目のセリンと 234 番目のア スパラギンの側鎖との間で水素結合していると考え られる (図 3)⁵²⁾。それぞれのアミノ酸残基をアラニ ンとアスパラギン酸に改変した変異株および両方を 改変した変異株、S232A、N234D と S232AN234D 株を 作製した。この S232AN234D 株から PSII 複合体を精 製し、脂質分析を行ったところ、変異株の PSII では PG が約1分子減少していることが判明した。PG664 と PG694 は QA 近傍に存在しているため、これらの PG 分子が PSII から欠失すると、QAの機能に影響を与え るのではないかと推測された。しかし実際には、Q₄ ではなく QBの酸化還元電位が低下していることが熱 発光測定によって示唆された。そのため、変異株では QAと QBの酸化還元電位の差が小さくなることにより、 Q_Aから Q_Bへの電子伝達速度が遅延するのではないか と考えられる。D1 への部位特異的変異が PG 分子の欠 失を引き起こし、D1 タンパク質の構造変化を介して、 D1に結合しているQBに影響が生じたのではないかと 推定している。また、精製した PSII 複合体の SDS-PAGE の結果、S232AN234D 変異株では PsbV と PsbU の量が 減少していた。結晶構造によれば、PG は表在性タン パク質とは直接結合していないが、D1の部分的な構造 変化が表在性タンパク質との結合に関わっているタ ンパク質(例えば CP47 など)の構造に影響を与え、 それによって表在性タンパク質との結合が不安定化 し、精製段階で解離したのではないかと考えている。 また、PG664と PG694は QAの近傍にあり、PsbT、PsbL と PsbM のヘリックスによって囲まれた領域に位置し ているため、PSII の二量体化に寄与していると推測さ れる。しかし、S232AN234D株のPSIIはほとんど単量 体化しておらず、1 分子の PG の減少では単量体への 解離までは至らないのかもしれない。

残りの PG702 と PG714 については、D2 の 262 番目 のセリン残基と 263 番目のアスパラギン残基、D2 の 231 番目のスレオニン残基と 140 番目のアルギニン残 基とそれぞれ相互作用していることが結晶構造から 推定され、それらのアミノ酸残基を改変した変異株も 作製した。現在、それらの変異株についても解析を進 めている。

5. おわりに

シアノバクテリアや高等植物から、チラコイド膜に 存在する4つの脂質の合成欠損株が分子生物学的手法 によって作製され、それらの変異株を用いた解析から、 光合成における脂質の重要な機能が明らかとなった。 ガラクト脂質や PG はチラコイド膜の形成に必須であ り、酸性脂質である SQDG と PG は膜表面の電荷の調 節に関与しており、PG は他の脂質では担えない機能 をもつことなどがわかってきた。また、最近のX線結 晶構造解析により、各脂質分子が光合成タンパク質複 合体の中でどのような役割をもっているのか、構造に 基づいてある程度推測することもできるようになっ た。しかし、脂質分子は複合体のアセンブリーや修復 のプロセスにも関与しており、それらの動的な過程に おける脂質の機能を結晶構造から推測することは難 しい。さらに変異株を活用し、変異株のチラコイド膜 に蓄積しているアセンブリーや修復過程の中間体を 分離して分析するなどの解析を通して、機能を明らか にして行く必要がある。また、複合体に存在する脂質 1分子ごとの機能についても、筆者らが PG について 行っているように、脂質分子と相互作用しているタン パク質のアミノ酸残基を部位特異的に改変して解析 するなどの手法を駆使して明らかにすることが必要 である。

Received May 22, 2015; Accepted May 25, 2015; Published August 31, 2015

参考文献

- Jordan, P., Fromme, P., Witt, H.T., Klukas, O., Saenger, W. and Krauss, N. (2001) Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution. *Nature* 411, 909– 917.
- Guskov, A., Kern, J., Gabdulkhakov, A., Broser, M., Zouni, A. and Saenger, W. (2009) Cyanobacterial photosystem II at 2.9-Å resolution and the role of quinones, lipids, channels and chloride. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 16, 334–342.

- Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.R. and Kamiya, N. (2011) Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature* 473, 55–60.
- Liu, Z., Yan, H., Wang K., Kuang, T., Zhang, J., Gui, L., An, X. and Chang, W. (2004) Crystal structure of spinach major light harvesting complex at 2.72 Å resolution. *Nature* 428, 287–292.
- Standfuss, J., Terwisscha van Scheltinga, A.C., Lamborghini, M. and Kühlbrandt, W. (2005) Mechanisms of photoprotection and nonphotochemical quenching in pea light-harvesting complex at 2.5 Å resolution. *EMBO J.* 24, 919–928.
- Stroebel, D., Choquet, Y., Popot, J.-L. and Picot, D. (2003) An atypical haem in the cytochrome b₆f complex. *Nature* 426, 413–418.
- Sakurai, I., Shen, J.R., Leng, J., Ohashi, S., Kobayashi, M. and Wada, H. (2006) Lipids in oxygen evolving photosystem II complexes of cyanobacteria and higher plants. *J. Biochem.* 140, 201–209.
- Kubota, H., Sakurai, I., Katayama, K., Mizusawa, N., Ohashi, S., Kobayashi, M., Zhang, P., Aro, E.-M. and Wada, H. (2010) Purification and characterization of photosystem I complex from *Synechocystis* sp. PCC 6803 by expressing histidine-tagged subunits. *Biochim. Biophys. Acta* 1797, 98–105.
- Hasan, S.S., Yamashita, E., Ryan, C.M., Whitelegge, J.P. and Cramer, W. A. (2001) Conservation of lipid functions in cytochrome *bc* complexes. *J. Mol. Biol.* 414, 145–162.
- Hölzl, G., Witt, S., Gaude, N., Melzer, M., Schöttler, M.A. and Dörmann, P. (2009) The role of diglycosyl lipids in photosynthesis and membrane lipid homeostasis in *Arabidopsis. Plant Physiol.* 150, 1147–1159.
- Dubertret, G., Mirshahi, A., Mirth, M., Gerard-Hirne, C. and Tremolieres, A. (1994) Evidence from *in vivo* manipulations of lipid composition in mutants that the D3-*trans*-hexadecenoic acid-containing phosphatidylglycerol is involved in the biogenesis of the light-harvesting chlorophyll *a/b*-protein complex of *Chlamydomonas reinhardtii. Eur. J. Biochem.* 226, 473–482.
- 12. Kim, E.-H., Razeghifard, R., Anderson, J.M. and Chow, W.S. (2007) Multiple sites of retardation of

electron transfer in Photosystem II after hydrolysis of phosphatidylglycerol. *Photosynth. Res.* 93, 149–158.

- Awai, K., Ohta, H. and Sato, N. (2014) Oxygenic photosynthesis without galactolipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 13571–13575.
- Jarvis, P., Dörmann, P., Peto, C.A., Lutes, J., Benning, C. and Chory, J. (2000) Galactolipid deficiency and abnormal chloroplast development in the *Arabidopsis MGD synthase 1* mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 8175–8179.
- Aronsson, H., Schöttler, M.A., Kelly, A.A., Sundqvist, C., Dörmann, P., Karim, S. and Jarvis, P. (2008) Monogalactosyldiacylglycerol deficiency in *Arabidopsis* affects pigment composition in the prolamellar body and impairs thylakoid membrane energization and photoprotection in leaves. *Plant Physiol.* 148, 580–592.
- Kobayashi, K., Kondo, M., Fukuda, H., Nishimura, M. and Ohta, H. (2007) Galactolipid synthesis in chloroplast inner envelope is essential for proper thylakoid biogenesis, photosynthesis, and embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 17216–17221.
- Kobayashi, K., Narise, T., Sonoike, K., Hashimoto, H., Sato, N., Kondo, M., Nishimura, M., Sato, M., Toyooka, K., Sugimoto, K., Wada, H., Masuda, T. and Ohta, H. (2013) Role of galactolipid biosynthesis in coordinated development of photosynthetic complexes and thylakoid membranes during chloroplast biogenesis in *Arabidopsis. Plant J.* 73, 250–261.
- Fujii, S., Kobayashi, K., Nakamura, Y. and Wada, H. (2014) Inducible knockdown of MONOGALACTOSYLDIACYLGLYCEROL SYNTHASE1 reveals roles of galactolipids in organelle differentiation in Arabidopsis cotyledons. Plant Physiol. 166, 1436–1449.
- Wu, W., Ping, W., Wu, H., Li, M., Gu, D. and Xu, Y. (2013) Monogalactosyldiacylglycerol deficiency in tobacco inhibits the cytochrome b₆f-mediated intersystem electron transport process and affects the photostability of the photosystem II apparatus. *Biochim. Biophys. Acta* 1827, 709–722.
- Sakurai, I., Mizusawa, N., Wada, H. and Sato, N. (2007) Digalactosyldiacylglycerol is required for

stabilization of the oxygen-evolving complex in photosystem II. *Plant Physiol.* 145, 1361–1370.

- Awai, K., Watanabe, H., Benning, C. and Nishida, I. (2007) Digalactosyldiacylglycerol is required for better photosynthetic growth of *Synechocystis* sp. PCC6803 under phosphate limitation. *Plant Cell Physiol.* 48, 1517–1523.
- Mizusawa, N., Sakata, S., Sakurai, I., Sato, N. and Wada, H. (2009) Involvement of digalactosyldiacylglycerol in cellular thermotolerance in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Arch Microbiol.* 191, 595–601.
- Mizusawa, N., Sakurai, I., Sato, N. and Wada, H. (2009) Lack of digalactosyldiacylglycerol increases the sensitivity of *Synechocystis* sp. PCC 6803 to high light stress. *FEBS Lett.* 583, 718–722.
- Sakata, S., Mizusawa, N., Kubota-Kawai, H., Sakurai, I. and Wada, H. (2013) Psb28 is involved in recovery of photosystem II at high temperature in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta* 1827, 50–59.
- Dörmann, P., Hoffmann-Benning, S., Balbo, I. and Benning, C. (1995) Isolation and characterization of an *Arabidopsis* mutant deficient in the thylakoid lipid digalactosyl diacylglycerol. *Plant Cell* 7, 1801–1810.
- Kelly, A.A., Froehlich, J.E. and Dörmann, P. (2003) Disruption of the two digalactosyldiacylglycerol synthase genes *DGD1* and *DGD2* in *Arabidopsis* reveals the existence of an additional enzyme of galactolipid synthesis. *Plant Cell* 15, 2694–2706.
- Härtel, H., Lokstein, H., Dörmann P., Grimm, B. and Benning, C. (1997) Changes in the composition of the photosynthetic apparatus in the galactolipid-deficient *dgd1* mutant of *Arabidopsis thaliana. Plant Physiol.* 115, 1175–1184.
- Reifarth, F., Christen, G., Seeliger, A.G., Dörmann, P., Benning, C. and Renger G. (1997) Modification of the water oxidizing complex in leaves of the *dgd1* mutant of *Arabidopsis thaliana* deficient in the galactolipid digalactosyldiacylglycerol. *Biochemistry* 36, 11769–11776.
- Steffen, R., Kelly, A.A., Huyer, J., Dörmann, P. and Renger, G. (2005) Investigations on the reaction pattern of photosystem II in leaves from *Arabidopsis thaliana* wild type plants and mutants with

genetically modified lipid content. *Biochemistry* 44, 3134–3142.

- Guo, J., Zhang, Z., Bi, Y., Yang, W., Xu, Y. and Zhang L. (2005) Decreased stability of photosystem I in *dgd1* mutant of *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 579, 3619–3624.
- 31. Ivanov, A.G., Hendrickson, L., Krol, M., Selstam, E., Oquist, G., Hurry, V. and Huner, N.P. (2006) Digalactosyl-diacylglycerol deficiency impairs the capacity for photosynthetic intersystem electron transport and state transitions in *Arabidopsis thaliana* due to photosystem I acceptor-side limitations. *Plant Cell Physiol.* 47, 1146–1157.
- Güler, S., Seeliger, A., Härtel, H., Renger, G. and Benning, C. (1996) A null mutant of *Synechococcus* sp. PCC7942 deficient in the sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerol. *J. Biol. Chem.* 271, 7501–7507.
- Aoki, M., Sato, N., Meguro, A. and Tsuzuki, M. (2004) Differing involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in photosystem II in two species of unicellular cyanobacteria. *Eur. J. Biochem.* 271, 685–693.
- Van Mooy, B.A.S., Rocap, G., Fredricks, H.F., Evans, C.T. and Devol, A. H. (2006) Sulfolipids dramatically decrease phosphorus demand by picocyanobacteria in oligotrophic marine environments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 8607– 8612.
- Sato, N., Sonoike, K., Tsuzuki, M. and Kawaguchi, A. (1995) Impaired photosystem II in a mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* defective in sulfoquinovosyl diacylglycerol. *Eur. J. Biochem.* 234, 16–23.
- Minoda, A., Sato, N., Nozaki, H., Okada, K., Takahashi, H., Sonoike, K. and Tsuzuki, M. (2002) Role of sulfoquinovosyl diacylglycerol for the maintenance of photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii. Eur. J. Biochem.* 269, 2353–2358.
- Minoda, A., Sonoike, K., Okada, K., Sato, N. and Tsuzuki, M. (2003) Decrease in the efficiency of the electron donation to tyrosine Z of photosystem II in an SQDG-deficient mutant of *Chlamydomonas*. *FEBS Lett.* 553, 109–112.
- 38. Sato, N., Aoki, M., Maru, Y. Sonoike, K., Minoda, A.

and Tsuzuki, M. (2003) Involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in the structural integrity and heat-tolerance of photosystem II. *Planta* 217, 245–251.

- Sato, N., Tsuzuki, M., Matsuda, Y., Ehara, T., Osafune, T. and Kawaguchi, A. (1995) Isolation and characterization of mutants affected in lipid metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii. Eur. J. Biochem.* 230, 987–993.
- Yu, B., Xu, C. and Benning, C. (2002) Arabidopsis disrupted in SQD2 encoding sulfolipid synthase is impaired in phosphate-limited growth. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 5732–5737.
- 41. Yu, B. and Benning, C. (2003) Anionic lipids are required for chloroplast structure and function in *Arabidopsis. Plant J.* 36, 762–770.
- Sato, N., Hagio, M., Wada, H. and Tsuzuki, M. (2000) Requirement of phosphatidylglycerol for photosynthetic function in thylakoid membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 10655–10660.
- Hagio, M., Gombos, Z., Várkonyi, Z., Masamoto, K., Sato, N., Tsuzuki, M. and Wada, H. (2000) Direct evidence for requirement of phosphatidylglycerol in photosystem II of photosynthesis. *Plant Physiol.* 124, 795–804.
- Gombos, Z., Várkonyi, Z., Hagio M, Iwaki, M., Kovács, L., Masamoto, K., Itoh, S. and Wada, H. (2002) Phosphatidylglycerol requirement for the function of electron acceptor plastoquinone Q_B in the photosystem II reaction center. *Biochemistry* 41, 3796–3802.
- Itoh, S., Kozuki, T., Nishida, K., Fukushima, Y., Yamakawa, H., Domonkos, I., Laczkó-Dobos, H., Kis, M., Ughy, B. and Gombos, Z. (2012) Two functional sites of phosphatidylglycerol for regulation of reaction of plastoquinone Q_B in photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 287–297.
- 46. Sakurai, I., Mizusawa, N., Ohashi, S., Kobayashi, M.

and Wada, H. (2007) Effects of the lack of phosphatidylglycerol on the donor side of photosystem II. *Plant Physiol.* 144, 1336–1346.

- Domonkos, I., Malec, P., Sallai, A., Kovács, L., Itoh, K., Shen, G., Ughy, B., Bogos, B., Sakurai, I., Kis, M., Strzalka, K., Wada, H., Itoh, S., Farkas, T. and Gombos, Z. (2004) Phosphatidylglycerol is essential for oligomerization of photosystem I reaction center. *Plant Physiol.* 134, 1471–1478.
- Xu, C., Härtel, H., Wada, H., Hagio, M., Yu, B., Eakin, C. and Benning, C. (2002) The *pgp1* mutant locus of *Arabidopsis* encodes a phosphatidylglycerolphosphate synthase with impaired activity. *Plant Physiol.* 129, 594–604.
- Hagio, M., Sakurai, I., Sato, S., Kato, T., Tabata, S. and Wada, H. (2002) Phosphatidylglycerol is essential for the development of thylakoid membranes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 43, 1456–1464.
- Babiychuk, E., Müller, F., Eubel, H., Braun, H.P., Frentzen, M. and Kushnir, S. (2003) *Arabidopsis* phosphatidylglycerophosphate synthase 1 is essential for chloroplast differentiation, but is dispensable for mitochondrial function. *Plant J.* 33, 899–909.
- Kobayashi, K., Fujii, S., Sato, M., Toyooka, K. and Wada, H. (2014) Specific role of phosphatidylglycerol and functional overlaps with other thylakoid lipids in *Arabidopsis* chloroplast biogenesis. *Plant Cell Rep.* 34, 631–642.
- Endo, K., Mizusawa, N., Shen, J.R., Yamada, M., Tomo, T., Komatsu, H., Kobayashi, M., Kobayashi, K. and Wada, H. (2015) Site-directed mutagenesis of amino acid residues of D1 protein interacting with phosphatidylglycerol affects the function of plastoquinone Q_B in photosystem II. *Photosynth. Res.*, in press

Lipids in Photosynthetic Protein Complexes

Kaichiro Endo, Koichi Kobayashi, Hajime Wada*

Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo

解説

植物のチラコイド膜脂質の合成と葉緑体発達における役割[‡]

東京大学大学院 総合文化研究科 広域科学専攻 小林 康一*

チラコイド膜の大規模な形成を伴う葉緑体の発達は、細胞内で起こる最も顕著な形態変化の一つであ り、光独立栄養成長を行う植物にとって必須のプロセスである。チラコイド膜は脂質二重層を基本構 造とし、そこに光合成色素やタンパク質が適切に配置されることで機能する。そのため、チラコイド 膜の発達と光合成装置の構築には、脂質の合成が色素やタンパク質と協調的に行われる必要があり、 このプロセスが葉緑体の分化・発達を決定づける一つの要因となっている。本稿では、高等植物にお けるチラコイド膜脂質の合成とその制御を解説し、脂質合成が葉緑体発達の他のプロセスとどのよう に関連するのかについて、最近の知見を交えて紹介する。

1. はじめに

チラコイド膜は光合成電子伝達や ATP 合成の場で あり、その形成は光独立栄養成長を行う植物やシアノ バクテリアにとって欠かせないプロセスである。チラ コイド膜は脂質二重層を土台に、光化学系複合体やシ トクローム bd 複合体、ATP 合成酵素などが埋め込ま れることで形成される。糖脂質を主成分とする葉緑体 の脂質組成はシアノバクテリアとよく似る一方で、そ の他の植物細胞のオルガネラ膜とはまったく異なっ ているため、酸素発生型の光合成において特殊な役割 を持つと古くから考えられてきた。光合成におけるチ ラコイド膜脂質の機能は、特にシアノバクテリアにお いて詳細に解析されており、X 線結晶構造解析や生化 学的な解析から、光化学系Ⅰや光化学系Ⅱ複合体に脂 質が存在し、重要な構成要素となっていることが示さ れている。また、変異体解析から、脂質が光化学反応 や電子伝達反応に深く関わっており、光化学系複合体 の構造や機能の維持に必須なことも分かってきてい る。植物においても、リパーゼ処理を施した単離葉緑 体の解析やシロイヌナズナの変異体解析から、脂質が 光合成の反応に必須であることが明らかとなってお り、光合成における膜脂質の役割が注目されている¹⁾。 チラコイド膜の基本構造を担う脂質の合成は、光合

成装置の構築やチラコイド膜形成に必須であり、葉緑 体の発達における最も重要なプロセスの一つである。 光合成反応系を安全かつ効率的に構築するには、チラ コイド膜脂質が光合成色素やタンパク質と協調的に 合成され、それらと適切に組み合わされる必要がある。 光合成における脂質の役割については本特集の遠藤 らによる解説¹⁾で詳しく述べられているので、本稿で は、植物の脂質合成経路や、チラコイド膜構築におけ る脂質の役割に加え、葉緑体発達制御と脂質合成との 関わりについて最近明らかになってきた知見を紹介 する。

2. 葉緑体脂質の組成と性質

チラコイド膜に含まれる代表的な脂質の構造を図 1 に示す。葉緑体チラコイド膜の脂質組成はリン脂質を 主成分とする一般的な生体膜とは大きく異なり、その 90%近くをモノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG)、ジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG)、スルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG)の3種のグリセロ糖脂質が占める²⁾。主要 リン脂質としては唯一ホスファチジルグリセロール (PG)がチラコイド膜に豊富に存在し、残りの約10% を構成する。葉緑体内包膜の脂質組成もチラコイド膜 と非常に良く似るが、外包膜では、葉緑体以外の膜の 主要脂質であるホスファチジルコリン (PC)やホスフ ァチジルイノシトール(PI)の割合が増える³⁾(図2A)。

^{*}解説特集「光合成と脂質」

^{*}連絡先 E-mail: kkobayashi@bio.c.u-tokyo.ac.jp



図 1. チラコイド膜脂質の構造と性質

チラコイド膜の主要脂質はその構造や性質から、糖脂質 (MGDG、DGDG、SQDG) とリン脂質 (PG)、非荷電脂質 (MGDG、 DGDG) と酸性 (陰イオン性) 脂質 (SQDG、PG)、非ラメラ脂質 (MGDG) とラメラ脂質 (DGDG、SQDG、PG) に分類 される。R₁、R₂: 炭素長 15 もしくは 17 のアルキル鎖。

MGDG、DGDG、SQDG は非光合成色素体においても 主要膜脂質である一方⁴⁾、これらの糖脂質は色素体以 外のオルガネラ膜ではほとんど見られない^{5,6)}(図 2B) (後述するように、例外としてリン欠乏時には DGDG が色素体外の膜に蓄積する)。葉緑体の脂質組成はシ アノバクテリアと非常に近いことから^{7,8)}、葉緑体の特 殊な脂質組成はシアノバクテリアとの細胞内共生の 際に植物にもたらされ、現代まで大きく変わることな く保存されてきた可能性が高い。しかしながら、ガラ クト脂質の合成経路やそれに関わる酵素遺伝子は植 物とシアノバクテリアで大きく異なることから⁹⁾、両 者は共通の脂質組成を維持しつつも、遺伝子レベルで は別々の進化を遂げてきたと考えられる。

MGDG の疎水性尾部は、ヘキサデカトリエン酸 (C16:3)やオクタデカトリエン酸(リノレン酸、C18:3) といった折れ曲がりの多いシス型多価不飽和脂肪酸 で構成されるのに対し、極性頭部はガラクトース1分 子のみなので、極性頭部が相対的に小さいコーン型の 立体構造を持つ。その結果、MGDG 単独ではラメラ構 造を作れず、代わりにヘキサゴナル II とよばれる非二 分子膜構造をとる(図3)。一方、DGDG や SQDG、PG は極性頭部と疎水性尾部のバランスがよく、シリンダ 一型の立体構造を持つため、水溶液中で二分子膜構造 を形成する¹⁰⁾。チラコイド膜の MGDG:DGDG 比は 2:1



図 2. 膜の脂質組成の比較

(A) ホウレンソウから単離された葉緑体のチラコイド膜²⁾、内包膜³⁾、外包膜³⁾、およびカリフラワー花芽から単離され た色素体包膜⁴⁾の脂質組成。(B) シロイヌナズナのオルガネラ膜(葉緑体⁴³⁾、ミトコンドリア⁵⁾、細胞膜⁶⁾)とシアノバク テリア *Synechocystis* sp. PCC 6803⁸⁾の膜脂質組成の比較。 に近い値をとることが知られており、この組成がチラ コイド膜特有の構造に重要である可能性が示唆され ている。MGDGと同様に非ラメラ脂質で、ヘキサゴナ ルII構造を作るホスファチジルエタノールアミン(PE) がチラコイド膜や内包膜にまったく含まれないのは、 興味深い点である。また、ラメラ脂質である DGDG は、 リンが欠乏したような条件下では細胞膜やミトコン ドリア膜などの色素体外の膜にも局在し^{5,11)}、リン脂 質、とくに同じく主要ラメラ脂質である PC の機能を 代替することが示唆されている。

MGDG と DGDG が電荷をもたない脂質であるのに 対し、SQDG と PG は酸性脂質であり、極性頭部に負 電荷を持つ(図1)。そのため、SQDG と PG はある程 度相補的な関係にあり、その機能はガラクト脂質では 置き換えることができないと考えられている。実際、 リンを欠乏した生育条件では、リン脂質である PG の 量が減少する代わりに SQDG が増加し、膜の酸性脂質 の総量を一定に保つことが知られている¹²⁾。一方で、 PG を欠損したシアノバクテリアやシロイヌナズナの 変異体では光合成活性が著しく損なわれることから、 SQDG でも代替できない PG 独自の機能があることも 分かっている¹⁾。



(A) 疎水性尾部に対し極性頭部の体積の占める割合が 小さい MGDG はコーン型をしており、ヘキサゴナル II

ハミマ MODG はニーン 呈をしており、 ペパリニアル n
 とよばれる、極性頭部を内側に集合した構造をとりやすい。(B) DGDG、SQDG、PG はシリンダー型をしており、
 水溶液中で二分子膜構造を形成する¹⁰。

高等植物のチラコイド膜脂質合成経路 3.1. ガラクト脂質合成経路

植物における主要チラコイド膜脂質の合成経路を

図4に示す。植物では、ガラクト脂質(MGDG、DGDG) の合成は色素体包膜で行われる¹³⁾。まず、MGDG 合成 酵素により UDP-ガラクトースのガラクトース分子が ジアシルグリセロール (DAG) に転移され、MGDG が 合成される。合成された MGDG の多くはチラコイド 膜などの脂質二重層の形成に使われるが、一部は DGDG 合成の基質となる。ほとんどの DGDG は、 MGDG にもう1分子のガラクトースが UDP-ガラクト ースから転移され合成される。この反応は、DGDG 合 成酵素によって触媒される。それに加え、MGDG のみ を基質に連続的に糖転移反応がおこり、DGDG や、さ らにガラクトース分子が付加されたトリガラクトシ ルジアシルグリセロール (TGDG) やテトラガラクト シルジアシルグリセロール (TeDG) などのオリゴガ ラクト脂質を合成する経路も存在する¹³⁾。この反応は SFR2 (SENSITIVE TO FREEZING 2) によって行われ、 DGDG 合成酵素とは異なったアノマーの DGDG 分子 を生成する¹⁴⁾。DGDG 合成酵素が二つ目のガラクトー ス分子を al.6 配位で転移するのに対し、SFR2 は連続 的に β1.6 配位で転移するため、この酵素によって合成 される DGDG やオリゴガラクト脂質はすべて Bアノマ ーとなる。

高等植物の MGDG 合成酵素はタイプ A とタイプ B の2タイプに分けられ、シロイヌナズナにはタイプA として MGD1 が、タイプ B として MGD2 と MGD3 が 存在する¹⁵⁾。MGD1は光合成器官の細胞で強く発現し、 葉緑体内包膜に局在する¹⁶⁾。通常の生育条件下では、 MGDG 合成の大部分は MGD1 によって行われ、MGD1 のノックアウト変異体 (mgd1-2) ではチラコイド膜の 発達がほとんど見られなくなる¹⁷⁾。一方、MGD2 と MGD3 は緑色組織ではほとんど発現せず、その細胞内 局在も MGD1 と異なり、色素体の外包膜である¹⁶⁾。 MGD2 と MGD3 はリン欠乏時や花粉管伸長時などの 特殊な条件で強く発現し¹⁸⁾、おもに DGDG 合成のた めの基質を供給する。mgd2mgd3 二重変異体はリン欠 乏条件下でのみ表現型を示すことから、リン欠乏時に 特に重要な働きをするアイソフォームであると言え 3¹⁹⁾

DGDG 合成酵素にも、DGD1 と DGD2 の二つのアイ ソフォームが存在することがシロイヌナズナやその 他の被子植物で確認されており、ともに葉緑体外包膜 に局在する¹³⁾。DGD1 は MGD1 とともに働き、チラコ



図 4. 植物のチラコイド膜脂質とそれに関連した脂質の合成経路

代謝の流れを矢印で、脂質中間体や最終産物は灰色のボックスで示す。反応に関わる酵素名は太字で示され、シロイヌナ ズナで明らかとなったものである。アスタリスク(*)は、葉緑体外に局在する酵素を示す。

イド膜形成に必要な DGDG の大部分を合成する。それ に対し、DGD2 は MGD2/MGD3 とともに、おもにリン 欠乏時の DGDG 合成に貢献する。*dgd1* 変異体では DGDG 量が野生株の 10%程度にまで減少し²⁰⁾、さらに *dgd2* との二重変異により検出限界レベルとなる²¹⁾。し かし、*dgd1dgd2* 二重変異体においてもごくわずかに DGDG が合成され、それらは SFR2 に由来すると思わ れる。SFR2 は通常のガラクト脂質合成にほとんど寄 与しないが、低温条件下での凍結耐性獲得に必要であ ることが、シロイヌナズナの変異体解析により示され ている¹⁴⁾。SFR2 は、非ラメラ脂質である MGDG を、 ラメラ脂質であり極性頭部の水和量が多い TGDG や TeDG といったオリゴガラクト脂質に変換することで、 凍結するような条件下で膜を安定化すると考えられ ている。

3.2. SQDG 合成経路

SQDG を合成するには、基質となる UDP-スルホキ ノボースが作られる必要がある。まず、色素体内でグ ルコース-1-リン酸と UTP から UDP-グルコースが作ら れる。シロイヌナズナでは、この反応は UDP-glucose pyrophosphorylase 3 (UGP3) によって触媒される²²⁾。 次に、UDP-スルホキノボース合成酵素 (SQD1) によ って UDP-グルコースが UDP-スルホキノボースに変換

される¹²⁾。最後に、SGDG 合成酵素(SOD2)が UDP-スルホキノボースの糖残基を DAG に転移し、SQDG が完成する²³⁾。シロイヌナズナの UGP3、SOD1、SOD2 のノックアウト変異体はどれも SODG をまったく合成 できないため^{22,23)}、これらはすべて SODG 合成に必須 の遺伝子である。UGP3、SQD1 および SQD2 の発現は いずれもリン欠乏条件下で上昇し、それに伴い SODG 合成量も増加する。また、SQD2 は SQDG 合成に加え、 別の酸性糖脂質であるグルクロノシルジアシルグリ セロール (GlcADG) の合成にも関わることが最近明 らかとなった²⁴⁾。シロイヌナズナ野生株や ugp3、sqd1 変異体ではリン欠乏条件下で GlcADG が蓄積するが、 sqd2 では蓄積が見られないため、SQD2 の活性が GlcADG の合成に必要であることが示された。直接的 な証拠はまだないが、SQD2 は UDP-グルクロン酸と DAG を基質に GlcADG を合成すると推測されている。

3.3. PG 合成経路

植物のPG合成は、葉緑体、ミトコンドリア、ERの 3 つの細胞小器官で行われる。PG合成の最初のステッ プはホスファチジン酸(PA)からCDP-DAGへの変換 であり、CDP-DAG合成酵素(CDS)によって行われ る。合成された CDP-DAG は PG リン酸(PGP)合成 酵素によって PGP に変換され、さらに PGP ホスファ ターゼによる脱リン酸化を受け、PG となる。ミトコ ンドリアでは、PG はさらにカルジオリピン (CL) へ と代謝される。

シロイヌナズナの CDS は CDS1 から CDS5 までアイ ソフォームがあり、そのうち CDS1、CDS2、CDS3 は ER に²⁵⁾、CDS4 と CDS5 は色素体に局在する²⁶⁾。CDS 活性は植物のミトコンドリアからも検出されている が、ミトコンドリアに局在する CDS は今のところまだ 見つかっていない。PGP 合成酵素は PGP1 と PGP2 の 二つのアイソフォームがシロイヌナズナに存在する。 PGP1 が色素体とミトコンドリアの両方に局在するの に対し²⁷⁾、PGP2 は ER に局在することが分かってい る²⁸⁾。*PGP1*のノックアウト変異体では、葉緑体の発 達が著しく損なわれる一方で、ミトコンドリアの形態 は影響を受けない^{27,29)}。しかし、ミトコンドリアの PGP 合成活性自体は PGP1 変異体で大きく低下している²⁷⁾。 このことは、ER における PGP2 活性はミトコンドリア での PGP1 欠損を相補するが、葉緑体での PGP1 欠損 を相補できないことを示唆している。pgp2 変異体は、 それ単独ではとくに明らかな表現型を示さないが、 PGP1 ノックアウト変異体である pgp1-2 との二重変異 により胚性致死になることから、PGP2はPGP1の相補 的な機能を果たすことが分かっている²⁸⁾。

PG 合成の最後のステップを触媒する PGP ホスファ ターゼは、高等植物ではまだ同定されていないが、酵 母の PGP ホスファターゼである Gep4p のオルソログ が緑藻のクラミドモナスからクローニングされ、酵母 の Δgep4 変異体を相補することが最近明らかにされて いる ³⁰。今後の詳細な解析が期待される。

4. チラコイド膜の形成や機能における脂質 の役割

チラコイド膜は、脂質二重層にタンパク質や色素な どが適切に配置されることで形成されるため、土台と なる脂質の組成は、チラコイド膜の形成や機能に大き く影響する。光合成電子伝達反応における脂質の機能 は本特集の遠藤らによる解説で詳しく述べられてい るので¹⁾、ここでは高等植物で明らかとなったチラコ イド膜の構築や機能維持における脂質の役割を解説 する。

*MGD1*の発現量が野生株の25%程度まで減少したシ ロイヌナズナの *mgd1-1* 変異体では、MGDG 含量が野 生株の 60%に低下するが、DGDG の割合はほとんど変 わらない³¹⁾。その変異体では、チラコイド膜形成量が 若干減少し、膜の構造にも多少変化が見られた。同様 の現象はトウモロコシやタバコの変異体でも観察さ れている^{32,33)}。興味深いことに、mgdl-1 変異体では、 強光条件下でチラコイド膜のプロトン透過性が増加 することでプロトン駆動力が減少し、キサントフィル サイクルによる光防護機能が低下することが報告さ れている³⁴⁾。また、*in vitro* での解析から、MGDG は ヘキサゴナル Ⅱ構造を膜上で作ることで、ビオラキサ ンチンなどのキサントフィル類をチラコイド膜に溶 けやすくすることが分かっている³⁵⁾。さらに、MGDG はビオラキサンチンデエポキシダーゼのチラコイド 膜への結合を仲介し、LHCII に結合したビオラキサン チンの変換を促進することが示された³⁶⁾。これらの結 果から、MGDG はチラコイド膜のプロトン駆動力を維 持すると共に、ビオラキサンチンの脱エポキシ化を促 進することで、チラコイド膜の光防護応答に寄与する と考えられる。一方、MGD1 のノックアウト変異体 *mgd1-2*では、MGDG だけでなく DGDG の合成量も著 しく低下し、ガラクト脂質の割合が野生株の3%程度 まで減少する17)。その結果、葉の色素体においてもチ ラコイド膜の形成がほとんど見られなくなることか ら、チラコイド膜形成にガラクト脂質が必須であるこ とが明らかである。面白いことに、mgd1-2をリン欠乏 条件下で生育すると、タイプ B の *MGD2* と *MGD3* の 活性化により DGDG が蓄積し、チラコイド膜様の内膜 構造がみられるようになった 37)。それと同時にクロロ フィルや光化学系のタンパク質の蓄積も起こったが、 光合成活性はまったく回復しなかった。このことは、 DGDG の蓄積は光化学系を含む内膜構造の形成を誘 導できるが、MGDG 無しでは正常な光合成電子伝達反 応を行えないことを示唆している。

一方、シアノバクテリアにおける解析から、チラコ イド膜を形成するための脂質成分は、必ずしもガラク ト脂質である必要はないことが最近明らかとなった。 植物がUDP-ガラクトースとDAGから一段階の反応で MGDGを合成するのに対し、シアノバクテリアは、ま ず前駆体としてモノグルコシルジアシルグリセロー ル(GlcDG)を合成し、その後、極性頭部のグルコー スをガラクトースに異性化することで MGDG を合成 する⁹。この異性化を触媒する酵素遺伝子 *mgdE* が同 定され、Synechocystis sp. PCC 6803 において mgdE 破壊 株が作成された³⁸⁾。mgdE 変異体はガラクト脂質を合 成できない代わりに前駆体の GlcDG を蓄積するのだ が、興味深いことに、この変異体はチラコイド膜を形 成し、完全ではないが光合成も行うことが示された。 この結果は、チラコイド膜の形成や機能にガラクト脂 質は必須ではなく、バルクの構成成分としては GlcDG で代替可能であることを示唆している。植物でも同じ ことがいえるのか、今後の研究の進展が待たれる。

DGDG がチラコイド膜の形態に与える影響は、 DGDG の合成欠損変異体を用いて明らかにされてい る。dgd1 や dgd1dgd2 二重変異体では、チラコイド膜 が著しく湾曲し、膜のないストロマ領域が広範囲に生 じることから、DGDG はチラコイド膜の形態の維持に 重要であることが分かる^{20,39)}。DGDG はシリンダー型 のラメラ脂質であり、in vitro の解析により DGDG が 膜のラメラ構造の維持に重要であることが示されて いることから⁴⁰⁾、DGDG 欠失変異体では、DGDG と非 ラメラ脂質である MGDG との比が大きく変わること で、チラコイド膜の形態が異常になるのかもしれない。 DGDG のガラクトースの重要性を確かめるために、 Hölzl らはバクテリアの糖転移酵素をシロイヌナズナ の DGDG 欠損変異体に導入し、DGDG の代わりにグ ルコシルガラクトシルジアシルグリセロール (GGD) を合成させることに成功した^{39,41)}。GGD を蓄積した dgd1 や dgd1dgd2 ではチラコイド膜の異常な湾曲が見 られなくなったことから、チラコイド膜の正常な形態 には、極性頭部のガラクトース特有の性質というより も、DGDGの糖が二つ連なった構造が重要であること が示された。一方で、光合成電子伝達反応においては、 GGD の蓄積は DGDG 欠損の影響を部分的にしか相補 しなかったことから、ある種の光合成反応には DGDG の2番目のガラクトースの構造が必須であると考えら れる。

酸性脂質である PG や SQDG も、チラコイド膜の形 成や形態に大きな影響を与える。葉緑体の PG 合成を 欠損した pgp1-2 変異体ではチラコイド膜がほとんど 形成されず、代わりに小胞や大きな空胞構造が色素体 内にみられる^{29,42)}。pgp1-2 をリン欠乏条件下で生育す るとガラクト脂質や SQDG の合成が活性化され、チラ コイド膜様の構造が形成されることから⁴²⁾、糖脂質、 特におそらく SQDG が多量に合成されれば、チラコイ ド膜形成における PG の役割を相補できると考えられる。しかし、リン欠乏下でチラコイド膜を形成した pgp1-2 においても、依然として色素体内に異常な空胞 構造が多数見られた。よって、PG の存在は色素体内 の膜の動態に強く影響すると思われる。

PG の欠損が植物のチラコイド膜形成を著しく阻害 する一方、SQDG の欠損はチラコイド膜の構造に明ら かな影響を与えない⁴³⁾。しかし、PGP1 のアミノ酸置 換変異により PG の含量が約 35%減少した pgp1-1 変異 体と sqd2 との二重変異体では、チラコイド膜の形成が 若干阻害されグラナスタックが減少することから⁴³、 SQDG がチラコイド膜形成における PG の機能を部分 的に相補することは明白である。シロイヌナズナと異 なり、緑藻のクラミドモナスでは、SQDG の合成を阻 害するだけでチラコイド膜の異常な湾曲を引き起こ す⁴⁴⁾。また、シアノバクテリアでは、SQDG 合成を必 須とする種 (Synechocystis sp. PCC 6803 など)と、し ない種 (Synechococcus elongatus PCC 7942 など)がい ることから⁴⁵⁾、SQDG の要求性は生物種によって大き く異なるのかもしれない。

5. 光合成装置の構築と協調したガラクト脂 質合成

不完全な光合成反応は活性酸素を生じ細胞を傷つ けるため、葉緑体や光合成装置の形成は生育段階や環 境に応じて厳密に制御されている。チラコイド膜の発 達は葉緑体発達のなかでもっとも顕著な形態的変化 であり、多量の脂質合成を必要とする。そのため、脂 質の合成はクロロフィルや光合成タンパク質の合成 や光合成装置の構築と協調する必要がある。

山領ら⁴⁰はキュウリの暗所芽生えを用いて、ガラクト脂質合成の活性化には、植物ホルモンのサイトカイ ニンによる MGD1 の発現誘導と、光による酵素レベル での活性化の両方が重要であることを明らかにした。 その後の研究から、MGD1 は in vitro で葉緑体型のチ オレドキシンf および m による還元をうけて活性化さ れることが分かった⁴⁷⁾。チオレドキシンは、葉緑体の 転写/翻訳、カルビンサイクルやクロロフィル合成、光 化学系の構築など、葉緑体発達に関わる様々なプロセ スの光レドックス制御に関与しており、MGD1 の酵素 活性の調節もその協調的制御の一つだと考えられる。 興味深いことに、脂肪酸合成のキーステップを担うア セチル CoA カルボキシラーゼも、葉緑体チオレドキシ ンによる光レドックス制御を受けることが報告され ている⁴⁸⁾。そのため、ガラクト脂質合成とそれに必要 な新規の脂肪酸合成は、チオレドキシンシステムによ って光合成電子伝達の活性とリンクしている可能性 が考えられる。

また、レドックス制御に加え、MGDG 合成酵素は酸 性脂質である PAや PG によって活性化されることが、 in vitro における解析から分かっている⁴⁹⁾。PA はガラ クト脂質合成の前駆体であり、また、PG はガラクト 脂質と共にチラコイド膜を構成する主要脂質である ことから、これらの脂質が実際にチラコイド膜形成時 に MGDG 合成を活性化する可能性は十分考えられる。 MGD1の酵素レベルでの制御の重要性は、緑色硫黄細 菌の MGDG 合成酵素を用いた解析から示唆されてい る。 増田ら⁵⁰⁾は、 緑色硫黄細菌の Chlorobaculum tepidum から MGDG 合成酵素(MgdA)を同定し、その遺伝子 を用いて mgd1-2 の相補実験を行った。C. tepidum の mgdAを発現した mgd1-2 は野生株と同程度までガラク ト脂質を蓄積し、正常な光合成能を示した一方で、一 部の葉緑体においてチラコイド膜の異常な発達が観 察された。MgdA は植物の MGDG 合成酵素とはまった く別のタイプの糖転移酵素であり、MGD1とは異なる 活性制御を受けると考えられる。そのため、mgdA に よる mgd1-2 相補体では、タンパク質レベルでの活性 制御の違いにより、チラコイド膜形成の制御が正常に 働かずに膜の異常発達を引き起こしたのかもしれな い。

ガラクト脂質合成は、タンパク質レベルでの活性化 に加え、転写レベルでも葉緑体発達と協調した制御を 受ける。山領ら⁴⁶⁾による解析では、暗所発芽したキュ ウリの黄化子葉に光を当てると*MGD1*の発現量が顕 著に増加するが、黄化子葉を胚軸から切り離した場合 では、*MGD1*の誘導は低く抑えられた。一方、切除し た黄化子葉にサイトカイニンを処理すると、暗所にお いても光照射と同様に*MGD1*の発現が誘導された。サ イトカイニンはキュウリなどの子葉では根や茎から 子葉へと輸送され、光シグナルの下流で緑化促進に働 くといわれており、キュウリ*MGD1*の発現においても、 サイトカイニンが決定的な役割を果たしていると考 えられる。

サイトカイニンシグナルの重要性はその後シロイ

ヌナズナでも確かめられており、*MGD1* だけでなく *DGD1* の光による発現誘導にも関わることが明らかと なった^{18,51)}。クロロフィル合成に関わる *CHLH* やアン テナタンパク質をコードする *LHCB6* と同様に、*MGD1* や*DGD1* は光によって発現が誘導されるが、サイトカ イニン受容体の変異体では、光誘導が起こらなかった。 また、光シグナル因子の HY5 や葉緑体発達因子の GLK といった転写因子も、*MGD1* や *DGD1* の発現に大きな 影響を与えることが分かった。これらの因子はすべて、 クロロフィル合成や光合成に関わる核コードの遺伝 子の発現調節に深く関わっており、*MGD1* や *DGD1* と の共発現においても、重要な役割を担っていると考え られる。

我々はまた、遺伝子発現制御がガラクト脂質合成と 光合成装置の形成との協調に関わる可能性を明らか にした 51)。クロロフィル合成を欠損した変異体では、 MGD1やDGD1の発現が抑制された。さらに、カロテ ノイド合成阻害剤であるノルフルラゾンを処理した 子葉では、光合成関連遺伝子の発現とともに、MGD1 やDGD1の発現が強く抑制されることも分かった。こ のように、葉緑体の機能が阻害されると、その状態が 核に伝えられ、葉緑体機能に関連する遺伝子の発現が 変化することが知られており、その情報伝達に関わる 因子をプラスチドシグナルと呼ぶ⁵²⁾。葉緑体の機能が 阻害されても核の光合成関連遺伝子の発現抑制が強 く起きない変異体のスクリーニングから、プラスチド シグナリングにおいて中心的な役割を果たす因子で ある GENOMES UNCOUPLED 1 (GUN1) が見出され ている^{53,54)}。MGD1 や DGD1 の発現を gun1 変異体で 調べたところ、野生株ではノルフルラゾン処理で発現 が強く抑制されるところが、gunl 変異体ではほとんど 抑制されなかった⁵¹⁾。これらの結果は、ガラクト脂質 合成を担う遺伝子も、他の核コードの光合成関連遺伝 子と同様に、葉緑体の機能状態に応じて GUN1 による 発現制御を受けることを示している。

6. 協調的な葉緑体発達制御に果たすチラコ イド膜脂質の役割

葉緑体の機能状態がガラクト脂質合成を制御する 一方で、脂質合成もまた、葉緑体の発達制御に密接に 関わることが、脂質合成の変異体解析から明らかとな ってきている。

シロイヌナズナの MGD1 ノックアウト変異体であ る mgd1-2 では、チラコイド膜はほとんど形成されず、 代わりに内包膜がストロマ側へ陥入したような膜構 造が見られる^{17,37)}。内包膜の陥入構造は MGDG 合成 酵素特異的な阻害剤である galvestine-1 を処理したシ ロイヌナズナの葉の色素体でも見られたことから⁵⁵⁾、 MGDG 合成の阻害に起因するものと思われる。このよ うな膜構造は、成熟した野生株の葉緑体では見られな いが、葉緑体発達の極めて初期の段階における未発達 な色素体でしばしば観察される⁵⁶⁾。そのため、MGDG 合成阻害によりみられる内包膜の陥入構造は、内包膜 からのチラコイド膜形成が非常に初期の段階で阻害 された結果なのかもしれない。mgd1-2 ではチラコイド 膜の形成阻害に加え、色素体の核様体が凝集したよう な構造が見られる³⁷⁾。核様体は葉緑体の発達に伴い、 その局在や形態を大きく変化させることが知られて おり、チラコイド膜の形成と密接に関わっている。原 色素体のような未成熟な色素体では、核様体はストロ マの中央付近に局在するが、葉緑体へと発達する過程 で包膜に近接して存在するようになり、チラコイド膜 が高度に発達する段階になると、核様体は小さな粒子 として全体的に分布する 57,58)。包膜とチラコイド膜に はそれぞれ核様体に結合するタンパク質があり、核様 体を膜にアンカーする役割があると推測されており、 葉緑体の発達に伴う核様体のダイナミックな変化に 関係しているのかもしれない。興味深いことに、リン 欠乏条件下で生育した mgd1-2 では、MGD2 や MGD3 の活性化によりチラコイド様の内膜構造が形成され るとともに、核様体の大きさや分布も変わり、形成さ れた内膜の近傍に見られるようになった³⁷⁾。これらの 結果は、脂質合成によるチラコイド膜の形成が、核様 体の形態や分布に大きな影響を与えることを示唆し ている。

ガラクト脂質合成は核様体の分布に影響を与える だけでなく、葉緑体や核にコードされた遺伝子の発現 にも関わることが分かった³⁷⁾。mgd1-2 では、psaA や psbA などの葉緑体にコードされた光化学系反応中心 タンパク質の遺伝子や、LHCB6 や CHLH などの核コー ドの光合成関連遺伝子の発現が著しく抑制されてい た。人工マイクロ RNA を用いて MGD1 の発現を発芽 初期特異的に抑制した実験からも、同じ結果が得られ ている⁵⁹⁾。しかしながら、mgd1-2 をリン欠乏にするこ

とで内膜形成を誘導させると、抑制されていた光合成 関連遺伝子の発現が有意に回復した³⁷⁾。興味深いこと に、PG 合成を欠損した pgp1-2 の解析からも同様の結 果が得られた⁴²⁾。すなわち、pgp1-2変異体では、葉緑 体や核コードの光合成関連遺伝子の発現が抑制され るが、リン欠乏により糖脂質合成を活性化することで、 それらの発現抑制が弱まることが分かった。このよう な現象はクロロフィル合成の変異体では見られなか ったことから³⁷⁾、チラコイド膜脂質合成の変異体に特 異的なものである可能性が高い。mgd1-2 も pgp1-2 も リン欠乏条件下で光合成電子伝達活性を示さないこ とから、チラコイド膜脂質合成は、光合成反応とは独 立したかたちで、葉緑体や核にコードされた光合成関 連遺伝子の発現に影響すると考えられる。葉緑体の脂 質合成がどのように遺伝子発現に影響を与えるのか は不明であるが、ヌクレオイドの凝集状態が葉緑体ゲ ノムの転写活性に影響することが分かっているので 60)、ヌクレオイドの状態変化を介して葉緑体コードの 遺伝子発現に影響している可能性が考えられる。また、 葉緑体ゲノムの転写・翻訳はプラスチドシグナルを介 して核コードの遺伝子発現と協調することが知られ ているので 52)、チラコイド膜の状態が葉緑体の転写・ 翻訳を介したプラスチドシグナルによって核に伝わ り、核の光合成関連遺伝子の発現調節につながるのか もしれない。これらの点については、今後の究明が必 要である。

7. おわりに

本稿では、チラコイド膜脂質の合成経路とその制御 機構、ならびに脂質合成がチラコイド膜の発達や光合 成装置の形成に果たす役割について、これまでの知見 と最新の成果を紹介した。クロロフィルの合成制御や 光化学系のアセンブリーに関して理解が一段と進む 一方で、葉緑体の発達制御における脂質合成の関与や その制御機構については、ようやくその一端が分かっ てきたところである。シロイヌナズナの mgd1-2 や pgp1-2 変異体でみられるように、チラコイド膜脂質の 欠失は植物の生育全般に著しい影響を与えるため、特 定のプロセスにおける脂質合成の役割を明らかにす るには限界がある。著者らは、デキサメタゾン依存的 に発現する人工マイクロ RNA により、MGD1の発現 を任意のタイミングで抑制することで、特定のプロセ スにおける MGDG 合成の影響や役割の解明を試みて いる。今後このような解析をきっかけに、脂質が光合 成色素やタンパク質とともに協調的にチラコイド膜 を形成するしくみや、葉緑体の発達制御に果たす役割 が解明されていくと期待される。

Received June 1, 2015; Accepted June 18, 2015; Published August 31, 2015

参考文献

- 遠藤嘉一郎,小林康一,和田元 (2015) 光合成タンパク質複合体と脂質. 光合成研究 25,116-125.
- Dorne, A., Joyard, J. and Douce, R. (1990) Do thylakoids really contain phosphatidylcholine? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 71–74.
- Block, M.A., Dorne, A.-J., Joyard, J. and Douce, R. (1983) Preparation and characterization of membrane fractions enriched in outer and inner envelope membranes from spinach chloroplasts. II. Biochemical characterization. *J. Biol. Chem.* 258, 13281–13286.
- Alban, C., Joyard, J. and Douce, R. (1988) Preparation and characterization of envelope membranes from nongreen plastids. *Plant Physiol.* 88, 709–717.
- Jouhet, J., Maréchal, E., Baldan, B., Bligny, R., Joyard, J. and Block, M.A. (2004) Phosphate deprivation induces transfer of DGDG galactolipid from chloroplast to mitochondria. *J. Cell Biol.* 167, 863–874.
- Uemura, M., Joseph, R.A. and Steponkus, P.L. (1995) Cold acclimation of *Arabidopsis thaliana* (effect on plasma membrane lipid composition and freeze-induced lesions). *Plant Physiol.* 109, 15–30.
- Omata, T. and Murata, N. (1983) Isolation and characterization of the cytoplasmic membranes from the blue-green alga (Cyanobacterium) *Anacystis nidulans. Plant Cell Physiol.* 24, 1101–1112.
- Wada, H. and Murata, N. (1989) Synechocystis PCC6803 mutants defective in desaturation of fatty acids. *Plant Cell Physiol.* 30, 971–978.
- 9. 粟井光一郎 (2015) 光合成生物におけるガラク

ト脂質合成経路の分布と進化. 光合成研究 25, 143-150.

- Jouhet, J. (2013) Importance of the hexagonal lipid phase in biological membrane organization. *Front. Plant Sci.* 4, 494.
- Andersson, M.X., Stridh, M.H., Larsson, K.E., Liljenberg, C. and Sandelius, A.S. (2003) Phosphate-deficient oat replaces a major portion of the plasma membrane phospholipids with the galactolipid digalactosyldiacylglycerol. *FEBS Lett.* 537, 128–132.
- Essigmann, B., Güler, S., Narang, R.A., Linke, D. and Benning, C. (1998) Phosphate availability affects the thylakoid lipid composition and the expression of *SQD1*, a gene required for sulfolipid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 1950–1955.
- Benning, C. and Ohta, H. (2005) Three enzyme systems for galactoglycerolipid biosynthesis are coordinately regulated in plants. *J. Biol. Chem.* 280, 2397–2400.
- Moellering, E.R., Muthan, B. and Benning, C. (2010) Freezing tolerance in plants requires lipid remodeling at the outer chloroplast membrane. *Science* 330, 226– 228.
- Kobayashi, K., Nakamura, Y., and Ohta, H. (2009) Type A and type B monogalactosyldiacylglycerol synthases are spatially and functionally separated in the plastids of higher plants. *Plant Physiol. Biochem.* 47, 518–525.
- Awai, K., Maréchal, E., Block, M.A., Brun, D., Masuda, T., Shimada, H., Takamiya, K., Ohta, H. and Joyard, J. (2001) Two types of MGDG synthase genes, found widely in both 16:3 and 18:3 plants, differentially mediate galactolipid syntheses in photosynthetic and nonphotosynthetic tissues in *Arabidopsis thaliana. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 10960–10965.
- Kobayashi, K., Kondo, M., Fukuda, H., Nishimura, M. and Ohta, H. (2007) Galactolipid synthesis in chloroplast inner envelope is essential for proper thylakoid biogenesis, photosynthesis, and

embryogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104, 17216–17221.

- Kobayashi, K., Awai, K., Takamiya, K. and Ohta, H. (2004) Arabidopsis type B monogalactosyldiacylglycerol synthase genes are expressed during pollen tube growth and induced by phosphate starvation. *Plant Physiol.* 134, 640–648.
- Kobayashi, K., Awai, K., Nakamura, M., Nagatani, A., Masuda, T. and Ohta, H. (2009) Type-B monogalactosyldiacylglycerol synthases are involved in phosphate starvation-induced lipid remodeling, and are crucial for low-phosphate adaptation. *Plant J.* 57, 322–331.
- Dörmann, P., Hoffmann-Benning, S., Balbo, I. and Benning, C. (1995) Isolation and characterization of an Arabidopsis mutant deficient in the thylakoid lipid digalactosyl diacylglycerol. *Plant Cell* 7, 1801–1810.
- Kelly, A.A., Froehlich, J.E. and Dörmann, P. (2003) Disruption of the two digalactosyldiacylglycerol synthase genes *DGD1* and *DGD2* in Arabidopsis reveals the existence of an additional enzyme of galactolipid synthesis. *Plant Cell* 15, 2694–2706.
- Okazaki, Y., Shimojima, M., Sawada, Y., Toyooka, K., Narisawa, T., Mochida, K., Tanaka, H., Matsuda, F., Hirai, A., Hirai, M.Y., Ohta, H. and Saito, K. (2009) A chloroplastic UDP-glucose pyrophosphorylase from *Arabidopsis* is the committed enzyme for the first step of sulfolipid biosynthesis. *Plant Cell* 21, 892–909.
- Yu, B., Xu, C. and Benning, C. (2002) Arabidopsis disrupted in SQD2 encoding sulfolipid synthase is impaired in phosphate-limited growth. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 5732–5737.
- Okazaki, Y., Otsuki, H., Narisawa, T., Kobayashi, M., Sawai, S., Kamide, Y., Kusano, M., Aoki, T., Hirai, M.Y. and Saito, K. (2013) A new class of plant lipid is essential for protection against phosphorus depletion. *Nat. Commun.* 4, 1510.
- 25. Zhou, Y., Peisker, H., Weth, A., Baumgartner, W., Dörmann, P. and Frentzen, M. (2013) Extraplastidial cytidinediphosphate diacylglycerol synthase activity is required for vegetative development in *Arabidopsis*

thaliana. Plant J. 75, 867-879.

- Haselier, A., Akbari, H., Weth, A., Baumgartner, W. and Frentzen, M. (2010) Two closely related genes of Arabidopsis encode plastidial cytidinediphosphate diacylglycerol synthases essential for photoautotrophic growth. *Plant Physiol.* 153, 1372– 1384.
- Babiychuk, E., Müller, F., Eubel, H., Braun, H.-P., Frentzen, M. and Kushnir, S. (2003) *Arabidopsis* phosphatidylglycerophosphate synthase 1 is essential for chloroplast differentiation, but is dispensable for mitochondrial function. *Plant J.* 33, 899–909.
- Tanoue, R., Kobayashi, M., Katayama, K., Nagata, N. and Wada, H. (2014) Phosphatidylglycerol biosynthesis is required for the development of embryos and normal membrane structures of chloroplasts and mitochondria in *Arabidopsis. FEBS Lett.* 588, 1680–1685.
- Hagio, M., Sakurai, I., Sato, S., Kato, T., Tabata, S. and Wada, H. (2002) Phosphatidylglycerol is essential for the development of thylakoid membranes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 43, 1456–1464.
- Hung, C.-H., Kobayashi, K., Wada, H. and Nakamura, Y. (2015) Isolation and characterization of a phosphatidylglycerophosphate phosphatase1, PGPP1, in *Chlamydomonas reinhardtii. Plant Physiol. Biochem.* 92, 56–61.
- Jarvis, P., Dörmann, P., Peto, C.A., Lutes, J., Benning, C. and Chory, J. (2000) Galactolipid deficiency and abnormal chloroplast development in the *Arabidopsis MGD synthase 1* mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 8175–8179.
- Myers, A.M., James, M.G., Lin, Q., Yi, G., Stinard, P.S., Hennen-Bierwagen, T.A. and Becraft, P.W. (2011) Maize opaque5 encodes monogalactosyldiacylglycerol synthase and specifically affects galactolipids necessary for amyloplast and chloroplast function. *Plant Cell* 23, 2331–2347.
- Wu, W., Ping, W., Wu, H., Li, M., Gu, D. and Xu, Y.
 (2013) Monogalactosyldiacylglycerol deficiency in

tobacco inhibits the cytochrome b_6 f-mediated intersystem electron transport process and affects the photostability of the photosystem II apparatus. *Biochim. Biophys. Acta* 1827, 709–722.

- Aronsson, H., Schöttler, M.A., Kelly, A.A., Sundqvist, C., Dörmann, P., Karim, S. and Jarvis, P. (2008) Monogalactosyldiacylglycerol deficiency in Arabidopsis affects pigment composition in the prolamellar body and impairs thylakoid membrane energization and photoprotection in leaves. *Plant Physiol.* 148, 580–592.
- Jahns, P., Latowski, D. and Strzalka, K. (2009) Mechanism and regulation of the violaxanthin cycle: The role of antenna proteins and membrane lipids. *Biochim. Biophys. Acta* 1787, 3–14.
- 36. Schaller, S., Latowski, D., Jemioła-Rzemińska, M., Wilhelm, C., Strzałka, K. and Goss, R. (2010) The main thylakoid membrane lipid monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) promotes the de-epoxidation of violaxanthin associated with the light-harvesting complex of photosystem II (LHCII). *Biochim. Biophys. Acta* 1797, 414–424.
- Kobayashi, K., Narise, T., Sonoike, K., Hashimoto, H., Sato, N., Kondo, M., Nishimura, M., Sato, M., Toyooka, K., Sugimoto, K., Wada, H., Masuda, T. and Ohta, H. (2013) Role of galactolipid biosynthesis in coordinated development of photosynthetic complexes and thylakoid membranes during chloroplast biogenesis in Arabidopsis. *Plant J.* 73, 250–261.
- Awai, K., Ohta, H. and Sato, N. (2014) Oxygenic photosynthesis without galactolipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 13571–13575.
- Hölzl, G., Witt, S., Gaude, N., Melzer, M., Schöttler, M.A. and Dörmann, P. (2009) The role of diglycosyl lipids in photosynthesis and membrane lipid homeostasis in Arabidopsis. *Plant Physiol.* 150, 1147–1159.
- Demé, B., Cataye, C., Block, M.A., Maréchal, E. and Jouhet, J. (2014) Contribution of galactoglycerolipids to the 3-dimensional architecture of thylakoids. *FASEB J.* 28, 3373–3383.

- Hölzl, G., Witt, S., Kelly, A.A., Zähringer, U., Warnecke, D., Dörmann, P. and Heinz, E. (2006) Functional differences between galactolipids and glucolipids revealed in photosynthesis of higher plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 7512–7517.
- Kobayashi, K., Fujii, S., Sato, M., Toyooka, K. and Wada, H. (2014) Specific role of phosphatidylglycerol and functional overlaps with other thylakoid lipids in Arabidopsis chloroplast biogenesis. *Plant Cell Rep.* 34, 631-642.
- Yu, B. and Benning, C. (2003) Anionic lipids are required for chloroplast structure and function in *Arabidopsis. Plant J.* 36, 762–770.
- Sato, N., Tsuzuki, M., Matsuda, Y., Ehara, T., Osafune, T. and Kawaguchi, A. (1995) Isolation and characterization of mutants affected in lipid metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii. Eur. J. Biochem.* 230, 987–993.
- Aoki, M., Sato, N., Meguro, A. and Tsuzuki, M. (2004) Differing involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in photosystem II in two species of unicellular cyanobacteria. *Eur. J. Biochem.* 271, 685– 693.
- Yamaryo, Y., Kanai, D., Awai, K., Shimojima, M., Masuda, T., Shimada, H., Takamiya, K. and Ohta, H. (2003) Light and cytokinin play a co-operative role in MGDG synthesis in greening cucumber cotyledons. *Plant Cell Physiol.* 44, 844–855.
- Yamaryo, Y., Motohashi, K., Takamiya, K., Hisabori, T. and Ohta, H. (2006) In vitro reconstitution of monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) synthase regulation by thioredoxin. *FEBS Lett.* 580, 4086– 4090.
- Sasaki, Y., Kozaki, A. and Hatano, M. (1997) Link between light and fatty acid synthesis: Thioredoxin-linked reductive activation of plastidic acetyl-CoA carboxylase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 11096–11101.
- Dubots, E., Audry, M., Yamaryo, Y., Bastien, O., Ohta, H., Breton, C., Maréchal, E. and Block, M.A. (2010) Activation of the chloroplast monogalactosyldiacylglycerol synthase MGD1 by

phosphatidic acid and phosphatidylglycerol. J. Biol. Chem. 285, 6003-6011.

- 50. Masuda, S., Harada, J., Yokono, M., Yuzawa, Y., Shimojima, M., Murofushi, K., Tanaka, H., Masuda, H., Murakawa, M., Haraguchi, T., Kondo, M., Nishimura, M., Yuasa, H., Noguchi, M., Oh-oka, H., Tanaka, A., Tamiaki, H. and Ohta, H. (2011) A monogalactosyldiacylglycerol synthase found in the green sulfur bacterium *Chlorobaculum tepidum* reveals important roles for galactolipids in photosynthesis. *Plant Cell* 23, 2644–2658.
- Kobayashi, K., Fujii, S., Sasaki, D., Baba, S., Ohta, H., Masuda, T. and Wada, H. (2014) Transcriptional regulation of thylakoid galactolipid biosynthesis coordinated with chlorophyll biosynthesis during the development of chloroplasts in *Arabidopsis. Front. Plant Sci.* 5, 272.
- Nott, A., Jung, H.-S., Koussevitzky, S. and Chory, J. (2006) Plastid-to-nucleus retrograde signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 739–759.
- Susek, R.E., Ausubel, F.M. and Chory, J. (1993) Signal transduction mutants of Arabidopsis uncouple nuclear *CAB* and *RBCS* gene expression from chloroplast development. *Cell* 74, 787–799.
- Koussevitzky, S., Nott, A., Mockler, T.C., Hong, F., Sachetto-Martins, G., Surpin, M., Lim, J., Mittler, R. and Chory, J. (2007) Signals from chloroplasts converge to regulate nuclear gene expression. *Science* 316, 715–719.
- 55. Botté, C.Y., Deligny, M., Roccia, A., Bonneau, A.-L.,

Saïdani, N., Hardré, H., Aci, S., Yamaryo-Botté, Y., Jouhet, J., Dubots, E., Loizeau, K., Bastien, O., Bréhélin, L., Joyard, J., Cintrat, J.-C., Falconet, D., Block, M.A., Rousseau, B., Lopez, R. and Maréchal, E. (2011) Chemical inhibitors of monogalactosyldiacylglycerol synthases in *Arabidopsis thaliana. Nat. Chem. Biol.* 7, 834–842.

- Vothknecht, U.C. and Westhoff, P. (2001) Biogenesis and origin of thylakoid membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1541, 91–101.
- Sato, N. (2001) Was the evolution of plastid genetic machinery discontinuous? *Trends Plant Sci.* 6, 151– 155.
- Powikrowska, M., Oetke, S., Jensen, P.E. and Krupinska, K. (2014) Dynamic composition, shaping and organization of plastid nucleoids. *Front. Plant Sci.* 5, 424.
- Fujii, S., Kobayashi, K., Nakamura, Y. and Wada, H. (2014) Inducible knockdown of MONOGALACTOSYLDIACYLGLYCEROL SYNTHASE1 reveals roles of galactolipids in organelle differentiation in Arabidopsis cotyledons. Plant Physiol. 166, 1436–1449.
- Sekine, K., Hase, T. and Sato, N. (2002) Reversible DNA compaction by sulfite reductase regulates transcriptional activity of chloroplast nucleoids. *J. Biol. Chem.* 277, 24399–24404.

Biosynthesis of Thylakoid Membrane Lipids in Plants and Their Roles in Chloroplast Biogenesis

Koichi Kobayashi*

Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo

解説

脂質による葉緑体分裂の制御[‡]

東京工業大学 大学院生命理工学研究科 岡崎 久美子*

植物の葉緑体は分裂によって増殖する。葉緑体分裂では分裂面に形成される分裂装置の収縮によって 葉緑体包膜が分断されることから、分裂装置及びその構成タンパク質だけでなく、包膜の脂質も分裂 に重要な機能を担っていることが考えられるが、膜脂質の役割はまったくわかっていなかった。最近、 葉緑体分裂装置の構成タンパク質 PDV1 と PDV2 がホスファチジルイノシトール-4-リン酸(PI4P)と 特異的に結合すること、PI4P 合成の阻害で葉緑体の分裂が増加することなどから、PI4P が葉緑体分裂 を負に制御していることが明らかになった。PI4P は PDV1 と結合して、PDV1 によってリクルートさ れる分裂装置タンパク質 DRP5B の量を制御することで葉緑体分裂を調節していることがわかった。

1. はじめに

植物細胞内で、光合成などの重要な役割を担う葉緑 体は、原始シアノバクテリアの細胞内共生によって誕 生したと考えられている。葉緑体は既存の葉緑体(を 含む色素体)の分裂によってのみ、その数を増やすこ とができる¹⁾。ゼロからつくり出すことのできない葉 緑体は、宿主細胞の分裂に合わせて分裂させ、娘細胞 に伝播されなければならない。つまり、葉緑体の分裂・ 増殖の制御は、葉緑体を恒久的に維持するために必須 な機能である。また、陸上植物では一つの細胞内に多 数の葉緑体を持ち、組織や発達段階によって葉緑体の 様々な機能を最適化するために細胞内の葉緑体の数 や大きさを制御していると考えられる。このような分 裂制御の機構は近年、少しずつ明らかになりつつある。 本論では、最近筆者らが明らかにした膜脂質による制 御機構²⁾について解説する。

2. 葉緑体分裂装置とその制御

葉緑体分裂は、分裂面に形成されるリング状の分裂 装置の収縮によって引き起こされる(図1A)。葉緑体 ストロマ側の分裂予定位置に FtsZ が重合することに よって、葉緑体分裂がスタートする^{3,4)}。FtsZ の重合を 制御し、ストロマ側とサイトソル側の分裂装置をつな いでいるのが、内包膜に局在する ARC6 とそのパラロ グ PARC6 である^{5,6)}。FtsZ と ARC6 はシアノバクテリ アの細胞分裂装置に由来するタンパク質である。FtsZ リングが形成された後、外包膜貫通タンパク質 PDV1 と PDV2 がそれぞれ PARC6 と ARC6 との相互作用に より分裂面に集合する^{6,7)}。そして PDV1・PDV2 によ って、ダイナミン様タンパク質 DRP5B がリクルート され⁸⁾、分裂装置が完成する。

葉緑体の分裂は、藻類では一般に宿主細胞の細胞周 期に同調して起きる⁹⁾。しかし、陸上植物では、細胞 や組織の分化に伴って細胞内の葉緑体数、葉緑体の大 きさが変動する。たとえば、細胞分裂が活発な分裂組 織などでは葉緑体分裂は活発で、葉緑体は小さい。一 方、組織の発達に伴って葉緑体の分裂速度は減少し、 葉緑体は大きくなる。この植物の発達に伴った葉緑体 分裂速度の調節を担っているのは、分裂装置の構成タ ンパク質である PDV1・PDV2 である¹⁰⁾。葉緑体の分 裂は PDV タンパク質量によって律速されており(図 1B)、植物は葉の発達に伴って PDV タンパク質量を減 少させることによって細胞当たりの葉緑体数を制御 している。PDV 量は植物ホルモンであるサイトカイニ ンによって制御されており(図1C)、それによって細 胞分化と葉緑体分裂との協調が可能になっていると 考えられる¹⁰⁾。

^{*}解説特集「光合成と脂質」

^{*}連絡先 E-mail: okazaki.k.ac@m.titech.ac.jp



図 1. 葉緑体分裂装置と PDV1・PDV2 による分裂制御

(A) 高等植物の葉緑体分裂装置の構造。分裂面に局在するタンパク質とそれらの相互の関係を示す。
 (B) PDV1、PDV2 の過剰発現による葉緑体分裂頻度の上昇。シロイヌナズナで PDV1 と PDV2 をそれぞれ過剰発現させると、本葉の葉肉細胞で細胞当たりの葉緑体数が増加した。PDV1 と PDV2 を同時に過剰発現させるとさらに葉緑体数は増加した。バーは 10 mm。

(C) サイトカイニンによる葉緑体分裂制御。サイトカイニンを添加した培地(+BA)で育てたシロイヌナズナは無添加の培地(-BA)で育てたものに比べ、細胞当たりの葉緑体数が増加した。そのとき、PDV2 タンパク質量が増加していた。 (Okazaki *et al.*, 2009 を改変。www.plantcell.org. Copyright American Society of Plant Biologists)

3. 脂質による葉緑体分裂制御機構

近年、PDV1 と PDV2 が上記の葉緑体分裂制御機構 とは別に、膜脂質によっても制御を受けていることが 明らかになった²⁾。PDV1 と PDV2 はいくつかの脂質 と特異的な相互作用を示し、なかでも、ホスファチジ ルイノシトール-4-リン酸 (PI4P) はどちらのタンパク 質ともはっきりとした相互作用を示した。PI4P はホス ファチジルイノシトール (PI) のイノシトール環の 4 位がリン酸化されたものであり、ホスホイノシタイド と呼ばれるイノシトールリン脂質の1種である。PI4P はホスホリパーゼCの基質として¹¹⁾やホスファチジル イノシトール-4,5-二リン酸の前駆体として¹²⁾、あるい は PI4P そのものがシグナル脂質として¹³⁻¹⁵⁾、様々な 現象に関わる情報伝達に関わっている重要な脂質で ある。PI4Pは細胞膜、核膜、小胞体やゴルジ体などの 様々な膜に含まれており、葉緑体にも存在することが 報告されていた¹⁶⁾。しかし、葉緑体包膜に存在する PI4P に関しては、その機能や合成酵素の実体などはま ったく不明であった。

PI4P 合成を行う PI4-キナーゼ (PI4K) の阻害剤 phenylarsine oxide (PAO) を添加した培地で生育した シロイヌナズナでは、無処理のものに比べて細胞あた りの葉緑体数が増加し葉緑体が小さくなっていた (図 2)。シロイヌナズナに存在する 4 つの PI4K の細胞内 局在を調べたところ、そのうちの 2 つ PI4Kα1 と PI4Kβ2 が細胞質に局在していることがわかり、特に PI4Kαl 遺伝子発現抑制株ではやはり細胞あたりの葉 緑体数が増加していた(図2)ことから、PI4P が葉緑 体分裂を負に制御していることが示唆された。葉緑体 の分裂に関わる PI4P の合成に主要にはたらいている のは、PI4Kαl であった。



図 2. PI4K 阻害剤処理と PI4K 遺伝子発現抑制の葉緑 体分裂への影響

シロイヌナズナの芽生えを PI4K 阻害剤である phenylarsine oxide (PAO) を添加した培地に移植して生育 させると阻害剤を含まない培地で育てたもの (DMSO) に比べ本葉の葉肉細胞で細胞当たりの葉緑体数が増加し た。また、 $PI4K\alpha I$ 遺伝子の発現を抑制する ($PI4K\alpha I$ knockdown +DEX) と野生型 (WT) に比べ、葉緑体数の 増加が見られた。スケールバーは 10 mm。(Okazaki *et al.*, 2015 を改変。www.plantcell.org. Copyright American Society of Plant Biologists)



DMSO PAO

Total extracts Isolated chloroplasts



図 3. PI4K 阻害剤処理と PDV1、PDV2、DRP5Bの関係

(A) pdv1、pdv2、pdv1pdv2、drp5b 変異体を PAO で処理したときの細胞当たりの葉緑体数の違い。エラーバーは SE を示 す (n = 50 cells)。**P < 0.01、 ***P < 0.0001(t 検定)。

(B) PDV1、PDV2、DRP5B 過剰発現体、DRP5B/PDV2、PDV1/PDV2 過剰発現体を PAO で処理したときの細胞当たりの葉 緑体数の違い。エラーバーは SE を示す (n = 50 cells)。**P < 0.0001 (t 検定)。

(C) PAO 処理による DRP5B の量と局在の変化。DRP5B プロモーターで GFP-DRP5B を発現させたシロイヌナズナを PAO または DMSO を含む培地で 3 日間生育させた。上段は、抽出したタンパク質の総抽出画分と単離葉緑体画分に含まれる GFP-DRP5B 量を測定したもの。抗 GFP 抗体で検出した。下段は共焦点レーザー顕微鏡で観察した GFP-DRP5B の局在の様 子。赤は葉緑体の自家蛍光、黄色は GFP 蛍光を示す。スケールバーは 10 mm。(Okazaki et al., 2015 を改変。www.plantcell.org. Copyright American Society of Plant Biologists)



図 4. PI4P と PDV1、DRP5B による葉緑体分裂の制御機構

葉緑体包膜上で PI4P は主に細胞質局在 PI4Kα1 によって合成される(上段)。PDV1 と PDV2 は PI4P と結合するが、一定量 の DRP5B を葉緑体にリクルートし葉緑体分裂を進行させる。PI4P が合成されないと(下段)、PDV1 と DRP5B の相互作用 が強まり、より多くの DRP5B が葉緑体に局在するようになり、葉緑体分裂が増加する。また、PDV1 と PI4P は DRP5B 以 外の因子を介しても、葉緑体分裂の制御を行っている。

pdvl 変異体を PI4K 阻害剤で処理した場合には葉緑 体数の増加はほとんど見られず、pdv2 変異体を阻害剤 処理した場合では葉緑体数の増加が見られた(図 3A) ことから、PDV1を介して PI4P が葉緑体分裂を制御し ていることが示唆された。また、drp5b 変異体を阻害 剤処理した場合でも葉緑体数の増加が見られた(図 3A)。一方で、PDV1、PDV2、DRP5Bの過剰発現体を 阻害剤処理した場合、PDV1 や PDV2 の過剰発現体で は細胞当たりの葉緑体数は約1.2倍と野生型の増加率 とほぼ同じだったのに対し、DRP5B 過剰発現体では 1.8 倍にも増加した (図 3B)。つまり PDV1 や PDV2 の 過剰発現は葉緑体分裂に対して相加的な効果しか現 れなかったのに対し、DRP5B 過剰発現は阻害剤の効果 を増強する効果があった。これらの結果から示唆され るのは、DRP5B は必須ではないが、PI4P による葉緑 体分裂制御機構に関わっているということである。

PI4K 阻害剤で処理したとき、PDV1 と PDV2 のタン パク質量は無処理のものと変わらなかったが、DRP5B 量は増加しており、特に葉緑体に局在する DRP5B の 量が増えていた(図 3C)。DRP5B は葉緑体のくびり切 りに必要な因子であり、PDV1、PDV2 によってリクル ートされる。葉緑体外包膜の PI4P が減少すると PDV1 と DRP5B の相互作用が強まりより多くの DRP5B が葉 緑体に局在するようになることで、葉緑体分裂を促進 していると考えられる。

以上の結果より、PI4P が PDV1 と結合して PDV1 と DRP5B の相互作用を変化させ、葉緑体にリクルートす る DRP5B 量を制御することで葉緑体分裂を調節する という新たな制御機構が明らかになった(図 4)。しか し、DRP5B がない場合でも PI4P 合成阻害によって葉 緑体数の増加が見られること(図 3A)や、そもそも *drp5b* 変異体自体細胞当たり 5 個程度の葉緑体を持っ ていること(図 3A)から、DRP5B 以外に似たような はたらきをする別の因子があると考えられる(図 4)。

4. おわりに

近年、葉緑体に含まれる個々の脂質の機能に関して、 多くの知見が蓄積されつつある。しかし、PIとそのリ ン酸化物については、その存在が以前から知られてい たにもかかわらず、その役割はまったく未知であった。 他の膜系で知られているホスホイノシタイドの多彩 な機能から考えて、葉緑体でも重要な役割を果たして いるだろう、という思いを持っていた人は少なからず いるのではないだろうか。今回、葉緑体包膜の PI4P の機能として、葉緑体分裂の制御が明らかになった。 今後、さらに葉緑体 PI4P の機能が解明されることが期 待される。葉緑体の PI4P のダイナミクスに関する研究 も今後の課題である。葉緑体の分裂や発達に伴って、 PI4P 量は変動するのか?生育段階や外的環境の変化 などによって PI4P 量が変動するのか? 葉緑体 PI4P 量 の制御に関する知見は、その機能の解明にもつながる と考えられる。また、PI4P 合成酵素は同定されたが、 葉緑体上でホスホイノシタイド代謝に関わる他の酵 素についてはまだわかっていない。葉緑体包膜には少 なくともホスファチジルイノシトール-3-リン酸 (PI3P) の合成活性があり、未同定のホスホイノシタイドもあ ることが報告されている¹⁶⁾。これらを含めた葉緑体の ホスホイノシタイドシグナル経路の全容の解明が待 たれる。

Received May 29, 2015; Accepted June 10, 2015; Published August 31, 2015

参考文献

- Keeling, P.J. (2010) The endosymbiotic origin, diversification and fate of plastids. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 365, 729–748.
- Okazaki, K., Miyagishima, S.Y. and Wada, H. (2015) Phosphatidylinositol 4-phosphate negatively regulates chloroplast division in Arabidopsis. *Plant Cell* 27, 663–674.
- Vitha, S., McAndrew, R.S. and Osteryoung, K.W. (2001) FtsZ ring formation at the chloroplast division site in plants. *J. Cell Biol.* 153, 111–120.
- Kuroiwa, H., Mori, T., Takahara, M., Miyagishima, S.Y. and Kuroiwa, T. (2002) Chloroplast division machinery as revealed by immunofluorescence and electron microscopy. *Planta* 215, 185–190.
- Vitha, S., Froehlich, J.E., Koksharova, O., Pyke, K.A., van Erp, H. and Osteryoung, K.W. (2003) ARC6 Is a J-Domain Plastid Division Protein and an Evolutionary Descendant of the Cyanobacterial Cell Division Protein Ftn2. *Plant Cell* 15, 1918–1933.
- 6. Glynn, J.M., Yang, Y., Vitha, S., Schmitz, A.J.,

Hemmes, M., Miyagishima, S.Y. and Osteryoung, K.W. (2009) PARC6, a novel chloroplast division factor, influences FtsZ assembly and is required for recruitment of PDV1 during chloroplast division in *Arabidopsis. Plant J.* 59, 700–711.

- Glynn, J.M., Froehlich, J.E. and Osteryoung, K.W. (2008) *Arabidopsis* ARC6 coordinates the division machineries of the inner and outer chloroplast membranes through interaction with PDV2 in the intermembrane space. *Plant Cell* 20, 2460–2470.
- Miyagishima, S.Y., Froehlich, J.E. and Osteryoung, K.W. (2006) PDV1 and PDV2 mediate recruitment of the dynamin-related protein ARC5 to the plastid division site. *Plant Cell* 18, 2517–2530.
- Possingham, J.V. and Lawrence, M.E. (1983) Controls to Plastid Division. in *International Review* of Cytology (G.H. Bourne, Danielli, J.F. and Jeon, K.W., Eds.) pp. 1–56, Academic Press.
- Okazaki, K., Kabeya, Y., Suzuki, K., Mori, T., Ichikawa, T., Matsui, M., Nakanishi, H. and Miyagishima, S.Y. (2009) The PLASTID DIVISION1 and 2 components of the chloroplast division machinery determine the rate of chloroplast division in land plant cell differentiation. *Plant Cell* 21, 1769–1780.
- Gonorazky, G., Laxalt, A.M. and de la Canal, L.
 (2010) Involvement of phospholipase C in the

responses triggered by extracellular phosphatidylinositol 4-phosphate. *J Plant Physiol*. 167, 411–415.

- Berridge, M.J. and Irvine, R.F. (1989) Inositol phosphates and cell signalling. *Nature* 341, 197–205.
- Jung, J.Y., Kim, Y.W., Kwak, J.M., Hwang, J.U., Young, J., Schroeder, J.I., Hwang, I. and Lee, Y. (2002) Phosphatidylinositol 3- and 4-Phosphate Are Required for Normal Stomatal Movements. *Plant Cell* 14, 2399–2412.
- Preuss, M.L., Schmitz, A.J., Thole, J.M., Bonner, H.K., Otegui, M.S. and Nielsen, E. (2006) A role for the RabA4b effector protein PI-4Kbeta1 in polarized expansion of root hair cells in *Arabidopsis thaliana*. J. *Cell Biol*. 172, 991–998.
- Chapman, L.A. and Goring, D.R. (2011) Misregulation of phosphoinositides in *Arabidopsis thaliana* decreases pollen hydration and maternal fertility. *Sex. Plant Reprod.* 24, 319–326.
- Bovet, L., Muller, M.O. and Siegenthaler, P.A. (2001) Three distinct lipid kinase activities are present in spinach chloroplast envelope membranes: phosphatidylinositol phosphorylation is sensitive to wortmannin and not dependent on chloroplast ATP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 289, 269–275.

Regulation of Chloroplast Division by Lipid

Kumiko Okazaki*

Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology

光合成生物におけるガラクト脂質合成経路の分布と進化[‡]

¹静岡大学理学部生物科学科²静岡大学電子工学研究所³JST さきがけ 粟井 光一郎^{1,2,3,}*

酸素発生型光合成を行う光合成生物は、例外なくガラクト脂質を主成分としてチラコイド膜を構築し ている。しかし、植物の葉緑体とシアノバクテリアではその合成経路も、合成を担う酵素も異なるこ とが生化学的解析からわかっていた。近年、全てのガラクト脂質合成酵素遺伝子が同定され、ようや く光合成生物における2つの合成経路の分布が明らかとなりつつある。本稿では葉緑体と共通起源を もつシアノバクテリアから一次共生植物、二次共生植物でのガラクト脂質合成経路の分布について述 べ、そこから推察される葉緑体の獲得経路および植物型のガラクト脂質合成酵素遺伝子の起源につい て考察する。

1. 光合成生物のガラクト脂質合成経路

酸素発生型光合成を行う生物(以下本稿では光合成 生物と略す)のチラコイド膜は、一部の例外を除き、 主に4種の脂質で構成される(図1)。特に2種のガラ クト脂質が主成分であり、チラコイド膜のおよそ80% を占めている。そのうちの1つ、モノガラクトシルジ アシルグリセロール (MGDG) はジアシルグリセロー ル (DAG) 骨格に1分子のガラクトースがβ配置した 構造を持ち、チラコイド膜の約50%を占める。もう1 つのガラクト脂質、ジガラクトシルジアシルグリセロ ール (DGDG) は MGDG のガラクトースの C6 位にさ らに1分子のガラクトースがα配置している。これら ガラクト脂質は光合成生物のチラコイド膜に例外な く保存されていることから、チラコイド膜に必須であ り、膜の構築だけでなく、光合成活性にも関与してい ると考えられてきた。実際、光化学系タンパク質複合 体の結晶構造解析から、複合体中にガラクト脂質が組 み込まれていることがわかっている(詳しくは本号遠 藤らの記事¹⁾を参照されたい)。しかし、植物の葉緑 体と、葉緑体と共通起源を持つと考えられているシア ノバクテリアでは、ガラクト脂質合成経路が異なるこ とがわかっていた(図2)。

植物葉緑体では、骨格となるジアシルグリセロール

*連絡先 E-mail: awai.koichiro@shizuoka.ac.jp

に UDP-ガラクトースのガラクトースを転移する一段 階の反応で MGDG を合成する²⁾。一方、シアノバクテ リアでは DAG にまず UDP-グルコースのグルコースを 転移し、モノグルコシルジアシルグリセロール (GlcDG) を合成する。次に、GlcDG のグルコースを異性化して、 MGDG へと変換する³⁾。もう1つのガラクト脂質 DGDG の合成は、植物葉緑体、シアノバクテリアとも に MGDG へのガラクトース転移反応によって達成さ れる⁴⁾。

このような合成経路の違いは、1980年代前半に植物 葉緑体やシアノバクテリアを用いた酵素学的解析か ら明らかとなっていた。1990年代後半になると、植物 のMGDG合成酵素遺伝子(*MGD1*)²⁾やDGDG合成酵 素遺伝子(*DGD1*)⁵⁾が次々に同定されたが、これらの オルソログがシアノバクテリアのゲノムに存在しな いことが明らかとなり、シアノバクテリアが植物とは 異なるガラクト脂質合成酵素を利用していることが 遺伝子レベルでも示された。2000年代になってシアノ バクテリア型ガラクト脂質合成経路を担う GlcDG 合 成酵素遺伝子(*mgdA*)⁶⁾とDGDG合成酵素遺伝子(*dgdA*) ^{7,8)}が同定され、最近ようやく最後の遺伝子である GlcDG 異性化酵素遺伝子(*mgdE*)が明らかとなった ⁹⁾。これらの遺伝子は、予想どおり植物のガラクト脂 質合成酵素遺伝子とは全く異なっていた。

本稿では、全遺伝子が明らかとなった光合成生物の ガラクト脂質合成酵素遺伝子の分布を示し、その進化

^{*}解説特集「光合成と脂質」



図 1. チラコイド膜の主要な脂質

MGDG、DGDG、SQDG、PG が主要なチラコイド膜脂質であり、GlcDG はシアノバクテリアでの MGDG 合成の中間体として存在している。これらに加え、植物のチラコイド膜には微量のホスファチジルイノシトールが含まれる。 R_1 、 R_2 :炭素 長 15 もしくは 17 のアルキル鎖。 α : α 配置、 β : β 配置。

や起源について考察する。遺伝子同定の経緯等の詳細 に関しては、他の総説を参照されたい^{10,11}。

2. ガラクト脂質合成経路の分布 (一次共生)

光合成生物のガラクト脂質合成経路は、上記のとお り、現在のところ植物型とシアノバクテリア型の2種 の経路が見つかっている。シアノバクテリアでは、シ アノバクテリア型のガラクト脂質合成経路しか見つ かっておらず、陸上植物でも植物型のガラクト脂質合 成酵素遺伝子しか見つかっていない。葉緑体は現生シ アノバクテリアと共通する祖先が共生することによ って獲得されたと考えられている(一次共生)。そこ で、一次共生植物でのガラクト脂質合成経路を明らか にするため、まずその分布を陸上植物以外の一次共生 植物で調べた(図3、表1)。

陸上植物にもっとも近縁である、シャジクモ藻の一 種 Klebsormidium flaccidum のゲノム配列が最近公開さ れ¹²⁾、植物型のガラクト脂質合成経路を持つことが明 らかとなっている。また緑藻 Chlamydomonas reinhardtii や Volvox carteri などでも同様であることから¹³⁾、緑色 植物では植物型のガラクト脂質合成経路が保存され



図 2. 植物とシアノバクテリアのガラクト脂質合成 経路の違い

植物型ガラクト脂質合成酵素(MGD1:MGDG合成酵素、 DGD1:DGDG合成酵素)、シアノバクテリア型ガラクト 脂質合成酵素(MgdA:GlcDG合成酵素、MgdE:GlcDG 異性化酵素、DgdA:DGDG合成酵素)、DAG:ジアシル グリセロール。



図 3. 真核光合成生物におけるガラクト脂質合成経路の分布

代表的真核光合成生物におけるガラクト脂質合成経路の分布を系統樹と共に示した。系統樹は正確な遺伝的距離を示すものではなくイメージ図であることを注意されたい。(M): MGDG 合成経路、(D): DGDG 合成経路(緑色は植物型、青色はシアノバクテリア型)。黒い三角は、植物型の MGDG および DGDG 合成経路が獲得された時期を、赤および緑の矢印は、紅藻および緑藻の二次共生を示す。紅藻の二次共生は複数起こっていることが示唆されているが、ここでは簡略化して示した。系統樹上の青い丸はシアノバクテリアの一次共生を示す。

ていると考えられる。一方、いわゆる原始紅藻(イデ ユコゴメ綱)の一種 Cyanidioschyzon merolae では、 MGDG 合成酵素は植物型であるが、DGDG 合成酵素は シアノバクテリア型の遺伝子(dgdA)が葉緑体ゲノム に存在することがわかっている^{7,8,14)}。他のイデユコゴ メ綱の紅藻である Galdieria sulphuraria や Cyanidium caldarium の葉緑体ゲノムでも、同様に dgdA が見つか っていることから、イデユコゴメ綱の紅藻では共通し て MGDG 合成は植物型、DGDG 合成はシアノバクテ リア型であると思われる。このような形質は、単細胞 性紅藻に特有であるとも考えられたが、最近明らかと なった海洋性の単細胞性紅藻であるチノリモ

(Porphyridium purpureum)の葉緑体ゲノムには dgdA は存在せず¹⁵⁾、核ゲノムに植物型の MGDG、DGDG 合成酵素遺伝子が存在していたことから¹⁶⁾、イデユコ ゴメ綱特有である可能性が高い。また、多細胞性の紅 藻であるウシケノリや真正紅藻の葉緑体ゲノムでも dgdA が見つからないことから、イデユコゴメ綱以外の 紅藻は、植物型の DGDG 合成酵素遺伝子を核ゲノムに コードしていると予想される。実際、真正紅藻の一種 Chondrus crispus のゲノム配列を調べたところ¹⁷⁾、両ガ ラクト脂質合成経路とも植物型であった。

同じアーケプラスチダ(一次共生植物)に属する灰 色藻では、ドラフトゲノム配列情報から他の一次共生 藻類と同様、MGDG 合成には植物型の酵素を用いてい ることがわかった¹⁸⁾。ところが、DGDG 合成に関して は、植物型 DGDG 合成酵素遺伝子が核ゲノムに存在せ ず、シアノバクテリア型 DGDG 合成酵素遺伝子も葉緑 体ゲノムに存在していない。そこで、ゲノム情報を詳 細に解析したところ、シアノバクテリア型 DGDG 合成 酵素のオルソログが核ゲノムにコードされているこ とがわかった。ゲノム配列情報を元に cDNA を単離し 配列を確認したところ、少なくとも7つのエキソンと 6つのイントロンをもつことが予測された。このこと

表 1. 真核光合成生物におけるガラクト脂質合成経路の分布の解析に利用した種の一覧

参考文献にはゲノム配列解読の論文^{12,17-19,21-25,28)}および脂質合成経路を解析した論文^{4,12-14,30)}を載せた。[†]クロムアルベオラータに分類されるかは議論がある。

	-					
スーパーグループ		代表種	参考文献			
(サブグループ)						
クロムアルベオラー	ータ(二次共生)					
アルベオラータ	渦鞭毛藻	Symbiodinium sp. clade B1	Shoguchi et al. (2013) ²⁸⁾			
	-	Chromera velia	Botte et al. (2011) ³⁰⁾			
ストラメノパイル	珪藻	Thalassiosira pseudonana	Bowler et al. (2008) ²²⁾			
	褐藻	Ectocarpus siliculosus	Cock et al. (2010) ²³⁾			
	真正眼点藻	Nannochloropsis oceanica	Vieler et al. (2012) ²⁴⁾			
ハプト植物*	ハプト藻	Emiliania huxleyi	Read et al. $(2013)^{25}$			
クリプト植物†	クリプト藻	Guillardia theta	Curtis et al. (2012) ¹⁹⁾			
リザリア(二次共生	E)					
ケルコゾア	ポーリネラ	Paulinella chromatophora	Nowack et al. $(2008)^{21}$			
	クロララクニオン藻	Bigelowiella natans	Curtis et al. (2012) ¹⁹⁾			
アーケプラスチダ(一次共生)						
	灰色藻	Cyanophora paradoxa	Price et al. (2012) ¹⁸⁾			
	紅藻 (原始紅藻)	Cyanidioschyzon merolae	Sato and Moriyama (2007) ¹⁴⁾			
	紅藻 (真正紅藻)	Chondrus crispus	Collen et al. (2013) ¹⁷⁾			
	緑藻	Chlamydomonas reinhardtii	Riekhof et al. $(2005)^{13}$			
	シャジクモ藻	Klebsormidium flaccidum	Hori et al. (2014) ¹²⁾			
	陸上植物	Arabidopsis thaliana	Benning and Ohta (2005) ⁴⁾			

は、シアノバクテリア型の遺伝子が宿主の核ゲノムに 移行し、機能していることを示している。現在、実際 に DGDG 合成活性を持つのか、また転写・翻訳された シアノバクテリア型 DGDG 合成酵素が葉緑体(シアネ レ) へ局在するのかを調べている。

3. ガラクト脂質合成経路の分布(二次共生)

二次共生植物の葉緑体は、紅藻もしくは緑藻が共生 することにより獲得されたと考えられている。そのう ち、緑藻由来の葉緑体を持つと考えられているのは、 リザリアに属するクロララクニオン藻とエクスカバ ータに属するユーグレノゾアである。ユーグレノゾア の光合成生物ではユーグレナ(ミドリムシ)が有名だ が、葉緑体ゲノム配列が公開されているものの、まだ 核ゲノム配列は公開されておらず、どのようなガラク ト脂質合成経路を持つかは不明である。一方、クロラ ラクニオン藻では少なくとも Bigelowiella natans の全 ゲノム配列が公開されている¹⁹⁾。その配列情報を解析 したところ、ガラクト脂質合成経路は MGDG、DGDG ともに植物型であることがわかった。これら光合成生 物の葉緑体の由来と考えられている緑藻が植物型の ガラクト脂質合成経路を持つこと、また公開されてい るユーグレナの葉緑体ゲノム配列情報から *dgdA* が見 つからないことを考え合わせると、これら緑藻由来の 葉緑体を持つ二次共生藻は植物型のガラクト脂質合 成経路を持つと思われる。

ポーリネラはクロララクニオン藻と同じリザリア のケルコゾアに属する光合成生物だが、趣が異なる。 ポーリネラは有殻アメーバに属する生物で、細胞内に クロマトフォア(もしくはシアネレ)と呼ばれる葉緑 体様構造をもつ。このクロマトフォアは、一次共生植 物が獲得した葉緑体とは異なる共生によって獲得さ れたと考えられており、第二の一次共生であるといわ れている²⁰⁾。そのゲノム配列情報からクロマトフォア

は Prochlorococcus 属のシアノバクテリアに近縁であ ると推測されており²¹⁾、実際ガラクト脂質合成経路も シアノバクテリア型を有し、系統学的に *Prochlorococcus* に近いことが明らかとなっている⁹。 これまで、シアノバクテリア型の MGDG 合成経路を 持つ真核生物は他に見つかっておらず、またポーリネ ラは灰色藻、原始紅藻以外で唯一シアノバクテリア型 の DGDG 合成酵素を持つ。これらの結果は、ポーリネ ラのクロマトフォアがシアノバクテリアの共生によ って獲得されたとする説を支持するものである。また、 同様の一次共生を行ったと思われる一次共生植物で は、ポーリネラと同様、共生の当初はシアノバクテリ ア型のガラクト脂質合成経路が利用されていたと思 われる。その後、共生の初期(灰色藻や原始紅藻が分 岐する前)に植物型の MGDG 合成経路を獲得し、原 始紅藻の分岐後に植物型 DGDG 合成経路を獲得した のであろう。

4. 紅藻由来の葉緑体を持つ二次共生植物で のガラクト脂質合成経路の分布

クロムアルベオラータに属する光合成生物の葉緑 体は、基本的には紅藻由来であると考えられている。 これらの光合成生物でのガラクト脂質合成経路の分 布を調べたところ、これまでにゲノム配列の公開され ている珪藻 (Thalassiosira pseudonana²²⁾ 他) や褐藻 (*Ectocarpus siliculosus*²³))、真正眼点藻 $(Nannochloropsis \ oceanica^{24})$ などのストラメノパイ ル、ハプト藻(円石藻 Emiliania huxleyi²⁵⁾)やクリプ ト藻 (Guillardia theta¹⁹⁾) ではすべて植物型のガラクト 脂質合成酵素遺伝子が保存されていた。一方で、イデ ユコゴメ綱の紅藻ではシアノバクテリア型の DGDG 合成酵素遺伝子が葉緑体に保存されていることから、 上記二次共生藻の葉緑体は、初期に分岐したイデユコ ゴメ綱の紅藻由来ではなく、その後植物型の DGDG 合 成酵素遺伝子を獲得した紅藻を取り込むことによっ てできたと考えられる。例えば単細胞性で植物型の DGDG 合成経路を持つチノリモと共通起源を持つよ うな紅藻が取り込まれ共生したのかもしれない。他に 考えられる仮説は、これらの二次共生藻が紅藻を取り 込む前からあらかじめ植物型 DGDG 合成経路を獲得 していた可能性である。最近、紅藻由来の葉緑体をも つ二次共生藻のゲノム解析の結果、緑藻由来と考えら

える遺伝子が多数見つかったことから、まず緑藻が共 生することで緑藻由来の遺伝子が獲得され、その後に 紅藻が取り込まれたとする説が提唱されている²⁶⁾。そ の場合、イデユコゴメ綱の紅藻と共通起源を持つ原始 紅藻が取り込まれ、先に取り込まれていた緑藻由来の 植物型 DGDG 合成酵素遺伝子が利用されるようにな っていたとしてもおかしくない。しかし、これまで調 べた限りでは、イデユコゴメ綱の紅藻と同様のシアノ バクテリア型 DGDG 合成酵素遺伝子やその痕跡をゲ ノム配列に残す二次共生藻は見つかっていない。実際、 二次共生藻の MGDG 合成酵素は系統学的に紅藻と近 縁であることがわかっていることから²⁷⁾、DGDG 合成 酵素遺伝子だけが緑藻由来とは考えにくく、MGDG、 DGDG どちらも植物型の合成経路を獲得した紅藻が 共生したと考えるのが妥当であろう。

紅藻由来の葉緑体を持つ二次共生植物のうち、アル ベオラータに属する渦鞭毛藻の一種、褐虫藻 Symbiodinium sp. clade B1 のゲノム配列が最近公開さ れた²⁸⁾。刺胞動物であるサンゴやサカサクラゲと共生 するこの藻類では、相同性検索により植物型の MGDG 合成酵素遺伝子と DGDG 合成酵素遺伝子の存在が確 認され、植物型のガラクト脂質合成経路を持つと考え られた。一方、同じアルベオラータに属するアピコン プレクサでは、植物型・シアノバクテリア型どちらの ガラクト脂質合成酵素遺伝子も見つかっていない。ア ピコンプレクサに属する生物は寄生性であり、その多 くは光合成能を失っている紅藻由来の色素体(アピコ プラスト)を保持していることが知られている。しか し、マラリヤ原虫である Plasmodium falciparum から単 離されたアピコプラストの脂質解析から、アピコプラ ストにはガラクト脂質が存在せず、すべてリン脂質で できていることが明らかとなっている²⁹⁾。最近、アピ コンプレクサと近縁だが光合成能を保持し、サンゴと 共生する藻類 Chromera velia の脂質解析が行われ、 MGDG、DGDG が存在することが示された³⁰⁾。また、 EST データから植物型 MGDG 合成酵素遺伝子と植物 型 DGDG 合成酵素遺伝子オルソログの部分配列が確 認されている。これらの結果は、ガラクト脂質の有無 と光合成が密接に関係していることを示しており、光 合成におけるガラクト脂質の重要性を表す一つの例 であるといえる。

5. 植物型ガラクト脂質合成酵素の起源

ー次共生によって得られた葉緑体がシアノバクテ リアと共通の祖先をもつとすると、ポーリネラと同様、 共生の当初はシアノバクテリア型のガラクト脂質合 成経路が利用されていたはずであり、現在の葉緑体が 持つ植物型のガラクト脂質合成酵素は共生後に獲得 されたと考えられる。ではその起源はどこにあるのか。

植物型 MGDG 合成酵素のアミノ酸配列を用いた系 統解析から、原核生物である緑色非硫黄性光合成細菌 を含むクロロフレクサス門に共通起源と考えらえる 遺伝子が存在することが報告されている²⁷⁾。最近、ク ロロフレクサス門のうちカルディリネア綱に属する Caldilinea aerophila のゲノム配列が公開され、現生の 光合成生物が持つ植物型 MGDG 合成酵素と非常に相 同性の高いタンパク質をコードする遺伝子が存在す ることがわかった。この遺伝子がコードする糖転移酵 素は、興味深いことに MGDG 合成活性に加え、シア ノバクテリアの MgdA と同様 GlcDG 合成活性も有す る、二機能性糖転移酵素であることがわかった(筆者 ら、未発表)。共生によって葉緑体を獲得した原始光 合成真核生物では、共生の当初はシアノバクテリア型 の MGDG 合成経路を利用していたものの、このよう な二機能性の酵素が獲得されることによってシアノ バクテリア型と植物型の MGDG 合成経路を持つよう になり、次第に植物型 MGDG 合成経路のみで MGDG を合成するようになったと考えられる。もしくは、こ のような二機能性の酵素を持つシアノバクテリアが 取り込まれ、葉緑体となったのかもしれない。現在、 この遺伝子をシアノバクテリアや植物に導入し、内在 性の MGDG 合成経路を破壊した株で、どのように MGDG が合成されるのかを調べている。

植物型 DGDG 合成酵素遺伝子に関しては、現在までのところ、共通起源を持つと期待されるアミノ酸配列をコードする遺伝子は見つかっておらず、どのようにして現生の葉緑体が植物型の酵素を獲得したのかは不明である¹¹⁾。

6. シアノバクテリア型ガラクト脂質合成経路はシアノバクテリアに必須か

なぜ現生のシアノバクテリアと植物ではガラクト 脂質合成経路が異なるのか。その問いに答えるため、 シアノバクテリアと植物でガラクト脂質合成経路を 取り換えることが試みられている。湯澤らは、シロイ ヌナズナの主要な MGDG 合成酵素である MGD1 遺伝 子をシアノバクテリア Synechocystis sp. PCC 6803 に導 入し、GlcDG 合成酵素遺伝子 (mgdA) を破壊した株を 作成している。この株では低温での生育阻害が見られ るものの、他には大きな影響は見られなかったことか ら³¹⁾、シアノバクテリア型の MGDG 合成経路はシア ノバクテリアに必須ではないと考えられる。筆者らも Synechococcus elongatus PCC 7942 を用いて同様の実験 を行い、やはり大きな影響が見られないことを確認し ており (筆者ら、未発表)、シアノバクテリアがなぜ 2 段階の反応で MGDG を合成するのかは不明である。

では、DGDG 合成酵素はどうか。こちらも MGDG 合成酵素と同様、シアノバクテリア型の DGDG 合成酵 素遺伝子(dgdA)を植物型の DGDG 合成酵素遺伝子 (DGD2) と置き換えたところ、生育に大きな影響が 見られないことがわかった(筆者ら未発表)。これら の結果は、現生のシアノバクテリア(少なくともいく つかの種)では、ガラクト脂質の合成経路は問題では なく、ガラクト脂質そのものが存在すればよいという ことになる。このことが植物にも当てはまるのかが、 緑色硫黄細菌 Chlorobaculum tepidum の MGDG 合成酵 素遺伝子 (mgdA) と内在性の MGD1 を置き換えるこ とで調べられている³²⁾。この株では完全ではないもの の表現型が回復していることから、おそらく植物でも 合成経路ではなく、反応生成物であるガラクト脂質の 有無が重要であると思われる。今後、シアノバクテリ ア型のガラクト脂質合成経路を植物型の経路と置き 換えることができるかを調べることも必要であろう。

7. おわりに

ガラクト脂質合成経路を担う酵素の遺伝子がすべ て同定されたことによって、光合成生物におけるガラ クト脂質合成経路の分布も明らかになってきた。今後、 より多くの光合成生物のゲノム情報が公開されるこ とで、その進化の詳細が明らかになるであろう。特に、 紅藻のなかでガラクト脂質合成経路の分布がわかれ ているので、種々の紅藻ゲノムが解読されれば、新し い扉が開くのではないかと期待している。

Received June 2, 2015; Accepted June 20, 2015; Published August 31, 2015

参考文献

- 遠藤嘉一郎,小林康一,和田元 (2015) 光合成タンパク質複合体と脂質. 光合成研究 25,116-125.
- Shimojima, M., Ohta, H., Iwamatsu, A., Masuda, T., Shioi, Y. and Takamiya, K. (1997) Cloning of the gene for monogalactosyldiacylglycerol synthase and its evolutionary origin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 333–337.
- Sato, N. and Murata, N. (1982) Lipid biosynthesis in the blue-green alga, *Anabaena variabilis*: I. Lipid classes. *Biochim. Biophys. Acta* 710, 271–278.
- Benning, C. and Ohta, H. (2005) Three enzyme systems for galactoglycerolipid biosynthesis are coordinately regulated in plants. *J. Biol. Chem.* 280, 2397–2400.
- Dörmann, P., Balbo, I. and Benning, C. (1999) *Arabidopsis* galactolipid biosynthesis and lipid trafficking mediated by DGD1. Science 284, 2181– 2184.
- Awai, K., Kakimoto, T., Awai, C., Kaneko, T., Nakamura, Y., Takamiya, K., Wada, H. and Ohta, H. (2006) Comparative genomic analysis revealed a gene for monoglucosyldiacylglycerol synthase, an enzyme for photosynthetic membrane lipid synthesis in cyanobacteria. *Plant Physiol.* 141, 1120–1127.
- Awai, K., Watanabe, H., Benning, C. and Nishida, I. (2007) Digalactosyldiacylglycerol is required for better photosynthetic growth of *Synechocystis* sp. PCC6803 under phosphate limitation. *Plant Cell Physiol.* 48, 1517–1523.
- Sakurai, I., Mizusawa, N., Wada, H. and Sato, N. (2007) Digalactosyldiacylglycerol is required for stabilization of the oxygen-evolving complex in photosystem II. *Plant Physiol.* 145, 1361–1370.
- Awai, K., Ohta, H. and Sato, N. (2014) Oxygenic photosynthesis without galactolipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 13571–13575.
- 2009) 光合成膜ガラクト脂質合成 経路の多様性. 光合成研究 19,9-12.
- 佐藤直樹 (2015) シアノバクテリアにおける糖 脂質合成系と酸素発生型光合成の進化. 生化学 87, 209-211.

- Hori, K., Maruyama, F., Fujisawa, T., Togashi, T., Yamamoto, N., Seo, M., Sato, S., et al. (2014) *Klebsormidium flaccidum* genome reveals primary factors for plant terrestrial adaptation. *Nat. Commun.* 5, 3978.
- Riekhof, W.R., Sears, B.B. and Benning, C. (2005) Annotation of genes involved in glycerolipid biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*: discovery of the betaine lipid synthase BTA1Cr. *Eukaryot. Cell* 4, 242–252.
- Sato, N. and Moriyama, T. (2007) Genomic and biochemical analysis of lipid biosynthesis in the unicellular rhodophyte *Cyanidioschyzon merolae*: lack of a plastidic desaturation pathway results in the coupled pathway of galactolipid synthesis. *Eukaryot. Cell* 6, 1006–1017.
- Tajima, N., Sato, S., Maruyama, F., Kurokawa, K., Ohta, H., Tabata, S., Sekine, K., Moriyama, T. and Sato, N. (2014) Analysis of the complete plastid genome of the unicellular red alga *Porphyridium purpureum. J. Plant Res.* 127, 389–397.
- Bhattacharya, D., Price, D.C., Chan, C.X., Qiu, H., Rose, N., Ball, S., Weber, A.P., et al. (2013) Genome of the red alga *Porphyridium purpureum*. *Nat. Commun.* 4, 1941.
- Collen, J., Porcel, B., Carre, W., Ball, S.G., Chaparro, C., Tonon, T., Barbeyron, T., et al. (2013) Genome structure and metabolic features in the red seaweed *Chondrus crispus* shed light on evolution of the Archaeplastida. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 5247–5252.
- Price, D.C., Chan, C.X., Yoon, H.S., Yang, E.C., Qiu, H., Weber, A.P., Schwacke, R., et al. (2012) *Cyanophora paradoxa* genome elucidates origin of photosynthesis in algae and plants. *Science* 335, 843– 847.
- Curtis, B.A., Tanifuji, G., Burki, F., Gruber, A., Irimia, M., Maruyama, S., Arias, M.C., et al. (2012) Algal genomes reveal evolutionary mosaicism and the fate of nucleomorphs. *Nature* 492, 59–65.
- Marin, B., Nowack, E.C. and Melkonian, M. (2005)
 A plastid in the making: evidence for a second

primary endosymbiosis. Protist 156, 425-432.

- Nowack, E.C., Melkonian, M. and Glockner, G. (2008) Chromatophore genome sequence of *Paulinella* sheds light on acquisition of photosynthesis by eukaryotes. *Curr. Biol.* 18, 410–418.
- Bowler, C., Allen, A.E., Badger, J.H., Grimwood, J., Jabbari, K., Kuo, A., Maheswari, U., et al. (2008) The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes. *Nature* 456, 239–244.
- Cock, J.M., Sterck, L., Rouze, P., Scornet, D., Allen, A.E., Amoutzias, G., Anthouard, V., et al. (2010) The *Ectocarpus* genome and the independent evolution of multicellularity in brown algae. *Nature* 465, 617– 621.
- Vieler, A., Wu, G., Tsai, C.H., Bullard, B., Cornish, A.J., Harvey, C., Reca, I.B., et al. (2012) Genome, functional gene annotation, and nuclear transformation of the heterokont oleaginous alga *Nannochloropsis oceanica* CCMP1779. *PLoS Genet.* 8, e1003064.
- Read, B.A., Kegel, J., Klute, M.J., Kuo, A., Lefebvre, S.C., Maumus, F., Mayer, C., et al. (2013) Pan genome of the phytoplankton *Emiliania* underpins its global distribution. *Nature* 499, 209–213.
- Moustafa, A., Beszteri, B., Maier, U.G., Bowler, C., Valentin, K., and Bhattacharya, D. (2009) Genomic footprints of a cryptic plastid endosymbiosis in diatoms. *Science* 324, 1724–1726.
- Yuzawa, Y., Nishihara, H., Haraguchi, T., Masuda, S., Shimojima, M., Shimoyama, A., Yuasa, H., Okada, N. and Ohta, H. (2012) Phylogeny of galactolipid synthase homologs together with their enzymatic

analyses revealed a possible origin and divergence time for photosynthetic membrane biogenesis. *DNA Res.* 19, 91–102.

- Shoguchi, E., Shinzato, C., Kawashima, T., Gyoja, F., Mungpakdee, S., Koyanagi, R., Takeuchi, T., et al. (2013) Draft assembly of the *Symbiodinium minutum* nuclear genome reveals dinoflagellate gene structure. *Curr. Biol.* 23, 1399–1408.
- Botte, C.Y., Yamaryo-Botte, Y., Rupasinghe, T.W., Mullin, K.A., MacRae, J.I., Spurck, T.P., Kalanon, M., et al. (2013) Atypical lipid composition in the purified relict plastid (apicoplast) of malaria parasites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 7506–7511.
- Botte, C.Y., Yamaryo-Botte, Y., Janouskovec, J., Rupasinghe, T., Keeling, P.J., Crellin, P., Coppel, R.L., Marechal, E., McConville, M.J. and McFadden, G.I. (2011) Identification of plant-like galactolipids in *Chromera velia*, a photosynthetic relative of malaria parasites. *J. Biol. Chem.* 286, 29893–29903.
- 31. Yuzawa, Y., Shimojima, M., Sato, R., Mizusawa, N., Ikeda, K., Suzuki, M., Iwai, M., et al. (2014) Cyanobacterial monogalactosyldiacylglycerol-synthesis pathway is involved in normal unsaturation of galactolipids and low-temperature adaptation of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta* 1841, 475–483.
- Masuda, S., Harada, J., Yokono, M., Yuzawa, Y., Shimojima, M., Murofushi, K., Tanaka, H., et al. (2011) A monogalactosyldiacylglycerol synthase found in the green sulfur bacterium *Chlorobaculum tepidum* reveals important roles for galactolipids in photosynthesis. *Plant Cell* 23, 2644–2658.

Evolution and Distribution of Galactolipid Biosynthetic Pathways in Photosynthetic Organisms

Koichiro Awai^{1,2,3,*}

¹Department of Biological Science, Faculty of Science, Shizuoka University, ²Research Institute of Electronics, Shizuoka University, ³Precursory Research for Embryonic Science and Technology (PRESTO), Japan Science and Technology Agency (JST)

光合成細菌の脂質[‡]

¹東京工業大学 地球生命研究所 ²JST・さきがけ ³立命館大学大学院 生命科学研究科 塚谷 祐介 ^{1,2,*} 民秋 均³ 溝口 正³

植物やシアノバクテリアと比べるとより始原的で酸素を発生しない光合成を行う光合成細菌は、現在 までに6門に渡って単離されており、多様な光合成器官を持つ。光化学系反応中心、光捕集アンテナ 複合体、バクテリオクロロフィル分子種、およびそれらの組み合わせは、門ごとに多様性に富み、脂 質組成もそれぞれに特徴がある。本稿では、まずは光合成細菌の門レベルでの系統分類体系を整理し ながら、各グループでの脂質組成について特徴的な点を概説する。また、光合成細菌の脂質合成系に ついて述べるとともに、薄層クロマトグラフィー(TLC)に代わる脂質検出同定法として近年我々の 研究グループが採用している蒸発光散乱検出器に基づく方法についても紹介する。

1. はじめに

脂質は、全ての生物において生体膜を構成する重要 な成分であり古くから基礎研究が盛んに行われてき た。加えて近年では、バイオ燃料として脂質を有効活 用するため、光合成生物を用いた脂質大量生産へ向け た生物工学的研究も注目されている¹⁾。植物において、 細胞膜が主にリン脂質から成るのに対して、葉緑体膜 は主に糖脂質であるガラクト脂質で構成されること はよく知られた事実である2)。一方で、よく似た現象 が酸素非発生型光合成を行う「光合成細菌」の一群で も見られる。緑色硫黄細菌や繊維状光合成細菌と総称 される光合成細菌のグループでは、細胞膜はリン脂質 がほとんどであるが、「クロロソーム」と呼ばれる光 捕集オルガネラを覆う膜成分は主にガラクト脂質に よって構成される^{3,4)}。クロロソームは、細胞膜の細胞 質側に接着した小嚢状の光捕集オルガネラであり、ガ ラクト脂質の一重膜の内部にバクテリオクロロフィ ル自己会合体とカロテノイドを多量に含む特殊な構 造をしている³⁾。これは言わば植物の葉緑体で見られ るような脂質の"仕分け"が、より始原的な光合成細菌 でも存在していることを示唆しているが、クロロソー ムの生合成過程は不明な点が多く、また脂質合成/輸送 の観点からみた光合成細菌からシアノバクテリア/植

物への進化についての議論も醸成されていない。

2. 光合成細菌における脂質組成

2.1. 光合成細菌の分類

酸素非発生型の光合成細菌は、6 つの門において単 離株が報告されている(図 1 参照)。植物やシアノバ クテリアが2つの光化学系反応中心を持つのに対して、 光合成細菌はどちらか一方のタイプの反応中心だけ で光合成生育を行う。具体的には、系 I 型反応中心を もつ系統群は、緑色硫黄細菌(Chlorobi門)、ヘリオバ クテリア(Firmicutes 門)、クロラシドバクテリウム (Acidobacteria 門)であり、系 II 型反応中心をもつグ ループとしては、繊維状光合成細菌(Chloroflexi 門)、 紅 色 細 菌 (Proteobacteria 門)、および昨年 Gemmatimonadetes 門で初めて報告されたばかりの光 合成細菌⁵⁾がある(図 1)。このうちクロロソームを持 つ光合成細菌は、反応中心のタイプに関わらず3つの 門にまたがり、緑色硫黄細菌、クロラシドバクテリウ ム、および繊維状光合成細菌に存在する(図 1)。

2.2. 緑色硫黄細菌

緑色硫黄細菌において、細胞膜の主要な脂質はリン 脂質であるが⁶、クロロソームを構成する脂質の過半 数はガラクト脂質型の糖脂質である⁴⁾。クロロソーム においてモル比でリン脂質が1に対して糖脂質が1~3 であるが、一方で細胞膜ではリン脂質が糖脂質よりも

^{*}解説特集「光合成と脂質」

^{*}連絡先 E-mail: tsukatani@elsi.jp



図 1.6 門の光合成細菌系統群の 16S rRNA に基づく系統関係の模式図。植物型の光合成を行うシアノバクテリアおよ びアウトグループとして Aquificae 門も含めた。系 I 型反応中心を持つものを緑色、系 II 型反応中心を持つものを橙色で示 し、クロロソームを持つものを黒枠で囲った。

5~12 倍存在している⁷⁾。緑色硫黄細菌のモデル生物で ある *Chlorobaculum tepidum* において、クロロソーム脂 質の過半数は、単糖のモノガラクトシルジアシルグリ セロール (MGDG) および二糖のラムノシルガラクト シルジアシルグリセロール (RGDG) のガラクト脂質 から成る (図 2 および表 1)^{4,8)}。これらのガラクト脂 質の脂肪酸組成は、炭素数 16 や 15 のものが主要であ るが、シクロプロパン環やメチル側鎖を持つ脂肪酸も 検出されている⁹⁾。我々のグループは、HPLC に蒸発 光散乱検出器 (ELSD) および質量分析器 (MS) を連 結させた装置 (HPLC-ELSD-MS) を用いて、6 種の緑 色硫黄細菌の糖脂質組成を調べたので表 2 を参照され たい。これらの細菌のうち 5 種で常温 (25℃) が生育 至適温度であり、*Cba. tepidum* のみが好熱性(45℃) であるが、シクロプロパン環とメチル側鎖を持つ脂肪 酸は *Cba. tepidum* のみで検出された(表 2)¹⁰⁾。*Cba. tepidum* を 25℃で培養すると、シクロプロパン環とメ チル側鎖を持つ脂肪酸が検出されなくなることから (表 2 および図 3)、これらの脂肪酸の合成は高温適応 の結果であると示唆される¹⁰⁾。また、シクロプロパン 環の合成を阻害するシネファンジンを培地に添加し た実験では、この脂肪酸が酸性耐性にも寄与している ことも示された¹¹⁾。*Cba. tepidum* のゲノム上でシクロ プロパン脂肪酸合成酵素と注釈付けされた遺伝子 (*CT1969*)が見つかったため、我々はこの遺伝子の破 壊株を作製したが、変異株はシクロプロパン環を合成



図 2. MGDG および RGDG の化学構造式。 シクロプロパン環の形成およびラムノシル 基の付加について推定される合成経路とと もに示す。

	PG	CL	PE	PC	PI	DGTA	OA	SQDG	MGDG	RGDG	GlcGalDG	other lipids
Chlouchi												
Chiorobi												
Cba. tepidum	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	AGS
Chlorobium limicola	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	
Pelodictyon luteolum	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	
Chloroflexi												
Cfx. aurantiacus	+	+/-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	
Rfx. castenholzii	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	
Acidobacteria												
Cab. thermophilum	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	PME
Proteobacteria												
Rhodobacter sphaeroides	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	
Rhodovulum sulfidophilum	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	
Blastochloris viridis	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	sulfolipid
Rhodocyclus tenuis	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	
Chromatium vinosum	+	+	+	-	-	-	-	+/-	-	-	-	glycolipid
Ectothiorhodospira halochloris	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
Firmicutes												
Heliobacterium chlorum	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	

表1. 光合成細菌の系統群ごとの脂質組成

Abbreviations: PG, phosphatidylglycerol; CL, cardiolipin; PE, phosphatidylethanolamine; PC, phosphatidylcholine; PI, phosphatidylinositol; DGTA, diacylglycerylhydroxymethyl-*N*,*N*,*N*-trimethylalanine; OA, ornithine amide; SQDG, sulfoquinovosyldiacylglycerol; MGDG, monogalactosyldiacylglycerol; RGDG, rhamnosylgalactosyldiacylglycerol; GlcGalDG, glucosylgalactosyldiacylglycerol; AGS, aminoglycosphingolipid; PME, phosphatidyl-*N*-methylethanolamine. +, present; +/-, present in very small amounts or not definitely proven; -, absent.

し続けており、この特殊な脂肪酸の合成経路は未だに 不明である。

リン脂質としては、ホスファチジルグリセロール (PG) が多くの緑色硫黄細菌で同定され、カルジオリ ピン (CL) やホスファチジルエタノールアミン (PE) は種によっては検出される(表1)⁷⁾。*Cba. tepidum*の リン脂質としては、PG と PE が多く検出される⁴⁾。ま た細胞膜画分およびクロロソーム画分のどちらから も、アミノグルコスフィンゴ脂質(AGS) が検出され ている。AGS は、クロロソームと細胞膜の接着面に介 在することが示唆されている(なお、接着面のタンパ ク質組成が大きく異なる繊維状光合成細菌には AGS は存在しない)⁴⁾。

2.3. 繊維状光合成細菌

繊維状光合成細菌のモデル生物である Chloroflexus aurantiacus のクロロソームからは、単糖のガラクト脂 質としては緑色硫黄細菌と同様に MGDG が同定され ているが、二糖のガラクト脂質は RGDG ではなく、極 性頭部にグルコースとガラクトースを持つグルコシ ルガラクトシルジアシルグリセロール (GlcGalDG) で あると示唆されている 12-14)。脂肪酸組成は、緑色硫黄 細菌で多く見られるような炭素数 15 や 16 のものはほ とんどなく、炭素数18や19のものが主要であり、炭 素数 20 の脂肪酸も微量ながら検出されている。繊維 状光合成細菌のリン脂質として、ホスファチジルイノ シトール(PI)が主要な成分であることが、他のどの 光合成細菌とも異なる特徴的な点である¹⁵⁾。Cfx. autantiacus のいくつかの株で、PI と PG が検出される が、PE やホスファチジルセリン (PS) は存在しない ことが報告されている(表 1)^{15,16)}。また、Cfx. aurantiacus においても緑色硫黄細菌と同様に、糖脂質 はクロロソームの主要な脂質成分ではあるが細胞膜 にも一定量存在することが示唆されている。緑色硫黄 細菌では全ての種がクロロソームを持つことが知ら れているが、繊維状光合成細菌ではクロロソームを持 つ Cfx. aurantiacus の近縁種として、クロロソームを持 たない Roseiflexus castenholzii という光合成細菌が単離

	Cba. tepidum	Cba. tepidum	Cba. parvum	Cba. limnaeum	Chlorobium	Chl. limicola	Chl. limicola
	(45°C)	(25°C)			phaeovibrioides	DSM245	Larsen
MGDG(15:1,15:0)	-	+	+	+	+	+	+
MGDG(16:1,16:1)	-	+	+	+	+	+	+
MGDG(16:1,16:0)	-	+	+	+	+	+	+
MGDG(16:1,15:0)	(+)	(+)	-	+	(+)	+	-
MGDG(16:0,16:0)	+	-	-	-	-	-	-
MGDG(17:Cyc,16:0)	+	(+)	-	(+)	-	-	-
MGDG(16:Me,16:0)	+	-	-	-	-	-	-
RGDG(15:1,15:0)	-	(+)	+	(+)	+	+	(+)
RGDG(16:1,16:1)	-	(+)	+	(+)	+	+	(+)
RGDG(16:1,16:0)	-	+	+	+	+	+	+
RGDG(16:1,15:0)	(+)	(+)	-	+	+	+	-
RGDG(16:0,16:0)	(+)	-	-	-	-	-	-
RGDG(17:Cyc,16:0)	+	(+)	-	(+)	-	-	-
RGDG(16:Me,16:0)	+	-	-	-	-	-	-
RGDG/total glycolipids	(%) 60.4	3.8	12.2	16.9	44.0	41.7	5.8
C ₁₅ content(%)	1.1	8.5	23.6	31.6	50.9	25.3	16.1
C ₁₆ content(%)	53.4	91.3	76.4	67.5	49.2	73.7	83.9
C ₁₇ content(%)	45.4	0.2	0	0.9	0	1.1	0
Antenna pigment	BChl-c	BChl-c	BChl-d	BChl-e	BChl-e	BChl-c	BChl-c

表 2. 緑色硫黄細菌のガラクト脂質組成

+, present; (+), present but less than 2% of total glycolipids; -, absent; BChl, bacteriochlorophyll.

Cba. tepidum 以外の5種の至適生育温度は室温(25°C)である。HPLC-ELSDのピーク面積値からパーセンテージを決定した。

されている¹⁷⁾。*Rfx. castenholzii*の脂質解析では、MGDG が検出された¹⁸⁾。つまり繊維状光合成細菌の形質とし てガラクト脂質合成系を元々備えており、*Cfx. aurantiacus* は遺伝子の水平移動によってクロロソーム 合成系を獲得したと考えられる。一方で緑色硫黄細菌 においてガラクト脂質合成系とクロロソームの獲得 が進化の過程でどのようにリンクしているのかは興 味深いところである。

2.4. クロラシドバクテリウム

2007年に Acidobacteria 門における初めての光合成 細菌として、イエローストーン国立公園内の温泉マッ トから Chloracidobacterium thermophilum が発見・報告 された¹⁹⁾。門レベルで新規な光合成細菌の報告はおよ そ四半世紀ぶりのことであり、この発見が Science 誌 に掲載されたことからもインパクトの大きさが分か る¹⁹⁾。この新種の脂質成分に関する研究は現在までに 一報だけであるが、クロロソーム画分および細胞での 顕著な極性脂質としてベタイン脂質であるジアシル グリセリルヒドロキシメチル-N,N,N-トリメチル-β-ア ラニン (DGTA) が報告されている²⁰⁾。その他のマイ ナー成分としては、PE、ホスファチジルメチルエタノ ールアミン (PME)、ホスファチジルコリン (PC) が 検出されている (表 1)。リンの代わりに窒素を含むベ タイン脂質の存在は、この光合成細菌が生息する温泉 マットの恒常的なリン欠乏環境に適応した結果であ ると考えられる²¹⁾。また、*Cab. thermophilum*の脂肪酸 成分の解析からは、C18 アルケンの存在が報告されて いる²⁰⁾。今後のゲノム比較研究によって、この脂肪酸 の生合成系やリン欠乏への適応進化過程が解明され ることに期待したい。

2.5. 紅色細菌

紅色細菌は、*Proteobacteria* 門の α および β サブグル ープに分類される紅色"非硫黄"細菌と、 γ サブグル ープに分類される紅色"硫黄"細菌に細分される。

αサブグループの Rhodobacteraceae 科などに代表される紅色非硫黄細菌は、PG、CL、PE や PC が主要な 脂質である(表 1)⁷⁾。また、オルニチンアミド(OA) も合成する種が多いのが、紅色非硫黄細菌の特徴であ る²²⁾。海洋性紅色非硫黄細菌である Rhodovulum 属の 数種でスルホキノボシルジアシルグリセロール
(SQDG)の存在が報告されている(淡水性種でも微量ながら報告されている)⁷⁾。興味深いことに紅色非硫黄細菌 *Rhodobacter sphaeroides* を低リン濃度で培養すると、ベタイン脂質であるジアシルグリセリル-*N*,*N*,*N*-トリメチル-ホモセリン(DGTS)や糖脂質が合成されることが報告されているが²³⁾、通常の生育条件ではこれらは検出されない。

γサブグループの Chromatiaceae 科などに代表され る紅色硫黄細菌の特徴としては、PG、CL、PE や PC が主要な脂質であるが、どれかが顕著に多量であるわ けではない (表 1)⁷⁾。糖脂質としては、モノグルコシ ル基が付いた糖脂質がいくつかの種で報告されてい るが、ガラクト脂質はない²⁴⁾。また SQDG とよく似た クロマトグラフィーを示す成分が報告されているが、 同定には至っていない²²⁾。主に Ectothiorhodospiraceae 科の細菌で、シクロプロパン環の付いた脂肪酸が検出 されているのも一つの特徴である⁷⁾。

2.6. ヘリオバクテリア

Heliobacterium chlorum で脂質組成が調べられた例が あり、PG、CL、および PE が主要なリン脂質であり、 糖脂質はない¹⁶⁾。

3. 脂質生合成酵素について

まず、植物とシアノバクテリアにおける MGDG や ジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG) など のガラクト脂質の詳細な生合成系については本号の 他の総説²⁵⁾を参照していただきたい。植物の糖脂質合 成酵素 MGD1 は、UDP-ガラクトースを基質として MGDG を合成するのに対して、シアノバクテリアの糖 脂質合成酵素 MgdA は UDP-グルコースを基質として 一旦モノグルコシルジアシルグリセロール (GlcDG) を生成し、これに異性化酵素が作用して MGDG が合 成される²⁵⁾。近年同定された緑色硫黄細菌 Cba. tepidum の糖脂質合成酵素 MgdA は、(酵素名がシアノ バクテリアと同じではあるが)反応機構としては植物 と同じであり、UDP-ガラクトースを基質として一段 階反応で MGDG を合成する点に注意されたい²⁶⁾。Cba. tepidumの mgdA 遺伝子は欠損致死であり、これらはク ロロソーム生合成に関わると推定される多くの遺伝 子と同様である (Tsukatani et al., unpublished data)。 MGDG 合成量が大幅に低下した mdgA ノックダウン変 異株を作製すると、クロロソーム内のバクテリオクロ ロフィル自己会合体の Q_y 吸収ピークが長波長へシフ トを起こし、クロロソームの形状も変化していたこと から、MgdA がクロロソーム生合成に関与することが 示唆される²⁶⁾。しかしながら興味深いことに、MgdA はクロロソームではなく細胞膜に局在すると考えら れている。ちなみに、*Cba. tepidum* にはシアノバクテ リア MgdA (GlcDG 合成酵素)のホモログも存在する が、これはカロテノイド配糖体エステルを合成する酵 素であることが明らかとなっている²⁷⁾。緑色硫黄細菌 の RGDG 合成酵素 (ラムノシル転移酵素) は未同定で ある。

反応機構は同じであるが、植物と緑色硫黄細菌の MGDG 合成酵素は、アミノ酸配列の相同性は低い。植 物 MGD1 がグルコシル転移酵素 28 (GT28) ファミリ ーに属するのに対して、緑色硫黄細菌の MgdA は GT1 ファミリーに分類される²⁶⁾。一方で、繊維状光合成細 菌 Cfx. aurantiacus および Rfx. castenholzii の MGDG 合 成酵素は、植物 MGD1 とアミノ酸相同性が高く、GT28 ファミリーに分類され、その反応機構はやはり UDP-ガラクトースを基質とする点で植物(および緑色硫黄 細菌)の酵素と同様である¹⁸⁾。糖脂質合成酵素群のア ミノ酸配列に基づく系統解析の結果から、藻類(植物) の糖脂質合成系の起源はシアノバクテリアではなく 光合成細菌であり、おそらく繊維状光合成細菌の糖脂 質合成系が水平伝播したものであろうと考えられて いる¹⁸⁾。また、繊維状光合成細菌には GlcDG 合成酵 素も存在することが知られており酵素活性も調べら れているが、その反応生成物である GlcDG は生体から はほとんど検出されない¹⁸⁾。繊維状光合成細菌の糖転 移酵素(二糖のガラクト脂質合成酵素)をシアノバク テリアや植物に導入した研究例では MGDG と UDP-グルコースを基質として GlcGalDG を合成することが 確かめられているが^{13,14)}、基質特異性に関しては未だ 不明な点も残されている¹⁸⁾。

紅色細菌 Rhodobacter sphaeroides のリン脂質 PG と PE の合成系は、大腸菌のそれと同様であると考えら れている²⁸⁾。具体的には、CDP-ジアシルグリセロー ルに対してグリセロール-3-リン酸あるいは L-セリン が反応することで、最終的にそれぞれ PG と PE が合成 される。紅色細菌のリン脂質合成酵素は細胞膜に局在 する。多くの紅色細菌は、(シアノバクテリアのチラ コイド膜のようにも見える)細胞質内にスタックした 膜構造(Intracytoplasmic membrane: ICM)を持つこと で知られている。ICM は、(細胞質で生成された膜構 造が細胞膜と結合したのではなく)細胞膜が徐々に細 胞質側へ貫入することで形成されると考えられてい る²⁹⁾。

Rba. sphaeroides の SQDG 合成系については、1990 年代の研究で 4 つの遺伝子 *sqdA-D* がコードするタン パク質が関係することが明らかとなっている^{30,31}。こ のうち、SqdB は UDP-グルコースを UDP-スルホキノ ボースに変換する酵素であり、SqdD はスルホキノボ シル転移酵素であることがそれぞれ示唆されている ^{30,31}。

4. 蒸発光散乱検出器を用いた脂質の同定

極性脂質は、通常クロロフィル色素の分離同定に用 いる C18 カラム等で分離可能であるが、特定の光吸収 帯を持たないため分光検出器による同定が出来ない。 著者らのグループは近年、蒸発光散乱検出器と質量分 析器を連結した HPLC システム (HPLC-ELSD-MS) に よる詳細で簡便な脂質同定法を採用している 8-11)。旧 来の方法では、脂質を脂肪酸とヘッドグループに分解 してから脂肪酸成分の同定をするため、例えば MGDG (16:1,16:0) といった特定の脂質中の2つの脂肪酸成 分のコンビネーションが分からない。HPLC-ELSD-MS システムを用いれば、図3に例として示すように、一 つの HPLC 分離パターン上で、それぞれの脂質成分お よび脂肪酸組成を同定することができる。特に緑色硫 黄細菌のように、脂肪酸組成が多様な場合はこの方法 は有効であった¹⁰⁾。また、一旦モデル生物を用いて HPLC プロファイル上に表れる脂質組成の同定を行え ば、その近縁種や変異株等の脂質解析は、質量分析器 を連結しない HPLC-ELSD でも充分に同定可能であろ う。

光合成細菌からの脂質の抽出は、古くから総脂質の 抽出法として利用されている Bligh & Dyer法³²⁾に従っ た。クロロソームを持つ緑色硫黄細菌や繊維状光合成 細菌では、大量のバクテリオクロロフィル色素が同時 に抽出されるため、シリカゲルカラムクロマトグラフ ィーによる前処理を行った。クロロホルムを移動相と してバクテリオクロロフィルやカロテノイドなどの 光合成色素を溶出後、アセトン、メタノールを順次移



図 3. 緑色硫黄細菌 Cba. tepidum の糖脂質の HPLC-ELSD プロファイルの一例。このように2つの 脂肪酸のコンビネーションを維持したまま検出同定でき る。(a)と(b) Cba. tepidum をそれぞれ 45℃(生育至適温度) と25℃で培養し、糖脂質画分を抽出して測定した。

動相とすることで、糖脂質、リン脂質がそれぞれ溶出 してくる。得られた糖脂質、リン脂質画分をそれぞれ HPLC-ELSD-MS 測定用試料とした。リン脂質に関して は、³¹P-NMR も有効な手法の一つで、リン脂質の種類 を容易に識別することができる。図3に ELSD 検出で 得られた緑色硫黄細菌の糖脂質画分のクロマトグラ ムを示す。質量分析器を併設することで、クロマトグ ラム上で分離された各糖脂質の分子種を同定するこ とが可能となる。図3では、HPLC 用移動相としてア セトンと酢酸アンモニウム水溶液の混合溶液を、イオ ン化としてエレクトロスプレー法を用いているが、酢 酸アンモニウムに由来する[M+NH4]⁺イオンが分子イ オンとして良好に観測される。同時に、ヘッドグルー プの開裂、sn-1 位あるいは sn-2 位での脂肪酸の開裂に 由来するフラグメントイオンも観測される。脂肪酸エ ステル部位の開裂に由来するフラグメントピークを 読み解くことで、解析対象の糖脂質が持つ二つの脂肪 酸が同定できる。なお、HPLC-ELSD-MS 法では、次の 点が一義的に構造決定できないことにも注意された い。脂肪酸中の不飽和結合やシクロプロパン環の位置 (何番目の炭素に結合か)、異なる二つの脂肪酸を持 つグリセロ脂質の場合各脂肪酸の結合位置(sn-1 ある いは sn-2 位か)、あるいはグリセリン骨格の立体構造 は決定できない。これらの点の同定には化学誘導化法 を含む他の測定が必要となる。今回紹介した ELSD 検 出器は、HPLC カラムで分離されてくる溶液を霧状に 噴霧し、生成される微粒子の光散乱を検出している。 従って、蛍光プローブの修飾など行わずとも、インタ クトな分子としての脂質が高感度に検出可能である。 定量性の問題はまだ残されているが、サンプル注入量 と HPLC ピーク面積の両対数をとることで、対応可能 であることが示唆されている。他に、コロナ放電に基 づく検出器も HPLC にインライン接続可能である。こ の検出器は ELSD に比べて高価であるが、より感度が 高く定量性にも優れている。

5. おわりに

生命がいかにして光合成能を獲得したのか、さらに は始原的な光合成を行う光合成細菌から酸素発生型 光合成を行うシアノバクテリアへの進化過程の解明 は、謎多き課題である。16S rRNA に基づく系統解析 では繊維状光合成細菌が最も分岐が古くなり33)、一方 で光合成反応に必須な色素生合成遺伝子をマーカー とした系統解析では紅色細菌が最も祖先に近くなる ³⁴⁾。どちらも系II型反応中心を持つグループである。 現在我々が行っている進化再現実験の結果からは、詳 細は省略するが、緑色硫黄細菌の系Ⅰ型反応中心の機 能的なアッセンブリには糖脂質 MGDG の介在が重要 であることが示唆された³⁵⁾。こうしてみてみると、ハ ウスキーピング遺伝子や光化学系/色素合成系関連遺 伝子だけでなく、脂質生合成系遺伝子の獲得の経緯・ 時期も、光合成の進化過程を明らかにするうえで重要 な要因であることが分かる。今後は、緑色硫黄細菌と 繊維状光合成細菌におけるクロロソーム生合成と脂 質合成の機能的/構造的/進化的な相関の解明や、繊維 状光合成細菌の系Ⅱ型反応中心にも糖脂質は結合し ているのか、あるいは(主にベタイン脂質によってク ロロソームを構成する) クロラシドバクテリウムの系 I型反応中心³⁰にはどのような脂質が結合している のか、といった問題が明らかとなることに期待したい。

Received June 5, 2015; Accepted June 22, 2015; Published

August 31, 2015

参考文献

- 和田元、佐藤直樹 (2013) 脂質生産を微細藻類 に託せるか?-脂質を貯めるわけと仕組みー. 現 代化学 506, 24-28.
- 太田啓之、下嶋美恵、栗井光一郎、増田 建、高 宮建一郎 (1997) 葉緑体チラコイド膜糖脂質の 分子構築-そのメカニズムと起源-. 蛋白質 核 酸 酵素 42,2601-2612.
- Frigaard, N.U. and Bryant, D.A. (2006) Chlorosomes: antenna organelles in photosynthetic green bacteria, in *Complex Structures in Prokaryotes* (Shively, J.M., Ed.) vol. 2, pp 79–114, Springer, Berlin, Germany.
- Sørensen, P.G., Cox, R.P. and Miller, M. (2008) Chlorosome lipids from *Chlorobium tepidum*: Characterization and quantification of polar lipids and wax esters. *Photosynth. Res.* 95, 191–196.
- Zeng, Y., Feng, F., Medová, H., Dean, J. and Koblížek, M. (2014) Functional type 2 photosynthetic reaction centers found in the rare bacterial phylum *Gemmatimonadetes. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 7795–7800.
- Cruden, D.J. and Stainer, R.Y. (1970) The characterization of *Chlorobium* vesicles and membranes isolated from green bacteria. *Arch. Microbiol.* 72, 115–134.
- Imhoff, J.F. and Bias-Imhoff, U. (1995) Lipids, quinones and fatty acids of anoxygenic phototrophic bacteria, in *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria* (Blankenship, R.E., Madigan, M.T. and Bauer, C.E., Eds.) pp 179–205, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- Yoshitomi, T., Mizoguchi, T. and Tamiaki, H. (2011) Characterization of glycolipids in light-harvesting chlorosomes from the green photosynthetic bacterium *Chlorobium tepidum. Bull. Chem. Soc. Jpn.* 84, 395– 402.
- Mizoguchi, T., Yoshitomi, T., Harada, J. and Tamiaki,
 H. (2011) Temperature- and time-dependent changes in the structure and composition of glycolipids during

the growth of the green sulfur photosynthetic bacterium *Chlorobaculum tepidum*. *Biochemistry* 50, 4504–4512.

- Mizoguchi, T., Harada, J., Yoshitomi, T. and Tamiaki, H. (2013) A variety of glycolipids in green photosynthetic bacteria. *Photosynth. Res.* 114, 179– 188.
- Mizoguchi, T., Tsukatani, Y., Harada, J., Takasaki, S., Yoshitomi, T. and Tamiaki, H. (2013) Cyclopropane-ring formation in the acyl groups of chlorosome glycolipids is crucial for acid resistance of green bacterial antenna systems. *Bioorg. Med. Chem.* 21, 3689–3694.
- Knudsen, E., Jantzen, E., Bryn, K., Ormerod, J.G. and Sirevag, R. (1982) Quantitative and structural characteristics of lipids in *Chlorobium* and *Chloroflexus. Arch. Microbiol.* 132, 149–154.
- Hölzl, G., Zähringer, U., Warnecke, D. and Heinz, E. (2005) Glycoengineering of cyanobacterial thylakoid membranes for future studies on the role of glycolipids in photosynthesis. *Plant Cell Physiol.* 46, 1766–1778.
- Hölzl, G., Witt, S., Kelly, A.A., Zähringer, U., Warnecke, D., Dörmann, P. and Heinz, E. (2006) Functional differences between galactolipids and glucolipids revealed in photosynthesis of higher plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 7512–7517.
- Kenyon, C.N. and Gray, A.M. (1974) Preliminary analysis of lipids and fatty acids of green bacteria and *Chloroflexus. J. Bacteriol.* 120, 131–138.
- Imhoff, J.F. (1988) Lipids, fatty acids and quinones in taxonomy and phylogeny of anoxygenic phototrophic bacteria, in *Green Photosynthetic Bacteria* (Olson, J.M., Ormerod, J.G., Amesz, J., Stackebrandt, E. and Truper, H.G., Eds.) pp 223–232, Plenum Press, New York, USA.
- Hanada, S., Takaichi, K., Matsuura, K. and Nakamura, K. (2002) *Roseiflexus castenholzii* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, filamentous, photosynthetic bacterium that lacks chlorosomes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 187–193.

- Yuzawa, Y., Nishihara, H., Haraguchi, T., Masuda, S., Shimojima, M., Shimoyama, A., Yuasa, H., Okada, N. and Ohta, H. (2012) Phylogeny of galactolipid synthase homologs together with their enzymatic analyses revealed a possible origin and divergence time for photosynthetic membrane biogenesis. *DNA Res.* 19, 91–102.
- Bryant, D.A., Costas, A.M., Maresca, J.A., Chew, A.G., Klatt, C.G., Bateson, M.M., Tallon, L.J., Hostetler, J., Nelson, W.C., Heidelberg, J.F. and Ward, D.M. (2007) *Candidatus* Chloracidobacterium thermophilum: an aerobic phototrophic acidobacterium. *Science* 317, 523–526.
- Garcia Costas, A.M., Tsukatani, Y., Rijpstra, W.I., Schouten, S., Welander, P.V., Summons, R.E. and Bryant, D.A. (2011) Identification of the bacteriochlorophylls, carotenoids, quinones, lipids, and hopanoids of "*Candidatus* Chloracidobacterium thermophilum." *J. Bacteriol.* 194, 1158–1168.
- Adams, M., Gomez-Garcia, M.R., Grossman, A.R. and Bhaya, D. (2008) Phosphorus deprivation responses and phosphonate utilization in a thermophilic *Synechococcus* sp. from microbial mats. *J. Bacteriol.* 190, 8171–8184.
- Imhoff, J.F., Kushner, D.J., Kushwaha, S.C. and Kates, M. (1982) Polar lipids in phototrophic bacteria of the *Rhodospirillaceae* and *Chromatiaceae* families. *J. Bacteriol.* 150, 1192–1201.
- Benning, C., Huang, Z.H. and Gage, D.A. (1995) Accumulation of a novel glycolipid and a betaine lipid in cells of *Rhodobacter sphaeroides* grown under phosphate limitation. *Arch. Biochem. Biophys.* 317, 103–111.
- Steiner, S., Conti, S.F. and Lester, R.L. (1969) Separation and identification of the polar lipids of *Chromatium* strain D. J. Bacteriol. 98, 10–15.
- 25. 粟井光一郎 (2015) 光合成生物におけるガラクト脂質合成経路の分布と進化. 光合成研究 25, 143-150.
- Masuda, S., Harada, J., Yokono, M., Yuzawa, Y., Shimojima, M., Murofushi, K., Tanaka, H., Masuda, H., Murakawa, M., Haraguchi, T., Kondo, M.,

Nishimura, M., Yuasa, H., Noguchi, M., Oh-Oka, H., Tanaka, A., Tamiaki, H. and Ohta, H. (2011) A monogalactosyldiacylglycerol synthase found in the green sulfur bacterium *Chlorobaculum tepidum* reveals important roles for galactolipids in photosynthesis. *Plant Cell* 23, 2644–2658.

- Maresca, J.A. and Bryant, D.A. (2006) Two genes encoding new carotenoid-modifying enzymes in the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. J. *Bacteriol.* 188, 6217–6223.
- Cain, B.D., Singer, M., Donohue, T.J. and Kaplan, S. (1983) In vivo metabolic intermediates of phospholipid biosynthesis in *Rhodopseudomonas sphaeroides. J. Bacteriol.* 156, 375–385.
- Gorchein, A., Neuberger, A. and Tait, G.H. (1968) Metabolic turnover of the lipids of *Rhodopseudomonas sphaeroides. Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 170, 311–318.
- Benning, C. and Somerville, C.R. (1992) Identification of an operon involved in sulfolipid biosynthesis in *Rhodobacter sphaeroides*. J. Bacteriol. 174, 6479–6487.
- Rossak, M., Tietje, C., Heinz, E. and Benning, C. (1995) Accumulation of UDP-sulfoquinovose in a

sulfolipid-deficient mutant of *Rhodobacter* sphaeroides. J. Biol. Chem. 270, 25792–25797.

- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.
- Woese, C.R. (1987) Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51, 221–264.
- Xiong, J., Fischer, W.M., Inoue, K., Nakahara, M. and Bauer, C.E. (2000) Molecular evidence for the early evolution of photosynthesis. *Science* 289, 1724– 1730.
- 35. Tsukatani, Y. and Masuda, S. (2015) Elucidation of genetic backgrounds necessary for chlorophyll *a* biosynthesis toward artificial creation of oxygenic photosynthesis. *Orig. Life Evol. Biosph.* in press, DOI 10.1007/s11084-015-9446-1.
- Tsukatani, Y., Romberger, S.P., Golbeck, J.H. and Bryant, D.A. (2012) Isolation and characterization of homodimeric type-I reaction center complex from *Candidatus* Chloracidobacterium thermophilum, an aerobic chlorophototroph. *J. Biol. Chem.* 287, 5720– 5732.

Lipids in Anoxygenic Phototrophic Bacteria

Yusuke Tsukatani^{1,2,*}, Hitoshi Tamiaki³, and Tadashi Mizoguchi³

¹Earth-Life Science Institute, Tokyo Institute of Technology, ²PRESTO, Japan Science and Technology Agency, ³Graduate School of Life Sciences, Ritsumeikan University

第6回 日本光合成学会(年会・公開シンポジウム)開催報告

シンポジウムオーガナイザー:松田祐介(関西学院大学) 高橋 裕一郎(岡山大学) 年会世話人:松田祐介(関西学院大学) 高橋 裕一郎(岡山大学)

第6回日本光合成学会(年会・公開シンポジウム)が、2015年5月22日~23日の2日間にわたって岡山国際交流センターで行われました。参加者は165名、ポスター発表は75題、企業展示6件でした。日本光合成研究会時代の2007年に岡山大学でシンポジウムを開催したときに比べ、参加者が1.5倍に増え、ポスター発表の演題数はおよそ2倍に増えました。特に参加者の所属が日本中に広がっていることを強く感じました。今回も企業展示、岡山コンベンション協会からの助成金、要旨集への広告の掲載、などの資金集めの努力もしましたが、学生も含めて参加者から参加費を頂くことにしました。

一日目のシンポジウム1は、「若手光合成研究者による光合成研究の新展開」というテーマで、今後の光合成 研究を担う4名の若手研究者に最新の研究成果を発表する機会を作りました。多彩な研究手法を駆使した研究成 果の発表があり、今後の若手研究者の活躍が期待される内容でした。

シンポジウム終了後、恒例のポスター紹介を行いました。今年は75題のポスター発表登録を受け付け、昨年に 引き続いて、一人1分間で矢継ぎ早に過ぎてゆくショートプレゼンテーションとなりました。しかし、発表者も 手慣れたもので、極めて効果的な一枚スライドと話術で余裕を持って説明して頂けたと思います。また、この慌 ただしい紹介タイムは、この学会の白眉の一つなのではないか?と思わせるような活気とアドリブに満ちており、 今後も限られた時間の制約があるにせよ、大切にして欲しいと感じました。昨年ご指摘があったそうなのですが、 今回、分野によるポスターのグループ分け(5グループ)を行いました。特に分野を明記したわけではありません でしたが、手狭な会場でもあまり混雑は見受けられず、ある程度整理された閲覧が可能であったかも知れません。

懇親会は参加者の交流のためにも重要なので、懇親会費をなるべく安く設定して学生も参加しやすいようにし ました。年会参加者の4分の3の方が懇親会に参加し、交流を促進するという目的は達成できたと思います。年 会会場が岡山駅の近くにあり、ホテルと飲食街が近接しているため、懇親会後の2次会、3次会と遅くまで交流を 続けた方も多かったようです。

二日目のシンポジウム2は、「光合成炭素代謝研究の新展開」というテーマで、シンポジウム1と同様若手研 究者を中心に構成しました。光合成炭素代謝研究に関しては、高等植物や藻類を問わず、代換エネルギー生産の ための重要な基礎・応用研究という位置づけが改めて成されてかれこれ10年くらいが経過するわけですが、ワン クールが終わって、ちょうど振り返る時期に来ているような印象を受けます。このシンポジウムでも、二酸化炭 素をめぐる環境応答や代謝系の精査など、いま一度基礎に立ち返る若手研究者の発表と共に、バイオ燃料として の光合成の確立を目指したときの具体的課題を、実際に取り組んだ豊富な経験から定量的に提示できる段階に至 っていることも示されました。

来年の年会は、鞆達也先生を世話人として、5月27(金)~28日(土)の日程で東京理科大学葛飾キャンパス において開催します。シンポジウム、ポスターセッション、懇親会を予定しています。今のうちからカレンダー に予定を入れておいて下さい。

(松田祐介・高橋裕一郎 記)

第6回日本光合成学会年会の風景



1日目と2日目のシンポジウム会場



1日目のポスター会場



1日目の懇親会

第6回 日本光合成学会優秀ポスター賞受賞者

第6回日本光合成学会年会における優秀ポスター賞は、参加者による投票の結果、以下の5名(五十音順)が受 賞されました。受賞者の方々の研究については、「光合成研究」において紹介していく予定です。財政難の学会 ですが、今回の受賞者には副賞として図書カードを贈呈しました。

高橋重一^{1,2} 大槻孝之² 内田朗² 中山克己² 佐藤浩之² (¹ 農研機構²東邦大学)

シロザ由来の光変換型水溶性クロロフィル結合タンパク質の構造解析

<u>横山諒</u>¹ 山本宏¹ 近藤真紀² 竹田恵美³ 伊福健太郎⁴ 深尾陽一朗⁵ 亀井保博² 西村幹夫² 鹿内利治¹ (¹京都大 学 理 ²基礎生物学研究所 ³大阪府立大学 ⁴京都大学 生命、⁵奈良先端大学)

NPQ 誘導とチラコイド構造の形成に寄与する陸上植物特異的タンパク質 RIQ1、RIQ2 の解析

<u>山﨑宏顕</u>¹ 石原光輝² 太郎田博之² 皆川純¹(¹基礎生物学研究所²DIC 株式会社)

新奇海産性油脂産生緑藻 Chlamydomonas sp. JSC4 の屋外変動光環境における光合成能力の季節間変化

山野隆志 佐藤江美 井口ひろ <u>福田有理</u> 福澤秀哉(京都大学)

細胞膜 HLA3 と葉緑体包膜 LCIA は協調的に重炭酸イオンを輸送し緑藻の炭酸固定を支える

吉田啓亮^{1,2} 久堀徹^{1,2} (¹東京工業大学²JST・CREST)

FTR/Trx 経路と NTRC 経路は協調的に葉緑体機能のレドックス制御および植物の生育を支えている



※ 名前に下線の方が発表者であり優秀ポスター賞の受賞者です。おめでとうございます。 優秀ポスター賞の受賞者; 左から横山諒、吉田啓亮、一人おいて、山﨑宏顕、福田有里(敬称略)

第7回 日本光合成学会ワークシップ

講師 高橋 拓子(埼玉大学) 講師 小澤 真一郎(岡山大学) オーガナイザー 高橋 裕一郎(岡山大学)

日本光合成研究会の時からの通算で7回目のワークシップ「ジョリオ型分光光度計で光合成のどんな活性を測定 できるか」を日本光合成学会年会の終了後の2015年5月23日午後3時より~24日正午まで、岡山大学理学部にお いて行いました。参加者は講師を含めて21名でした。ジョリオ型分光光度計を開発したパリの生物物理化学研究 所で博士研究員として研究していた高橋拓子さん(埼玉大学)と小澤真一郎さん(岡山大学)に講師を依頼しま した。1日目はジョリオ型分光光度計の原理と装置の説明を中心に、緑藻クラミドモナスや植物の葉を用いて、シ グナルとノイズがどのくらいなのかを体験しました。夜は岡山駅近くのレストランへ移動して懇親会を行いまし た。2日目は実際に測定を経験してもらう実習を中心に行いました。研究対象の材料を持参して測定した方(伊藤 繁さん)もいて、ワークショップを実践的に活用して頂けたようです。今後もワークシップを継続してきたいと 考えていますので、皆さんの積極的な参加を期待します。



ジョリオ型分光光度計の説明

懇親会

ワークショップに参加して 岡島圭佑(福井工業大学工学部 学部4年生) 2015年5月23~24日に岡山大学津島キャンパスにおいて開催された,第7回日本光 合成学会ワークショップ「ジョリオ型分光光度計で光合成のどんな活性を測定できるか」 に参加させていただきました。初日はジョリオ型分光光度計の簡単な説明と,野生型ク ラミドモナスおよび植物の葉の P700の吸光度を測定しました。2日目は,実際に参加 者が装置を操作して,シトクロム b₆f や ATPase が欠如したクラミドモナス突然変異体 と、コケおよび被子植物の厚い葉を材料に、P700の吸光度や蛍光などの測定を行いま



した。両日ともに、スタッフや参加者の方々が活発に意見を出し合い、納得のいくまで討論・実験されていました。私自身、卒業研究を(公式に)開始してから1ヶ月程度しか経過していないということもあり、光合成活性を測定したのは今回のワークショップが初めてでした。それでも、非常に簡便な操作でS/N比が高いP700の吸光度や蛍光測定を行えたことには驚愕したと同時に「研究って面白い!」と感激しました。参加者が飽きないようなスケジュール構成になっており、光合成活性測定の知識が乏しい私でも満足することができました。もちろん全ての内容についていくことは大変でしたが、スタッフおよび他の参加されていた方々のご助力のおかげで、非常に有意義で充実した時間となりました。再度このような機会があれば是非とも参加したいです。

若手の会活動報告

~第 12 回セミナーの開催予告、サイエンスアゴラ 2015 での出展予告~

立命館大学 生命科学部 生命情報学科 浅井 智広

いつもの 8 月号の会報では、本会の春の年会後に開催している研究セミナーについて報告していますが、今年 は会場の都合や本会主催のワークショップとの関係で、若手の会の研究セミナーの開催を見合わせました。若手 の会のセミナーを楽しみにして下さっていた方々にはお詫び申し上げます。今回は、通算 12 回目の次回のセミナ ーの案内と、恒例となったサイエンスアゴラでの出展の準備状況をご報告します。

第12回若手の会研究セミナーは、「植物脂質研究若手の会」との合同セミナーとして開催することを計画して います。植物脂質研究若手の会は、植物や藻類の脂質を研究している若手研究者が、昨年有志で発足された研究 会で(http://www.plantmorphogenesis.bio.titech.ac.jp/~plantlipidyouth/参照)、合同セミナーの開催案はその 幹事の方にご提案頂きました。脂質分子の合成や機能は光合成と深く関わっていますが、互いの分野の研究者が 積極的に議論し合う場はこれまでほとんど無かったのではないでしょうか。次回の合同セミナーでは、それぞれ の分野でアクティブに研究を展開されている若手研究者を講師としてお呼びし、互いの分野の理解と研究レベル の底上げを図りたいと考えています。日時は10月10日から11日までの二日間で、会場は未だ確定していません が、東京大学あるいはその周辺で準備を進めています。例年通り合宿形式で行う予定で、植物脂質研究若手の会 の方々とも深い議論と交流ができると期待しています。開催案内は随時メーリングリストと Web サイトで案内し ていく予定ですので、皆さん奮ってご参加下さい。

通算10回目の開催を数えるサイエンスアゴラ2015では(http://www.jst.go.jp/csc/scienceagora/参照)、今年 も若手の会として出展を応募しました。サイエンスアゴラ2015全体のテーマは「つくろう、科学ともにある社会」 です。このテーマに即して3つの主要な話題が提案されています。このうちのひとつは、2015年が国際連合の定 めた「国際光年」であることを背景に、「「ひかり」を通して見る人類の歩みと未来~原始から原子まで~」とい う光合成研究と深く関わる話題となっています。若手の会では、幹事の辻敬典さん(関西学院大学)が中心とな って出展を企画し、「若手研究者が伝えたい光合成の現在・過去・未来」というタイトルで常設展示が採択されま した。日時は11月14日と15日の二日間、場所は東京お台場の日本科学未来館のメイン会場で行います。パネル 展示による光合成に対する理解の促進、デモ実験での光合成研究の疑似体験、様々な光合成生物の観察を通した 多様性の実感、若手研究者との直接対話による光合成研究の魅力の共有などを考えています。ご興味を持たれた 方には是非、一緒に出展に参加していただきたいと思います。もちろん、オーディエンスとして展示ブースに来 て下さるのも大歓迎です。

若手の会では、実年齢や身分、所属を問わず、多くの研究者の方々の積極的な参加を歓迎します。現場の研究 を推進している研究者が若い気持ちで交流することは、学際性の強い光合成研究では絶対不可欠だと思います。 この記事を読んでいただいた先生方には、ご自身の参加はもちろんのこと、ご指導されている学生さんやポスド クの方に若手の会への参加を是非お勧めいただきたいと思います。毎回のセミナーではアクティブな学生の招待 講演を企画しており、こちらについても自薦他薦問わず、お気軽に候補者をご連絡いただければ幸いです。その 他ご不明な点など、遠慮無く浅井(cazai@fc.ritsumei.ac.jp)までお問い合わせください。興味を持たれた方は、 お気軽にご参加ください。

集会案内

山田コンファレンス 国際シンポジウム「Dynamics and Regulation of Photosynthesis」

日時:2015年10月29日(木)9:30~10月31日(土)16:30
場所:奈良春日野国際フォーラム甍(http://www.i-ra-ka.jp)
参加費:2,000円
懇親会費:5,000円
参加申し込み:http://photosyn.jp/yamada/index.html
主催:日本光合成学会
問い合わせ先: 鹿内利治(shikanai@pmg.bot.kyoto-u.ac.jp)

プログラム

29 日午前

Jun Minagawa (NIBB) Dissipation of excess light energy in Chlamydomonas reinhardtii.

Krishna Niyogi (UC Berkeley) Regulation of light harvesting by non-photochemical quenching.

Peter Jahns (Heinrich Heine U) Regulation of energy dissipation by PsbS and zeaxanthin.

Roberto Bassi (U Verona) Co-evolution of light harvesting and energy dissipation functions in land plants 29 日午後

Jian-Ren Shen (Okayama U) Structural biology of photosystem II and photosystem I.

Kevin Redding (Arizona State U) Mutations in Photosystem I that affect directionality and efficiency of charge separation.

Genji Kurisu (Osaka U) X-ray structure and NMR Analysis of the Ga-substituted cyanobacterial ferredoxin interacting with photosystem I.

Helmut Kirchhoff (Washington State U) Photosynthetic energy transformation on the mesoscale.

Yuichiro Takahashi (Okayama U) Structure and biogenesis of photosystem I complex.

Francis-André Wollman (CNRS) Insights into the functional organization of light harvesting antennae in Chlamydomonas.

Toshiharu Hase (Osaka U) Modulation of protein-protein interaction of Fd and Fd-dependent enzymes.

Congming Lu (CAS) The function of chloroplastic small heat shock protein HSP21 in Arabidopsis.

Toru Hisabori (Tokyo Institute of Technology) Significance of the redox regulation networks in plants.

30 日午前

Yoshitaka Nishiyama (Saitama U) Regulation of the repair of photosystem II under oxidative stress.

David Kramer (Michigan State U) The thylakoid proton motive force as a double edged sword.

Michael Hippler (U Münster) Calredoxin connects calcium and redox dependent regulation of algal photosynthesis.

Eva-Mari Aro (Turku U) Photosynthetic light reactions; integral to chloroplast retrograde signaling.

Karl-Josef Dietz (Bielefeld U) Retrograde signaling in the rapid high light acclimation response.

30 日午後

Michel Goldschmidt-Clermont (U Geneva) Thylakoid protein phosphorylation and light acclimation of photosynthesis.

Wataru Sakamoto (Okayama U) Regulation of chloroplast DNA levels and gene expression by organelle nuclease DPD1: influence on leaf longevity and photosynthesis.

Jean-David Rochaix (U Geneva) New insights into plastid biology through conditional repression of essential chloroplast genes.

Lixin Zhang (CAS) Molecular mechanisms of chloroplast retrograde signaling.

Kan Tanaka (Tokyo Institute of Technology) Abscisic acid involves control of the cell-cycle initiation through heme

光合成研究 25 (2) 2015

homeostasis in a unicellular red alga Cyanidioschyzon merolae.

Felix Kessler (U Neuchatel) Plastoglobules: a membrane microdomain for thylakoid lipid metabolism.

Kazuyuki Kuchitsu (Tokyo U Science) Regulation of stress responses and development by the ROS-Ca²⁺ signaling network and autophagy in plants.

Lianwei Peng (CAS) Molecular mechanisms of the chloroplast ATP synthase assembly in Arabidopsis.

Masahiko Ikeuchi (U Tokyo) Reengineering of photosystems in cyanobacteria

懇親会

31 日午前

Ayumi Tanaka (Hokkaido U) Identification of Mg-dechelatase essential for the degradation of photosystems.

Stefan Hörtensteiner (U Zurich) Chlorophyll breakdown: complexity of chlorophyll catabolite modification.

Makoto Kusaba (Hiroshima U) Nuclear and cytoplasmic stay-green genes in legume.

Hiroyuki Ohta (Tokyo Institute of Technology) Lipid remodeling under nutrient starvation in microalgae and its application for oil production.

Gilles Peltier (CEA Cadarache) Exploring the basis of biomass productivity under steady state and fluctuating conditions by using *Chlamydomonas* mutants and a newly designed photobioreactor set-up.

31 日午後

Maki Kawai-Yamada (Saitama U) Metabolic alteration in NAD(P)(H) pathway modulates plant growth and biomass.

Masahiro Tamoi (Kinki U) Improvement of photosynthesis and productivity of crop plants and microalgae by genetic engineering of the Calvin cycle.

Matthias Rögner (Ruhr U) Engineering cyanobacterial photosynthesis for biotechnological applications: Design cells and model systems.

Kenichi Ogawa (RIBS) Improving photosynthetic ability and biomass production in virtue of glutathione technology -Toward another "Green Revolution".

Amane Makino (Tohoku U) Source and sink improvements in rice: Rubisco, grain yield and N-utilization

Toshiharu Shikanai (Kyoto U) Regulation of photosynthesis by alternative electron flow.

事務局からのお知らせ

★入会案内

本会へ入会を希望される方は、会費(個人会員年会費:¥1,500、賛助法人会員年会費:¥50,000) を郵便振替(加入者名:日本光合成学会、口座番号:00140-3-730290)あるいは銀行振込(ゆうちょ銀 行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290 名前:ニホンコウゴウセイガッカイ)にて送 金の上、次ページの申し込み用紙、または電子メールにて、氏名、所属、住所、電話番号、ファック ス番号、電子メールアドレス、入会希望年を事務局までお知らせください。

★会費納入のお願い

学会の運営は、皆様に納めていただいております年会費によりまかなわれております。当該年度の 会費が未納の場合、光合成研究が送られてくる封筒に、会費未納が印字されています。ご都合のつく ときに、会費を納入ください。1年間会費を滞納された場合、次年度よりお名前が会員名簿から削除 され、光合成研究は届かなくなります。再入会される場合は、未納の分もあわせてお支払いいただき ます。会費納入状況などにつきましては、ご遠慮なく事務局(shikanai@pmg.bot.kyoto-u.ac.jp)までお 問い合わせください。会員の皆様のご理解とご協力をお願い申し上げます。

日本光合成学会会員入会申込書

平成 年 月 日

```
日本光合成学会御中
```

私は日本光合成学会の趣旨に賛同し、平成 年より会員として入会を申し込みます。

[]内に会員名簿上での公開承諾項目に〇印をつけてください

- [] 氏名(漢字)(必須)氏名(ひらがな)
- 氏名 (ローマ字)
- [] 所属
- []] 住所1
- Ŧ

[] 住所2(自宅の方または会誌送付先が所属と異なる場合にのみ記入)

- Ŧ
- [] TEL1
- [] TEL2 (必要な方のみ記入)
- [] FAX
- [] E-mail

個人会員年会費1,500 円(会誌、研究会、ワークショップなどの案内を含む)賛助法人会員年会費50,000 円(上記と会誌への広告料を含む)

(振込予定日:平成 年 月 日)(会員資格は1月1日~12月31日を単位とします) * 複数年分の会費を先払いで振り込むことも可能です。その場合、通信欄に(何年度~何年度分) とお書き下さい。

連絡先

〒700-8530 岡山県岡山市北区津島中 3-1-1
岡山大学 理学部生物学科
高橋裕一郎 研究室内
日本光合成学会
TEL:086-251-7861
FAX:086-251-7876
ホームページ:http://photosyn.jp
郵便振替口座 加入者名:日本光合成学会 口座番号:00140-3-730290
銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290
名前:ニホンコウゴウセイガッカイ

日本光合成学会会則

第1条 名称

本会は日本光合成学会(The Japanese Society of Photosynthesis Research)と称する。

第2条 目的

本会は光合成の基礎および応用分野の研究発展を促進し、研究者相互の交流を深めることを目的とする。

第3条 事業

本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催などの事業を行う。

第4条 会員

1. 定義

本会の目的に賛同する個人は、登録手続を経て会員になることができる。また、団体、機関は、賛助 会員になることができる。

2. 権利

会員および賛助会員は、本会の通信および刊行物の配布を受けること、本会の主催する行事に参加す ることができる。会員は、会長を選挙すること、役員に選出されることができる。

3. 会費

会員および賛助会員は本会の定めた年会費を納めなければならない。

第5条 組織および運営

1. 役員

本会の運営のため、役員として会長1名、事務局長1名、会計監査1名、常任幹事若干名をおく。役 員の任期は2年とする。会長、常任幹事は連続して二期を越えて再任されない。事務局長は五期を越 えて再任されない。会計監査は再任されない。

2. 幹事

幹事数名をおく。幹事の任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

3. 常任幹事会

常任幹事会は会長と常任幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。常任幹事会は本会の運 営に係わる事項を審議し、これを幹事会に提案する。事務局長と会計監査は、オブザーバーとして常 任幹事会に出席することができる。

4. 幹事会

幹事会は役員と幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。幹事会は、常任幹事会が提案し た本会の運営に係わる事項等を審議し、これを決定する。

5. 事務局

事務局をおき、事務局長がこれを運営する。事務局は、本会の会計事務および名簿管理を行う。

6. 役員および幹事の選出

会長は会員の直接選挙により会員から選出される。事務局長、会計監査、常任幹事は会長が幹事の中から指名し、委嘱する。幹事は常任幹事会によって推薦され、幹事会で決定される。会員は幹事を常 任幹事会に推薦することができる。 第6条 総会

- 1. 総会は会長が招集し、出席会員をもって構成する。議長は出席会員から選出される。
- 2. 幹事会は総会において次の事項を報告する。
- 1)前回の総会以後に幹事会で議決した事項
- 2) 前年度の事業経過
- 3) 当年度および来年度の事業計画
- 3. 幹事会は総会において次の事項を報告あるいは提案し、承認を受ける。
- 1) 会計に係わる事項
- 2) 会則の変更
- 3) その他の重要事項
- 第7条 会計

本会の会計年度は1月1日から12月31日までとする。当該年度の経理状況は、総会に報告され、 その承認を受ける。経理は、会計監査によって監査される。本会の経費は、会費および寄付金による。

付則

第1 年会費は個人会員1,500円、賛助会員一口50,000円とする。

第2 本会則は、平成14年6月1日から施行する。

第3 本会則施行後第一期の会長、事務局長、常任幹事にはそれぞれ、第5条に定める規定にかかわ らず、平成14年5月31日現在の会長、事務局担当幹事、幹事が再任する。本会則施行後第一期の 役員および幹事の任期は、平成14年12月31日までとする。

第4 本会則の改正を平成21年6月1日から施行する。

日本光合成学会の運営に関する申し合わせ

1. 幹事会:

幹事は光合成及びその関連分野の研究を行うグループの主催者である等、日本の光合成研究の発展に 顕著な貢献をしている研究者とする。任期は4年とするが、原則として再任されるものとする。

2. 事務局:

事務局長の任期は2年とするが、本会の運営を円滑に行うため、約5期(10年)を目途に再任されるこ とが望ましい。

3. 次期会長:

会長の引き継ぎを円滑に行うため、次期会長の選挙は任期の1年前に行う。

4. 常任幹事会:

常任幹事会の運営を円滑におこなうため、次期会長は常任幹事となる。

幹事会名簿

秋本誠志	神戸大学大学院理学研究科	鈴木祥弘	神奈川大学理学部
粟井光一郎	静岡大学学術院理学領域	園池公毅	早稲田大学教育学部
池内昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	高市真一	日本医科大学生物学教室
石北 央	東京大学大学院工学研究科	高橋裕一郎	岡山大学大学院自然科学研究科
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	田中 歩	北海道大学低温科学研究所
伊藤繁	名古屋大学	田中寛	東京工業大学資源化学研究所
井上和仁	神奈川大学理学部	田中亮一	北海道大学低温科学研究所
伊福健太郎	京都大学大学院生命科学研究科	民秋 均	立命館大学総合理工学院
臼田秀明	帝京大学医学部	都筑幹夫	東京薬科大学生命科学部
榎並 勲	東京理科大学	出羽毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
得平茂樹	首都大学東京大学院理工学研究科	寺島一郎	東京大学大学院理学系研究科
遠藤 剛	京都大学大学院生命科学研究科	徳富(宮尾)光恵	農業生物資源研究所
大岡宏造	大阪大学大学院理学研究科		光合成研究チーム
大杉 立	東京大学大学院農学生命科学研究科	鞆 達也	東京理科大学理学部
太田啓之	東京工業大学	仲本 準	埼玉大学大学院理工学研究科
	バイオ研究基盤支援総合センター	永島賢治	神奈川大学
大友征宇	茨城大学理学部	成川 礼	静岡大学大学院理学研究科
大政謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科	南後守	大阪市立大学大学院理学研究科
小川健一	岡山県農林水産総合センター	西田牛郎	埼玉大学大学院理工学研究科
	生物科学研究所	西山佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
小野高明	茨城大学工学部生体分子機能工学科	野口航	東京大学大学院理学系研究科
小保方潤一	京都府立大学・生命環境科学研究科	野口 巧	名古屋大学理学研究科
小俣達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	長谷俊治	大阪大学蛋白質研究所
垣谷俊昭	名古屋大学	林秀則	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
 革子野康浩	与 前 一 元 元 7 兵 庫 県 立 大 学 理 丁 学 部	原登志彦	北海道大学低温科学研究所
柏山佑一郎	福井工業大学工学部	彦坂幸毅	東北大学大学院生命科学研究科
金井龍二	埼玉大学	久堀 徹	東京工業大学資源化学研究所
神谷信夫	大阪市立大学大学院理学研究科	日原由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
能崎茂一	京都大学大学院理学研究科	檜山哲夫	埼玉大学
栗柄源嗣	大阪大学蛋白質研究所	福澤秀哉	京都大学大学院生命科学研究科
小池裕幸	中央大学理工学部	藤田祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
小林正美	筑波大学大学院数理物質科学研究科	古本 強	龍谷大学農学部
坂本 百	岡山大学資源生物科学研究所	前忠彦	東北大学
佐賀佳央	近畿大学理工学理学科	牧野周	東北大学大学院農学研究科
櫻井英博	早稲田大学	増田真二	東京工業大学
佐藤公行	岡山大学		バイオ研究基盤支援総合センター
佐藤直樹	東京大学大学院総合文化研究科	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
佐藤文彦	京都大学大学院生命科学研究科	松浦克美	首都大学東京都市教養学部
鹿内利治	京都大学大学院理学研究科	松田祐介	関西学院大学理工学部
重岡 成	近畿大学農学部	直野純一	山口大学農学部
室(A) / / / / / / / / / / / / / / / / / / /	理化学研究所植物科学研究センター	火口, 和 皆川 新	其磁生物学研究所
鳥崎研一郎	九州大学大学院理学研究院	宮下革明	京都大学大学院协球環境学堂
嶋田敬三	首都大学東京	宮地重遠	海洋バイオテクノロジー研究所
白岩義博	筑波大学生物科学系	宗暑(中島)ゆり*	 関西学院大学理工学部
沈建仁	岡山大学大学院自然科学研究科	村田紀夫	基礎生物学研究所
杉浦昌弘	名古屋市立大学	構田明穂	<u> </u>
	大学院システム自然科学研究科		バイオサイエンス研究科
杉浦美羽	愛媛大学プロテオサイエンスヤンター	和田一元	東京大学大学院総合文化研究科
杉田 護	名古屋大学遺伝子実験施設		
杉山達夫	名古屋大学	*平成 27 年より新	f幹事

編集後記

思想家の内田樹さんは「学び」について次のように考察しています。

《「学び」という営みは、それを学ぶことの意味や実用性についてまだ知らない状態で、それにもかかわらず、 これを学ぶことがいずれ生き延びる上で死活的に重要な役割を果たすことがあるだろうと先駆的に確信すること から始まります》(『日本辺境論』新潮新書より。傍点は原典通り)

この考え方は、我々の研究にも当てはまるのではないでしょうか。昨今、「イノベーション創出」や「出口志 向の研究」がもてはやされていますが、これらの技術開発や応用研究は、やがて「役に立つ」であろうことを想 定しているもので、「意味や実用性を知らない状態」での「先駆的な確信」から出ているものではありません。 誰しもが経験することですが、研究していると予期せぬ結果が出たり、思わぬ発見に遭遇したりします。自然は 我々の想像を超えたところにあるからなのでしょう。社会的要請に応えるのも重要ですが、自然と真摯に向き合 うことが大切なのではないでしょうか。おそらく「死活的に重要な役割」を意識して。

さて、今号では、粟井光一郎さんと小林康一さんに「光合成と脂質」という特集を組んでいただきました。植物脂質を取り上げた総説は目にすることがありますが、光合成というキーワードでまとめられた解説集はめずら しいと思います。この分野は応用研究が進んでいますが、今号では基礎研究の力強さが重量感をもって伝わって くるように思いました。また、今号では2014年の第5回日本光合成学会・公開シンポジウム「光合成の多様な世 界について」でご講演いただいた方から3名の方の解説を掲載しました。さらに、第4回ポスター発表賞を受賞 された速水菜月さんに研究紹介を執筆していただきました。前号と同様、力作が多く、ボリューム感たっぷりだ と思いますが、いかがでしょうか。今号に関するご意見や本誌に対するご要望がございましたら、ぜひ私までご 連絡ください。

また、研究紹介や解説を随時受け付けておりますので、奮ってご投稿ください。表紙に適した写真もよろしく お願いします。

編集長·西山 佳孝(埼玉大学)

記事募集

日本光合成学会では、会誌に掲載する記事を会員の皆様より募集しています。募集する記事の項目は以下の通りです。

○ トピックス:光合成及び関連分野での纏まりのよいトピックス的な記事。

○ 解説:光合成に関連するテーマでの解説記事。

○研究紹介:最近の研究結果の紹介。特に、若手、博士研究員の方からの投稿を期待しています。

○ 集会案内:研究会、セミナー等の案内。

O 求人:博士研究員、専門技術員等の募集記事。

○ 新刊図書:光合成関係、または会員が執筆・編集した新刊図書の紹介。書評も歓迎します。

記事の掲載を希望される方は、会誌編集長の西山佳孝(nishiyama@molbiol.saitama-u.ac.jp)まで ご連絡ください。

「光合成研究」編集委員会

西山	佳孝(均	奇玉大学)
田中	亮一(比海道大学)
伊福	健太郎	(京都大学)
粟井	光一郎	(静岡大学)
	西山 田中 伊福 栗井	西山 佳孝 (北 田中 亮一 (二 伊福 健太郎 粟井 光一郎

日本光合成学会 2015年度役員

会長	高橋	裕一郎 (岡山大学)	
事務局長	鹿内	利治(京都大学)	
常任幹事	田中	歩(北海道大学)	前会長
常任幹事	池内	昌彦(東京大学)	
常任幹事	野口	航 (東京大学)	前編集長
常任幹事	西山	佳孝(埼玉大学)	編集長
常任幹事	園池	公毅(早稲田大学)	
常任幹事	久堀	徹(東京工業大学)	涉外
常任幹事	皆川	純(基礎生物学研究所)	
常任幹事	日原	由香子(埼玉大学)	年会 2013年
常任幹事	熊崎	茂一 (京都大学)	年会 2014年
常任幹事	柏山	佑一郎(福井工業大学	年会 2016年
常任幹事	杉浦	美羽 (愛媛大学)	
常任幹事	松田	祐介(関西学院大学)	年会 2015年
常任幹事	鞆 達	也(東京理科大学)	光生物学協会

会計監査 伊藤 繁(名古屋大学)

ホームページ 加藤 裕介 (岡山大学)

光合成研究 第 25 巻 第 2 号 (通巻 73 号) 2015 年 8 月 31 日発行

日本光合成学会

〒700-8530 岡山県岡山市北区津島中 3-1-1
 岡山大学 理学部生物学科
 高橋裕一郎 研究室内
 TEL:086-251-7861
 FAX:086-251-7876
 e-mail:jspr@photosyn.jp
 ホームページ:http://photosyn.jp/
 郵便振替口座 加入者名:日本光合成学会 口座番号:00140-3-730290
 銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290
 名前:ニホンコウゴウセイガッカイ







OPTI-SCIENCES

OS5p+

パルス変調クロロフィル蛍光光度計



- 最新鋭の携帯型システムでほぼ全タイプの植物ストレスを検出します。 ● 幅広い自動プログラムの試験プロトコルで他の全ての携帯型フルオロ メーターをしのぎます。
- 光合成量子収率(Y)、最大量子収率(Fv/Fm)、電子伝達速度(ETR)、光 合成有効放射量(PAR)、葉の温度(T)が測定できます。
- PARクリップが標準装備になりました。



アイネクス株式会社(日本総代理店) 〒144-0035 東京都大田区南蒲田2-16-1 テクノポートカマタセンタービル TEL: 03-5713-0388 FAX: 03-5713-1388 Web site : www.ai-nex.co.jp

世界シェアNo1の光合成基準測定システム

植物総合解析システム LI-6400XT



光合成測定装置の決定版。植物のガス交換を直接測定することにより 生理的活性を正確に把握することができます。

特徴

·国内納入台数300台以上 ・払・CO・温度・温度 ・光・CO・温度・温度 ・ファイトトロン内でのリモートWi-Fi制御できるシステム ・LI-6400XT内部で自動データ変換、EXCELフォーマットで記録します





多彩なチャンバーアクセサリー

■モデル植物個体の 光合成直接測定チャンバー

シロイヌナズナの光合成活性測定を個体 ンロースンスンのパロ吸着性の定と100年 ごと測定することができ、ワイルドタイプ とミュータントの比較を、生理的活性で行 うことができます。



■針葉樹などの立体状サンプルの 光合成直接測定チャンバー

針葉樹など円錐型等の、 立体形状の植物 ■1業価など可避産等の、立体化の価値が サンプルの光合成活性測定を行うことが できます。 従来は難しかったサンプルでの光合成測 定ができる可能性があります。



- 東京:〒160-0022 新宿区新宿1-14-2 KI御苑前ビル 名古屋:〒464-0075 名古屋市千種区内山 3-10-18 TEL(03)5379-0051 代 FAX(03)5379-0611 TEL(052)686-4794 代 FAX(052)686-5114 大 阪:〒558-0047 大阪市住吉区千躰 2-4-25 TEL(06)6674-2222 (代 FAX(06)6674-2323

 - 仙 台:〒981-3133 仙台市泉区泉中央 3-4-1 TEL(022)218-0560 代 FAX(022)218-0561

CCM-300 極小葉用クロロフィル含有量メータ-



- 極小葉のクロロフィル含有量(mg m⁻²)を測定する装置 です。
 - 測定方法:クロロフィル蛍光比(CFR)法
 - 測定面積:直径3 mm、外径4 mmの円形



LED光による植物育成・研究支援機器



FluorCam 800MF

二次元イメージング・クロロフィル蛍光測定器

フィルターホイールを内蔵、最高8枚のバンドパスフィルター を装填可能で発光波長、検出波長を任意で切り替えが可能です。 飽和光としてLEDパネルを採用、最大13cm×13cmサイズの サンプルに高輝度で均一な光を照射できます。

www.kyokko.com



旭光通商株式



●選択可能な光源

- 高輝度LEDパネルの波長は任意に選択可能
 (例:390,450,470,570,605,630,735,その他任意)
 STFシングルターンオーバーフラッシュ
 - コトンノクルターノオーハ 古い光治庁
- 高い光強度
 励起光:最高光強度、3,000 µmol/m².s.
 飽和光:最高光強度、7,500 µmol/m².s.

〒150-0012 東京都渋谷区広尾1-1-39 恵比寿プライムスクエア2F TEL:03-6418-6908 FAX:03-6418-6933



