# 光合成研究

# 第 32 巻 第 3 号 (通巻 95 号) 2022 年 12 月 Vol. 32 NO. 3 December 2022

# JOURNAL OF THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

トピックス ボルボックス目緑藻の比較から紐解く光行動の意義							
		若林 憲一 他(東京工業大)	121				
研究紹介 チオレドキシン様タンパク質による葉緑体 ATP 合成酵素の酸化制御							
		関口 敬俊 他(東京工業大)	131				
解説特	<b>5集</b> 「光合成の誕生・進化・退化」						
序文		増田 真二 他(東京工業大)	139				
解説	光合成の進化が地球環境へ及ぼした影響	尾﨑 和海(東京工業大)	140				
解説	光化学系Ⅱにおける翻訳後アミノ酸変換と光合成酸素発生の起源						
		野口 巧(名古屋大)	151				
解説	緑色植物の光捕集系の進化と光環境適応	亀尾 辰砂 他(北海道大)	162				
解説	植物の陸上進出と乾燥ストレス応答機構の発達	堀 孝一(東京工業大)	170				
解説	光合成をやめる進化 ~クリプト藻の葉緑体ゲノムで	は光合成能消失前に何が起こるのか	∽?~				
		鈴木 重勝 他(国立環境研)	180				
表紙の	<b>)紹介</b> 糊で貼り合わせたような複数の葉緑体	市川 晋太郎 他(宇都宮大)	190				
若手σ.	<b>ン会特別企画</b> 第16回「家族で海外留学」	渡辺 麻衣(東京都立大)	191				

事務局からのお知らせ	194
日本光合成学会会員入会申込書	195
日本光合成学会会則	196
「光合成研究」投稿規定	198
幹事会名簿	199
編集後記・記事募集	200
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2022 年度役員	201
賛助法人会員広告	

# トピックス

# ボルボックス目緑藻の比較から紐解く光行動の意義

<sup>1</sup>東京工業大学科学創成研究院化学生命科学研究所 <sup>2</sup>東京工業大学生命理工学院 <sup>3</sup>法政大学自然科学センター 若林憲一<sup>1,2\*</sup>、植木紀子<sup>3</sup>

生物が示す光刺激に応じた行動変容を光反応行動(光行動)と呼ぶ。光行動には走光性(光走性)、光 驚動反応などが含まれるが、それらの生理的意義は明確には示されていない。本稿ではクラミドモナ スとボルボックスという2種の緑藻の光行動の発現メカニズムについて概説したのち、それらと近縁 のテトラバエナとの相違について解説し、そこから見えてきた光行動の意義を考察する。

## 1. はじめに

緑藻綱ボルボックス目に属す生物は、クラミド モナス型の単細胞生物を共通祖先として、多細胞 化しながら進化したと考えられている<sup>1-3</sup>。光合 成、鞭毛・繊毛、細胞周期などの広い分野でモデ ル生物とみなされる単細胞のクラミドモナス *Chlamydomonas*(和名コナミドリムシ・コナヒゲ ムシ)や、目視できるほどの大きさで泳ぐ姿が可 愛らしい、約1千から最大2万を超える細胞から 成るボルボックス *Volvox*(和名オオヒゲマワリ) がよく知られる(図1)。また、その中間の細胞数 の生物として、8 または 16 細胞が球状に密集し たパンドリナ *Pandorina*(和名カタマリヒゲマワ リ・クワノミモ)、16 または 32 細胞が、細胞同 士が少し離れたかたちで球状に集まったユード リナ Eudorina (和名タマヒゲマワリ) などが知ら れる(図1)。これらを研究材料とすることで、現 存生物によって多細胞化進化の道のりを調べら れるという利点がある。各生物を構成する個々の 細胞はクラミドモナスに酷似し、繊毛を2本、眼 点を1つ、葉緑体を1つもつ。

我々のグループは、クラミドモナスの光行動の 分子機構の解明を目指した、特に繊毛に着目した 研究を幹としてきた。(なお、クラミドモナスや ボルボックス細胞から生える毛状オルガネラは 伝統的に「鞭毛」と呼ばれてきたが、近年、原核 生物のべん毛との混同を避けるため(英語も共に flagella である)、「繊毛」(cilia)と呼ばれる傾向が ある。本稿もそれに倣う。)それを発展させるか たちでボルボックスの光行動を調べた結果、クラ



## 図1. ボルボックス目緑藻

左から、Chlamydomonas reinhardtii, Tetrabaena socialis, Pandorina morum, Eudorina elegans, Volvox carteri, Volvox rousseletii.

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: wakaba@res.titech.ac.jp

ミドモナスとボルボックスの間に興味深い相似 点と相違点を見出した<sup>4</sup>。そのことがきっかけと なり、ボルボックス目で最初に生まれた多細胞生 物であるテトラバエナ *Tetrabaena*(和名シアワセ モ)(図1)の研究を開始することとなった。

## 2. クラミドモナスの光行動

ボルボックス目緑藻の光行動を理解するには、 クラミドモナスのそれを理解することが基本と なる。光行動は大きく分けて光受容と繊毛調節と いう2つの段階を経て発現する。

クラミドモナスは細胞の赤道付近の赤い点と して観察される眼点で光受容する(図2A)。眼点 は2つの要素で構成される。1つは赤色のもとと なるカロテノイド色素を含んだ顆粒層である。こ の顆粒層はチラコイド膜と交互に2 重から3 重 の積層構造を形成し、光を効率よく反射する多層 反射膜としての性質をもつ5。もう1つは顆粒層 の直上の原形質膜に局在する光受容タンパク質 チャネルロドプシン(channelrhodopsin, ChR)であ る <sup>6-9</sup>。ChR は光駆動陽イオンチャネルであり、光 遺伝学という研究分野が始まるもととなったタ ンパク質としてよく知られる<sup>10</sup>。この2つの要素 の相対的位置から、眼点の光受容は非常に指向性 の高いものとなる(図2A)。というのは、細胞の 外から来た光は顆粒層の反射により ChR を 2 度 通る、つまり光シグナルが増幅されるが、細胞の 内側を通ってきた光は葉緑体の様々な色素で吸 収される上に顆粒層で反射され、光強度は約 1/8 以下に減衰する<sup>11</sup>。

クラミドモナスの游泳様式も光受容に寄与す る。2本の繊毛は、通常はそれぞれが非対称型と 呼ばれる波形で、ヒトの平泳ぎのようにほぼ同時 に反対方向に動かして、繊毛側を前にして遊泳す る(図 2B)。(平泳ぎなら「対称型」ではないか と思われる方もいるかもしれないが、平面的な繊 毛の波形は、1本ずつ、繊毛基部の接線を基準に 考える。この場合、それぞれの繊毛は各接線をほ ぼ超えない範囲で運動するので、非対称型であ る。)それぞれの繊毛はやや立体的に打つため、 1秒間に約2周の頻度で進行方向を軸として自転 する<sup>13</sup>。この自転遊泳と眼点の高指向性光受容が 組み合わさることで、細胞は光源方向を正確に察 知できる 5,14。たとえば光源が進行方向の真横に ある場合、細胞は自転しながら明るい・暗いとい う光強度変動を感じ、「明るい」側に光源がある とわかる。

その次の段階が繊毛調節である。ChR の光受容 から始まるプロセスによって繊毛内 Ca<sup>2+</sup>濃度が 上昇する。その濃度の高低によって繊毛調節様式 が変わり、それによって 2 つの光行動が切り替わ ると考えられている。まず、ChR におけるイオン 流量が膜の脱分極を誘導するくらい大きい場合、 繊毛先端に局在する電位依存性 Ca<sup>2+</sup>チャネルが



#### 図2. クラミドモナスの眼点と光行動

A. 眼点の模式図。細胞の赤道付近に存在する眼点は、カロテノイド顆粒層と光受容タンパク質チャネルロド プシンから成り、高指向性光受容を行う。 B. クラミドモナスの遊泳と光行動の模式図。通常は2本の繊毛を 逆方向に非対称型波形で前進遊泳する。光驚動反応時は波形を対称型に変換して後退遊泳する。走光性時は2 本の繊毛の生み出す力のバランスが変わって方向転換する。グレーの矢印は繊毛が作る流れの向き、黒い矢印 は細胞の進行方向を示す(若林ら(2018)より改変して引用)<sup>12</sup>。 開いて繊毛内 Ca<sup>2+</sup>濃度が 100 µM 程度まで上昇す る 15-17。その結果、繊毛運動は一時的に対称型波 形に変換して後退遊泳する。これが光驚動反応で ある。(図 2B)。反応後、1 秒程度で再び前進遊泳 に戻る。ChR におけるイオン流量がそれよりも低 い場合、走光性が起きる。2本の繊毛は、眼点に 近い側をシス繊毛、遠い側をトランス繊毛と呼び、 これらの性質は少し異なる。特に重要な違いは Ca<sup>2+</sup>への感受性であり、100 nM 程度を境として、 シス繊毛はそれより低いときに、トランス繊毛は それより高いときにそれぞれ他方の繊毛よりも 強く打つ<sup>18,19</sup>。このバランスの変化により細胞は 進行方向を傾ける(図2B)。細胞自転遊泳中に眼 点が明暗変動を感じなくなるまで進行方向が変 わると、このときの細胞は光線とほぼ平行に泳い でいる、つまり走光性を示している<sup>20</sup>。これが2 本の繊毛の Ca<sup>2+</sup>感受性差による走光性モデルで ある。(ただし、2本の繊毛内の Ca<sup>2+</sup>濃度は同じ なのか、Ca<sup>2+</sup>の入り口は ChR だけなのかなど、ま だこのモデルには埋めるべきピースが多数存在 する。)また、本稿では詳しく述べないが、正と 負の走光性(光源方向に向かうか、逃げるか)は 細胞内の活性酸素種の量の多寡で調節される<sup>21</sup>。

光驚動反応と走光性、2 つの光行動の生理的意 義は明確には示されていない。しかし、想像はで きる。光驚動反応は、自然界では日陰から日向に 出たときに見られるだろう。暗順応した光合成装 置が急に強光に曝されることを防ぐ行動だと考 えられる。正と負の走光性は、おそらく光補償点 より上、光飽和点よりも下の光強度の環境に自ら を置くための行動だろう。

## 3. ボルボックスの光行動

ボルボックスはクラミドモナスによく似た約 1千~約2万個の細胞(細胞数は種により異なる) が球面に1層に並んだ多細胞生物である(図1)。 時々「クラミドモナスの集合体がボルボックスで ある」という誤解を耳にするが、両者は近縁では あるが異なる生物である。全ての細胞から生える 2本の繊毛がすべてクラミドモナスと同じ平泳 ぎをする場合、球体は前に進めない。しかし実際 にはボルボックスはすいすいと水中を泳ぎ回る。 このことからも誤解であると分かるだろう。

ボルボックスの繊毛は、クラミドモナスと同様 に非対称型波形で打つが、異なるのは2本の繊毛 が同じ方向に打つということである(図3A)<sup>22</sup>。 ボルボックスの球体には明確な前後軸があり、2 本とも後端に向かって打つ。これにより球体表面 に後端に向かう水流が生じ、球体は前進遊泳する。 このとき、繊毛打面が球体の経線に対してやや傾 いているため、ボルボックスの球体も自転しなが ら遊泳する(図3B)<sup>23,24</sup>。つまり、光源方向の感 知についてはクラミドモナスと全く同じしくみ であると言って良い。光源が進行方向の真横にあ る場合、球体が自転して眼点が光源側を向くと細 胞は「明るい」、さらに自転して光源と反対側を 向くと「暗い」と感じる。

では光受容のあとの繊毛調節はどうなってい るのか。植木らによる、比較的大きな種である約 5 千細胞から成る Volvox rousseletii を用いた実験 により、光受容した細胞の繊毛が打面を一時的に 回転させ、その後元に戻ることが分かった<sup>23</sup>。こ の回転角が、前端から後端にかけて勾配があり、 前端ではほぼ180度、つまり打つ方向を逆転させ て前端側に打つようになり、赤道付近では90度、 後端付近では0度、つまり繊毛の運動方向には何 も変化がなくなる(図 3C)<sup>23,25</sup>。この回転角度の 勾配は2つの細胞分化による。1つ目は眼点のサ イズの勾配であり、前端付近で最大、後端付近で 最小となる23。つまり前端に近い細胞ほど光への 感受性が高い。2つ目は繊毛の Ca<sup>2+</sup>濃度感受性で ある。ボルボックスの繊毛は繊毛内 Ca<sup>2+</sup>濃度が約 1 µM 以上になると打面回転を行う<sup>26</sup>。前述の打 面回転角度の前後勾配は、光受容の有無に関わら ず、繊毛自体の性質として備わっている。つまり、 後端付近の繊毛は、たとえ人工的に Ca<sup>2+</sup>濃度が高 い状態に置いたとしても打面回転を行えない<sup>26</sup>。

「光を感じた細胞は繊毛打面を回転」「その回 転角度は前から後ろにかけて徐々に減少」の2つ の共通ルールで、ボルボックスは光驚動反応と走 光性両方の光行動を示す<sup>23,26</sup>。環境の光強度が急 に変化すると、眼点での光受容に応じて全ての細 胞が繊毛打面を回転させる。ただし、回転角度の



#### 図3. ボルボックスの遊泳と光行動

A. ボルボックス細胞から生える2本の繊毛はともに後端に向けて打つ。B. 通常遊泳時、C. 光驚動反応時(環境の光強度が急に増加した場合)、D. 走光性時(図の右方向から連続的に光が照射されている場合)の繊毛運動の方向と個体の遊泳方向。青・赤の矢印はそれぞれ打面回転なし・ありのときの繊毛の運動方向、グレーの矢印は球体表面近傍の水流の方向、上の黒い矢印は球体の進行方向を示す。若林ら (2018)より改変して引用<sup>12</sup>。

勾配により前半球と後半球で発生する力が釣り 合い、球体の進行は停止しその場で回転するのみ となる。つまり、光驚動反応を示す(図 3C)。一 方、明るさは一定でも、一方向から光が照射され 続ける状況では、球体の自転と眼点の指向性光受 容により別の光行動が生じる。ここで、光源が進 行方向の真横にある場合(図 3D)の一つの細胞 の反応を考えてみる。光源と逆側を向いていた細 胞が、球体の自転により光源側を向いたとき、眼 点が受容する光強度は増加し、繊毛打面を回転さ せる。その後再び自転により光源と逆側を向くと 繊毛打面は元に戻る。このことが球表面の数千の 細胞で連続的に起こる。これを球全体として見る と、光源側の細胞だけが繊毛打面を回転させるこ とになる(図3D赤矢印)。そのため、球体の前後 軸に対して光源側半球とその反対側半球で発生 する力の均衡が崩れ、球体は光源側に進路を変え る。つまり、走光性を示す(図3D)。

クラミドモナスが走光性で用いる 2 本の繊毛の バランス調節機構は、ボルボックスの多細胞体制 では遊泳方向変化に寄与し得ない。進化の過程で クラミドモナス(様単細胞祖先)の光驚動反応の 機構を上記の 2 つのルールによって修正するこ とで、多細胞生物としての光驚動反応・走光性の 両方の光行動を巧みに実現したと言える。

## 4. テトラバエナの光行動

単細胞のクラミドモナスと多細胞のボルボッ クスは、同じ光受容システムと、異なる繊毛調節 システムによって、ともに走光性と光驚動反応と いう光行動を示す。このことは、多細胞化によっ て大きく変化した体制でも維持しなければなら ないほど、光行動が緑藻にとって重要な行動であ ることを示唆する。我々はそこで興味をもった。 多細胞化のどの段階からこの「異なる繊毛調節」 は始まったのだろうか。

この漠然とした疑問に答えるための研究は偶 然始まった。他大学まで含めて広く研究室見学に 行っていた積極的な卒業研究生の丹野明日翔氏 が、見学先で話を聞いて面白そうなのでテトラバ エナ(図1)を実験材料にしても良いかと聞いて きた。その見学先が、テトラバエナが「世界最小 細胞数の多細胞生物」であることを明らかにした 東大(当時)の野崎久義博士の研究室であること は聞かずとも分かった。野崎博士のグループは、 丁寧な解析でテトラバエナが「4 細胞で1 個体」 の多細胞生物であることを示し、そして、「4 つ合 わさっている」「幸運にも多細胞化した」といっ た複数の意味をこめて「シアワセモ」という和名 を与えた<sup>27</sup>。間もなく、テトラバエナの光行動を 調べるべく、野崎博士らと我々の共同研究が開始 した。

研究を開始してすぐに難航したのは培養だっ た。テトラバエナはやや好冷性で、25℃前後で培 養するクラミドモナスやボルボックスよりも低 温の 15~20℃で維持することが野崎博士から推 奨されたため、専用のインキュベーターが必要と なった<sup>28</sup>。また、増殖速度を上げようと通気する と4細胞がバラバラになってしまった。増殖の遅 い静置低温培養で実験に足る濃度の健全な4細 胞群体を得るという最初の壁を辛抱強く乗り越 えた丹野氏は、修士課程にかけて以下のような成 果を次々に見出した。

まず、テトラバエナは明確な光行動を示さな かった<sup>29</sup>。光を当てても走光性を示さない(図 4A)。強い光を急に照射しても光驚動反応を示さ ない。低温培養の影響も考えたが、クラミドモナ スは 15~20℃で培養したからといって光行動は 失われない(若林、未発表)。また、ボルボック スは低温(16℃)に移されると負の走光性を示す ようになるが、やはり光行動そのものは失われな い<sup>30</sup>。クラミドモナスやボルボックスの光行動に 照らせば、理由はすぐに2つ思い浮かぶ。光受容 の不全と、繊毛調節の不全だ。果たして、理由は 前者だった。眼点を介したイオン流入は電気生理 学的に検出できる<sup>31</sup>。その専門家である芝浦工大 の吉村建二郎博士に解析を依頼したところ、クラ ミドモナスでは白色光照射によって明確に検出 できる光誘導 Ca<sup>2+</sup>電流が、テトラバエナでは全く 見られなかった(図4B)。ちょうど公開されたテ トラバエナのトランスクリプトームデータベー スから、ChR のオーソログは確かに発現している ものの、その機能の根幹たるレチナールの結合部 位に変異があることがわかった<sup>29,32</sup>。本当にその 変異が眼点の機能不全の原因かどうかは分子レ ベルの検証を待たねばならないが、少なくとも、 既にゲノムが解析されており、かつ光行動を示す ことが分かっている他のボルボックス目緑藻(16 細胞平板型のゴニウム Gonium pectrale と約2千 細胞のボルボックスのモデル種 Volvox carteri) に はこの変異は存在しない<sup>25,29,33,34</sup>。原因は未確定 ではあるが、とにかくテトラバエナの眼点は、構



## 図4. テトラバエナとその性質

A. クラミドモナスとテトラバエナの培養液をペトリディッシュに入れ、右から緑色光を15分間照射した。ク ラミドモナスで見られる光源側への集合がテトラバエナでは見られない。B. 眼点を介したCa<sup>2+</sup>流入の電気生 理学的検出。白色フラッシュ光照射によりクラミドモナスで見られる電流がテトラバエナでは見られない。C. A.の実験を赤色光で60分間行い、一方にはDCMUを添加した。D. 様々な光及び温度条件でのNPQ(qE)の値。 Tanno *et al.* (2021)より改変して引用<sup>29</sup>。 造自体はクラミドモナスの眼点と変わらないものの、光を感じてイオンを流入させるという機能をもっていないことが分かった<sup>27,29</sup>。

一方で、後者、すなわち繊毛調節の機能不全は いくつかの実験や観察で否定された。分かりやす いところでは、テトラバエナを顕微鏡観察する際、 スライドガラスやカバーガラスにぶつかると、光 驚動反応のような後退遊泳を見せた<sup>29</sup>。クラミド モナスにおいても、後退遊泳は光驚動反応でなく 機械刺激によっても生じる。つまり、テトラバエ ナはクラミドモナスで見られる繊毛の波形変換 能そのものは保持していることがわかった。

クラミドモナスやボルボックスの光行動は非 常に速い反応である(光刺激から繊毛調節までに かかる時間は C. reinhardtii で 30 ミリ秒、V. rousseletii で 100 ミリ秒程度である)<sup>23,35</sup>。 テトラ バエナはこれらの反応は示さなかった。しかし、 15 分以上の時間をかけて視認できる程度の、 ゆったりとした光源方向への移動を見せた(図 4C)<sup>29</sup>。狭義の走光性は「光軸に沿って移動する こと」だが、それを伴わずに、一定の光環境に生 物が集まることがある。たとえばミドリムシは、 スポット状に照射された光に対し、光強度が変わ る境界面で光驚動反応を繰り返すことで集合す る<sup>36</sup>。どのような運動によりテトラバエナが光源 付近に集まっているのか、さまざまな運動解析を したが、今のところその答えは得られていない。 興味深いことに、このゆったりとした光への応答 は、ChR の吸収極大に近い緑色よりも、クロロ フィルのそれに近い青色や赤色でより顕著に現 れ、かつ光合成の阻害剤である DCMU で阻害さ れた (図 4C)<sup>29</sup>。つまり、光合成依存的と考えら れる。葉緑体からの何らかのシグナルが繊毛運動 に影響を与えているのだろう。

## 5. テトラバエナの光防御

前項で見たように、テトラバエナはクラミドモ ナスやボルボックスのような迅速な光行動を示 さない。クラミドモナスの項で述べたように、光 行動には、緑藻が自らを光合成に最適な光環境に 置くという意義があると想像される。そして、前 項の冒頭で述べたように、そのことは緑藻にとっ て重要なことだと想像される。では、テトラバエ ナはどうやって自然環境で生き延びているのだ ろう。

この疑問の解決にも偶然が味方した。我々のグ ループは、そのしばらく前からクラミドモナスの 光行動と光合成活性の連関に興味をもち、基生研 の皆川純博士のグループと共同研究を行ってい た。皆川博士のグループは、長年クラミドモナス のステート遷移や NPQ などの光防御機構を研究 している。その内容を身近に聞いていた若林は、 あまり論理的でない直感で、「テトラバエナの葉 緑体は光防御能力が高いのでは?」と想像した。 それが当たった。得津隆太郎博士の丁寧な光合成 パラメータ解析の結果、テトラバエナは強光条件 での Fv/Fm がクラミドモナスほどは低下せず、 測定した全ての光条件でクラミドモナスよりも 高い NPQ(qE)の値を示した(図 4D)<sup>29</sup>。

つまり、テトラバエナは、クラミドモナスやボ ルボックスのような迅速な光行動を示さない代 わりに、強い光が照射されてもストレスを感じに くいと考えられる(図5)。換言すれば、近縁の緑 藻よりも、陸上植物に近い生存戦略を選択してい るということが示唆された。

## 6. おわりに

冒頭に述べたように、緑藻が示す光行動の生理 的意義は明確には示されていない。今回の我々の 研究のあとでも明言はできない。しかし、クラミ ドモナスとテトラバエナの比較から、逆説的では あるものの、光行動が強光耐性に寄与するという、 当たり前といえば当たり前の、しかし大事な意義 が示唆された。また、この考えは現時点で確認さ れているテトラバエナの生息環境が「開けた場所 の浅い池」でしかないということによって補強さ れる。日陰ができにくい場所で池が浅ければ、光 を避けることは難しいだろう。テトラバエナはそ うした環境をニッチとして生き延びてきたと考 えられる。

すぐに浮かぶ疑問は、この「光行動の巧拙」と 「光防御能の高低」の負の相関は、他の藻類にも



## 図5.3種のボルボックス目緑藻の特徴

クラミドモナスとボルボックスは光行動能が高く、テトラバエナは低い。一方、テトラバエナはクラミドモナ スに比して高い光防御能をもつ。ボルボックスの光防御能と負の走光性時の繊毛調節は不明。

成り立つか否かである(図5)。まずはボルボック スの光合成活性をクラミドモナスと比較できる かたちで定量できれば良いのだが、技術的に困難 であり、これを克服することを目指している。 生物が示す行動の意義を、その有無も含めて理解 するのは難しい。生物から聞くことができない以 上、できるだけもっともらしい解釈を、生物とそ の環境の理解の積み重ねから捻り出すほかない。 遊泳性藻類が対象の場合、運動を見るだけでも、 光合成活性を見るだけでも足りないだろう。少し でも良い解釈をするための多様なアプローチに よる知見の蓄積に今後も貢献したい。

## 謝辞

本稿執筆の機会を下さった本誌編集委員の皆 様、執筆にあたりご助言下さった野崎久義博士 (国立環境研・東大)と丹野明日翔氏(栄研化学) に感謝致します。本研究の一部は、JSPS 科研費 (19H03242,20K21420,21H00420[K.W.],21K06295 [N.U.])、大隅基礎科学創成財団[K.W.]、物質・デ バイス共同研究拠点事業[N.U.]の助成を受けて 行われました。

Received Nov 14, 2022; Accepted Nov 28, 2022; Published Dec 31, 2022.

## 参考文献

- Kirk, D. L. A twelve-step program for evolving multicellularity and a division of labor. *Bioessays.* 27 (3), 299-310, (2005).
- 2 Sachs, J. L. Resolving the first steps to multicellularity. *Trends Ecol Evol.* **23** (5), 245-248, (2008).
- 3 Hamaji, T. *et al.* Mitochondrial and plastid genomes of the colonial green alga Gonium pectorale give insights into the origins of organelle DNA architecture within the volvocales. *PLoS One.* 8 (2), e57177, (2013).
- 4 植木紀子 & 若林憲一. ゾンビ化実験で明らかに なったボルボックス走光性機構. 植物科学の最 前線 (BSJ-Review) 10 121-131, (2019).
- 5 Foster, K. W. & Smyth, R. D. Light Antennas in phototactic algae. *Microbiol Rev.* 44 (4), 572-630, (1980).
- 6 Nagel, G. *et al.* Channelrhodopsin-1: a light-gated proton channel in green algae. *Science.* **296** (5577), 2395-2398, (2002).
- 7 Nagel, G. *et al.* Channelrhodopsin-2, a directly lightgated cation-selective membrane channel. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **100** (24), 13940-13945, (2003).
- Sineshchekov, O. A., Jung, K.-H. & Spudich, J. L. Two rhodopsins mediate phototaxis to low- and high-intensity light in Chlamydomonasreinhardtii. *PNAS*. 99 (13), 8689-8694, (2002).
- 9 Suzuki, T. *et al.* Archaeal-type rhodopsins in Chlamydomonas: model structure and intracellular

localization. Biochem Biophys Res Commun. 301 (3), 711-717, (2003).

- 10 Deisseroth, K. *et al.* Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits. *Journal of Neuroscience.* 26 (41), 10380-10386, (2006).
- 11 Schaller, K. & Uhl, R. A microspectrophotometric study of the shielding properties of eyespot and cell body in Chlamydomonas. *Biophysical Journal.* **73** (3), 1573-1578, (1997).
- 12 若林憲一, 井手隆広 & 植木紀子. クラミドモナ スとボルボックスの鞭毛運動調節. 生物工学. 96 261-265, (2018).
- 13 Ruffer, U. & Nultsch, W. High-Speed Cinematographic Analysis of the Movement of Chlamydomonas. *Cell Motility and the Cytoskeleton.* 5 (3), 251-263, (1985).
- 14 Yoshimura, K. & Kamiya, R. The sensitivity of chlamydomonas photoreceptor is optimized for the frequency of cell body rotation. *Plant Cell Physiol.* 42 (6), 665-672, (2001).
- 15 Fujiu, K., Nakayama, Y., Yanagisawa, A., Sokabe, M. & Yoshimura, K. Chlamydomonas CAV2 encodes a voltage- dependent calcium channel required for the flagellar waveform conversion. *Curr Biol.* **19** (2), 133-139, (2009).
- 16 Hyams, J. S. & Borisy, G. G. Isolated flagellar apparatus of Chlamydomonas: characterization of forward swimming and alteration of waveform and reversal of motion by calcium ions in vitro. *J Cell Sci.* 33 235-253, (1978).
- 17 Bessen, M., Fay, R. B. & Witman, G. B. Calcium control of waveform in isolated flagellar axonemes of Chlamydomonas. *J Cell Biol.* 86 (2), 446-455, (1980).
- 18 Kamiya, R. & Witman, G. B. Submicromolar levels of calcium control the balance of beating between the two flagella in demembranated models of Chlamydomonas. *The Journal of cell biology.* **98** (1), 97-107, (1984).
- 19 Okita, N., Isogai, N., Hirono, M., Kamiya, R. & Yoshimura, K. Phototactic activity in Chlamydomonas 'non-phototactic' mutants deficient in Ca2+-dependent control of flagellar dominance or in inner-arm dynein. *J Cell Sci.* **118** (Pt 3), 529-537, (2005).
- 20 Schaller, K., David, R. & Uhl, R. How Chlamydomonas keeps track of the light once it has reached the right phototactic orientation. *Biophysical Journal.* **73** (3), 1562-1572, (1997).
- 21 Wakabayashi, K., Misawa, Y., Mochiji, S. & Kamiya,R. Reduction-oxidation poise regulates the sign of

phototaxis in Chlamydomonas reinhardtii. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **108** (27), 11280-11284, (2011).

- 22 Hoops, H. J. Flagellar, cellular and organismal polarity in Volvox carteri. *Journal of Cell Science*. **104** (1), 105-117, (1993).
- 23 Ueki, N., Matsunaga, S., Inouye, I. & Hallmann, A. How 5000 independent rowers coordinate their strokes in order to row into the sunlight: phototaxis in the multicellular green alga Volvox. *BMC Biol.* 8 103, (2010).
- 24 Mast, S. O. Reactions to light in Volvox, with special reference to the process of orientation. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology.* 4 (5), 637-658, (1926).
- 25 Solari, C. A., Drescher, K. & Goldstein, R. E. The Flagellar Photoresponse in Volvox Species (Volvocaceae, Chlorophyceae)1. *J Phycol.* 47 (3), 580-583, (2011).
- 26 Ueki, N. & Wakabayashi, K. I. Detergent-extracted Volvox model exhibits an anterior-posterior gradient in flagellar Ca(2+) sensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **115** (5), E1061-E1068, (2018).
- 27 Arakaki, Y. *et al.* The simplest integrated multicellular organism unveiled. *PLoS One.* 8 (12), e81641, (2013).
- Nozaki, H. & Ohtani, S. Gonium sociale (Volvocales, Chlorophyta) from Antarctica. *Sorui (Jpn J Phycol)*.
  40 (3), 267-271, (1992).
- 29 Tanno, A. *et al.* The four-celled Volvocales green alga Tetrabaena socialis exhibits weak photobehavior and high-photoprotection ability. *PLoS One.* 16 (10), e0259138, (2021).
- Sakaguchi, H. & Iwasa, K. Two photophobic responses in Volvox carteri. *Plant and Cell Physiology.* 20 (5), 909-916, (1979).
- 31 Sineshchekov, O. A., Govorunova, E. G., Der, A., Keszthelyi, L. & Nultsch, W. Photoelectric Responses in Phototactic Flagellated Algae Measured in Cell-Suspension. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology.* **13** (2), 119-134, (1992).
- 32 Featherston, J. *et al.* The 4-Celled Tetrabaena socialis Nuclear Genome Reveals the Essential Components for Genetic Control of Cell Number at the Origin of Multicellularity in the Volvocine Lineage. *Molecular Biology and Evolution.* **35** (4), 855-870, (2018).
- de Maleprade, H., Moisy, F., Ishikawa, T. & Goldstein,
  R. E. Motility and phototaxis of Gonium, the simplest differentiated colonial alga. *Phys Rev E.* 101 (2-1), 022416, (2020).

光合成研究 32 (3) 2022

- 34 Kianianmomeni, A., Stehfest, K., Nematollahi, G., Hegemann, P. & Hallmann, A. Channelrhodopsins of Volvox carteri are photochromic proteins that are specifically expressed in somatic cells under control of light, temperature, and the sex inducer. *Plant Physiol.* 151 (1), 347-366, (2009).
- 35 Rüffer, U. & Nultsch, W. Flagellar photoresponses of Chlamydomonas cells held on micropipettes: II.

Change in flagellar beat pattern. *Cell Motility and the Cytoskeleton.* **18** (4), 269-278, (1991).

36 Tsang, A. C. H., Lam, A. T. & Riedel-Kruse, I. H. Polygonal motion and adaptable phototaxis via flagellar beat switching in the microswimmer Euglena gracilis (vol 14, pg 1216, 2018). *Nature Physics.* 14 (12), 1230-1230, (2018).

# Significance of photobehavior revealed by a comparison between the Volvocales green algae

Ken-ichi Wakabayashi<sup>1,2\*</sup> and Noriko Ueki<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Chemistry and Life Science, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology

<sup>2</sup>School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology

<sup>3</sup>Science Research Center, Hosei University

# チオレドキシン様タンパク質による葉緑体 ATP 合成酵素の酸化制御<sup>‡</sup>

<sup>1</sup>東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所 <sup>2</sup>東京工業大学 生命理工学院 関口 敬俊<sup>1,2</sup>、吉田 啓亮<sup>1,2</sup>、若林 憲一<sup>1,2</sup>、久堀 徹<sup>1,2\*</sup>

葉緑体 F<sub>o</sub>F<sub>1</sub>-ATP 合成酵素 (CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>) は、光合成電子伝達系によって形成されるチラコイド膜内外の H<sup>+</sup>の電気化学的勾配 ( $\Delta\mu$ H<sup>+</sup>)を駆動力として ATP を合成する。この酵素の活性は、複合体の中心軸を 構成する  $\gamma$  サブユニット上にある Cys ペアの酸化還元状態によって制御されており、明所でのみこれ が還元されて活性化型に切り替わる。CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub> の酸化還元制御は、植物にとって ATP 合成の駆動力が 形成されない暗所で酵素を不活性化することで、逆反応の ATP 加水分解を防ぐために重要と考えられ ている。しかし、これまでその鍵となる酸化の分子機構が不明であった。本研究では、近年同定された 新規酸化因子タンパク質である "チオレドキシン様タンパク質"が、CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>を酸化することを酵素化 学的に明らかにした。さらに、CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub> の酸化の効率が、チラコイド膜内外の  $\Delta\mu$ H<sup>+</sup>の形成状況に応じ て変動することを見出した。

## 1. はじめに

緑色植物は、太陽光エネルギーによって光合成 の電子伝達系を駆動して水から電子を引き抜き、 還元物質である NADPH を生成するとともに、チ ラコイド膜内外に H<sup>+</sup>の電気化学的勾配 ( $\Delta \mu$ H<sup>+</sup>) を形成する。葉緑体 F<sub>o</sub>F<sub>1</sub>-ATP 合成酵素 (CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>) は、この $\Delta \mu$ H<sup>+</sup>を駆動力として利用し、ATP を合 成する<sup>1</sup>。すなわち、CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>は光エネルギーを化 学エネルギーへと変換する鍵酵素である(図 1)。

 $\Delta \mu H^+$ は主に CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>に使用されることで解消さ れるが、チラコイドルーメンの H<sup>+</sup>濃度を示す pH の値は、シトクロム b<sub>o</sub>f の電子伝達活性の制御や 光防御の誘導に関わる重要な指標でもある。この ことから、CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>の酵素活性は植物の生理機能 とも密接に関連している<sup>2</sup>。また、CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>は潜在 的に ATP 合成の逆反応である ATP を加水分解す る活性を持っている<sup>3</sup>。そこで、十分な $\Delta \mu H^+$ が形 成されない暗所では、CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>が ATP を加水分解 して消費してしまい、植物がエネルギー的に不利 な状況に陥る危険性がある。これを避けるために、 CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>にはとりわけ $\Delta \mu H^+$ の形成状況、つまり光

\*第11回日本光合成学会年会学会賞受賞論文

環境に厳密に応答する活性制御機構が備わって



#### 図1. CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub>のモデル図

CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub>は、膜表在性のCF<sub>1</sub>部分(α<sub>3</sub>β<sub>3</sub>γδε)と膜内 在性のCF<sub>0</sub>部分(*abb*'*c*<sub>14</sub>)で構成されている。チラ コイドルーメンからストロマへのH<sup>+</sup>の輸送に伴 い、CF<sub>0</sub>部分の*c*<sub>14</sub>リングが回転し、これがCF<sub>1</sub>部分 の中心軸を構成するεサブユニットとγサブユニッ トの回転を引き起こす。γサブユニットの回転は、 その周囲を取り囲んでいる触媒部位を含むα<sub>3</sub>β<sub>3</sub>の 構造変化を誘導して、ATP合成反応が進行する。

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: thisabor@res.titech.ac.jp

いる。それが、酸化還元制御である。

CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub>の中心軸に位置するγサブユニット (CF1-y) は分子内に一組の Cys ペアを持ってお り、これが酵素活性を切り替える制御スイッチと して機能する 4-6。暗所では、この Cys ペアは酸 化されてジスルフィド結合を形成し、CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>は 不活性化している。これに対して明所では、還元 カメディエータであるチオレドキシン(Trx)に よってこのジスルフィド結合が還元され、 CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>は活性化する<sup>7-9</sup>。Trx は、生物界に普遍的 に見られるタンパク質で、活性部位に-WCGPC-というよく保存された配列をもち、この Cys ペア の酸化還元により還元力の授受を行う<sup>10,11</sup>。葉緑 体の Trx は、光合成電子伝達系からフェレドキシ ン (Fd) および Fd-Trx 還元酵素を介して還元力 を受け取り、様々な標的酵素分子に還元力を伝達 する<sup>12</sup>。興味深いことに、Trx による CF<sub>1</sub>-yの還元 は、ΔμH<sup>+</sup>が形成されている場合にのみ起こる<sup>9,13</sup>。 これは、ΔµH<sup>+</sup>の形成によって誘導される CF<sub>1</sub>-γの 構造変化<sup>14</sup>が、Trx との物理的な相互作用に影響 を及ぼしているためであると推察される。このよ うにして、CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>は明所でのみ活性化するよう に制御されている。

これまでの研究で CF1-γの還元過程の詳細が明 らかにされてきたが、酸化過程についてはほとん ど研究が行われていなかった。その主な理由は、 酸化力を提供する実体そのものが不明だったこ とによる。1980 年代に CF1-yの酸化還元状態は、 Trx から Fd を介して NADP+/NADPH、あるいは 直接的にグルタチオンの酸化還元状態と平衡化 しているという説も議論されたが 15,16、現在まで これらが CF1-yを酸化することを生化学的に直接 示した研究例はない。実際には、CF<sub>1</sub>-γに限らず、 Trx によって酸化還元制御を受ける葉緑体タンパ ク質の酸化過程は長年明らかにされていなかっ た。そこで、暗所でこれらのタンパク質が酸化に よって不活性化される分子機構の解明が望まれ ていた。このような背景のもと、私たちの研究室 では、シロイヌナズナ Arabidopsis thaliana を材料 として、炭素固定に関わる酵素群を酸化するいく つかの酸化因子タンパク質を同定した<sup>17,18</sup>。それ らは Trx-like 2 (TrxL2) や atypical Cys-His rich Trx



図2. チラコイド膜上のCF<sub>6</sub>CF<sub>1</sub>によるH<sup>+</sup>輸送活性 (A) AMSによるCF1-γの酸化還元状態の決定方法 のモデル図。チラコイド膜をトリクロロ酢酸/ア セトンで処理してタンパク質を抽出し、2mMAMS を含む非還元SDS-PAGE サンプルバッファーに懸 濁してAMS標識を行った。その後、非還元SDS-PAGEでタンパク質を分離し、CF<sub>1</sub>-γの特異抗体を用 いたイムノブロッティング解析でCFi-γを検出し た。図では完全に酸化/還元したCF1-γを示した。 (B) 異なる処理を施した3種類のホウレンソウ緑 葉から調製したチラコイド膜上のCF1-γの酸化還元 状態。 (i) 未処理、(ii) 減圧下でDTTredを含まない 単離用バッファーを浸潤、(iii) 光照射後、減圧下で DTT<sub>red</sub>を含む調製用バッファーを浸潤。(C)(B)の チラコイド膜のATP依存H<sup>+</sup>輸送活性。ATP添加後の ACMA ( $\lambda_{ex}$ =410 nm,  $\lambda_{em}$ =480 nm) の蛍光の消光、 およびFCCP添加後の蛍光の回復を測定した。(B, C) については文献20より抜粋改変。

(ACHT)と命名されていたタンパク質で、Trxの 活性部位とは異なる-CxxC-のモチーフを持つ "Trx様タンパク質"に分類されている。TrxL2と ACHT は共通して、Trxやその標的タンパク質よ りも高い中点酸化還元電位を持っており、標的タ ンパク質から電子を引き抜きやすい(標的タンパ ク質を酸化しやすい)。ところが、活性酸素の除 去に還元力を利用する 2-Cys-ペルオキシレドキ シン (2CP) だけは、例外的に還元することがで きた。つまり、これらの酸化因子タンパク質は、 2CP を介して活性酸素を最終的な酸化力として 利用し、標的タンパク質を酸化しているものと考 えられる 19。

我々は、これまで知られていなかった CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub> の酸化過程を担う候補因子として、この Trx 様タ ンパク質に注目した。そして、独自の *in vitro* 実 験系を構築し、Trx 様タンパク質による CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>の 酸化を生化学的に明らかにすることを試みた<sup>20</sup>。

# 2. 還元型 CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub>を含むチラコイド膜の調製

CF1-yの酸化実験を行うためには、還元型 CF1γを含むチラコイド膜を調製する必要がある。ホ ウレンソウ緑葉から通常の方法でチラコイド膜 を調製すると、膜に含まれる CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>中の CF<sub>1</sub>-γは 調製の過程で酸化されてしまう。そこで、緑葉を 破砕する直前に、緑葉へ光照射および減圧下での 還元型 dithiothreitol (DTT<sub>red</sub>)の浸潤を行った。こ の緑葉から調製したチラコイド膜に含まれる CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub>の CF<sub>1</sub>-yの酸化還元状態を、チオール基修 飾試薬である 4-acetamido-4'-maleimidylstilbene-2,2'-disulfonate (AMS) を用いて調べた。AMS は 遊離のチオール基のみを修飾するため、還元型タ ンパク質は修飾されるが、酸化型は修飾されない。 このような AMS の修飾の有無によって生じるタ ンパク質の分子量の違いを、非還元 SDS-PAGE の 泳動度の違いとして区別することで、タンパク質 上の Cys の酸化還元状態の判別ができる (図 2A)。 抗 CF1-y抗体を用いてイムノブロッティング解析 を行えば、チラコイド膜上の CF<sub>1</sub>-γの酸化還元状 態を特異的に調べることも可能である。そこで、 CF1-γバンドを免疫染色して発光強度を用いて定 量し還元型の割合を算出したところ、DTT<sub>rd</sub>をあ らかじめ浸潤する方法で得たチラコイド膜に含 まれる CF<sub>1</sub>-γは約80%以上が還元型であることが 確認できた(図2B)。一方、緑葉に対して光照射 をせず DTT<sub>red</sub> を含まない破砕用バッファーのみ を減圧浸潤した場合、チラコイド膜に含まれる CF<sub>1</sub>-γは完全に酸化型だった。

次に、チラコイド膜に結合した  $CF_oCF_1$ の H<sup>+</sup>輸 送活性を測定した。 $CF_oCF_1$ は、ATP 加水分解反 応と共役して H<sup>+</sup>をチラコイドルーメンへと輸送 する。チラコイド膜内外に形成された $\Delta pH$ は、蛍 光 指 示 薬 で あ る 9-amino-6-chloro-2methoxyacridine (ACMA) で検出した。ACMA は



## 図3. ACHTとTrxL2によるCF1-γの酸化

(A) DTT<sub>ox</sub>によるCF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化。チラコイド膜(50 µg Chlorophyll/mg)に100 µM DTT<sub>ox</sub>を混合し、900 秒間振盪した後、AMS標識して酸化還元状態を可 視化した。(B) ACHT1によるCF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化の例。(A) の反応条件に500 nM ACHT1を追加し、指定の時間 振盪した後、AMS標識して酸化還元状態を可視化 した。(C) Trx様タンパク質によるCF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化の時 間変化。(B)に示したCF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化還元状態を定量 し、反応時間に対してプロットした。エラーバーは 標準偏差を表す(n=3)。文献20の通り、{CF<sub>1</sub>- $\gamma$ red} = {CF<sub>1</sub>- $\gamma$ red}o×e<sup>At</sup>でフィッティングした。{CF<sub>1</sub>- $\gamma$ red} はCF<sub>1</sub>- $\gamma$ の還元率、{CF<sub>1</sub>- $\gamma$ red}oは反応開始前のCF<sub>1</sub>- $\gamma$ の還元率、kは反応速度定数、tは反応時間を表す。 (A-C)はいずれも文献20より抜粋改変。

## 表1. ACHTとTrxL2によるΔμH<sup>+</sup>形成条件ごとのCF<sub>1</sub>-γの酸化速度

CF1- $\gamma$ の還元率が反応開始前から半分になる時間 $t_{1/2}$ を求めた。異なるアルファベットは、各Trx様タンパク質における $\Delta \mu H^+$ の形成条件ごとの有意差を表す (p < 0.05; 一元配置分散分析およびテューキー検定)。文献20より 抜粋改変。

Species	Conditions	$\Delta \mu \mathrm{H}^+$	<i>t</i> <sub>1/2</sub> (s)	Significance by condition (P < 0.05)	$ \mathbf{R} $
500 nM ACHT1	Light, - FCCP	Formed	433.2 ± 62.5	a	0.964
	Light, + FCCP	Not formed	$88.9\pm37.5$	b	0.990
	Dark, – FCCP	Not formed	$62.5\pm6.4$	b	0.967
500 nM ACHT2	Light, - FCCP	Formed	$688.9\pm385.9$	a	0.855
	Light, + FCCP	Not formed	$70.3\pm15.3$	b	0.984
	Dark, – FCCP	Not formed	59.2 ± 11.3	b	0.974
500 nM TrxL2.1	Light, - FCCP	Formed	9.4 + 1.1	a	0.986
	Light, + FCCP	Not formed	8.4 + 1.0	a	0.994
	Dark, – FCCP	Not formed	9.9 + 1.9	a	0.964
500 nM TrxL2.2	Light, - FCCP	Formed	$114.9\pm21.9$	a	0.955
	Light, + FCCP	Not formed	$14.4\pm3.0$	b	0.995
	Dark, - FCCP	Not formed	$17.9\pm2.1$	b	0.991
50 nM TrxL2.1	Light, - FCCP	Formed	65.4 ± 14.7	a	0.904
	Light, + FCCP	Not formed	31.6 ± 3.1	b	0.951
	Dark, - FCCP	Not formed	$42.8\pm9.6$	ab	0.896

プロトン化するとその蛍光が消光するため、 $\Delta pH$ の形成を蛍光強度によって経時的に観察することができる<sup>21</sup>。浸潤処理の異なるチラコイド膜で比較したところ、還元型 CF<sub>1</sub>- $\gamma$ を含むチラコイド 膜でのみ、ATP 添加によるゆるやかな蛍光の消光、および、脱共役剤である carbonyl cyanide 4-(trifluoromethoxy) phenylhydrazone (FCCP)の添加による蛍光の回復が観察された(図 2C (*iii*))。すなわち、CF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化還元状態に依存した CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub>のH<sup>+</sup>輸送活性の変化を検出することができた。

## 3. Trx 様タンパク質による CF1-yの酸化

Trx 様タンパク質が CF<sub>1</sub>- $\gamma$ を酸化できるか否か を調べるために、*in vitro* 実験系を構築した。本研 究では、既に酸化因子としての性質が報告されて いる TrxL2 (TrxL2.1, TrxL2.2) と ACHT (ACHT1, ACHT2) の各アイソフォームについて注目した 17,18。上述した方法で調製したチラコイド膜に、 組換え体タンパク質として精製した Trx 様タン パク質、および、酸化力として酸化型 dithiothreitol (DTT<sub>ox</sub>)を混合して酸化反応を開始し、CF<sub>1</sub>-γの 酸化還元状態の変化を AMS 修飾によって調べた。 Trx による CF<sub>1</sub>-γの還元過程ではΔ*μ*H<sup>+</sup>の形成が必 要だったことから、我々は酸化過程にもΔµH<sup>+</sup>の 形成状況が影響すると予想した。そこで、人工電 子メディエータ 1-methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate をチラコイド膜に添加して光照射を 行い、人工的にΔμH<sup>+</sup>を印加した<sup>8,9</sup>。対照実験と しては、暗条件下でΔµH<sup>+</sup>を形成させない場合と、 光条件下で形成させたΔμH<sup>+</sup>を FCCP によって解 消した場合について実験を行った。なお、DTTox 単独では、ΔμH<sup>+</sup>の有無にかかわらず、CF<sub>1</sub>-γを直 接酸化する効率が非常に低いことを確認した(図  $(3A)_{\circ}$ 

TrxL2 と ACHT について CF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化能力を調 べたところ、いずれも CF<sub>1</sub>- $\gamma$ を酸化することが可 能であった。図 3B には、一例として ACHT1 に よる CF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化を経時的に観察したイムノブ ロッティング解析の結果を示す。CF<sub>1</sub>- $\gamma$ の還元率 の時間変化を Trx 様タンパク質ごとに調べると、 それぞれのアイソフォーム間で CF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化には 違いが見られ、さらに、 $\Delta\mu$ H<sup>+</sup>の形成状況に依存し て酸化の進行速度が変化する様子が観察された

(図 3C)。そこで、各アイソフォームによる CF1γの酸化反応の時定数をΔμH<sup>+</sup>の形成状況ごとに 決定して比較した(表 1)。ACHT1 と ACHT2 は いずれも、光条件下でΔµH<sup>+</sup>が形成された時より も、暗条件下や FCCP によって $\Delta \mu H^+$ が形成され ていない時の方が、CF1-γを速やかに酸化するこ とがわかった。TrxL2.2 の場合も、同様に $\Delta \mu H^+$ 依 存的な酸化速度の変化を確認した。しかし、 TrxL2.1 は CF1-γの酸化速度が著しく速かったた め、他の酸化因子タンパク質と同じ条件では ΔμH<sup>+</sup>依存的な酸化速度の変化を確認することが できなかった。そこで、より低濃度の TrxL2.1 を 用いて CF<sub>1</sub>-γの酸化速度を調べたところ、ΔμH<sup>+</sup>依 存的な変化を確認することができた(文献 20 の Supporting information 参照)。以上の結果から、い ずれの Trx 様タンパク質による CF1-γの酸化も、 ΔµH<sup>+</sup>の形成・解消によって制御されていること が明らかになった。すなわち、CF1-γの酸化は、チ ラコイド膜内外のΔμH<sup>+</sup>の形成を必要とした Trx による  $CF_1-\gamma$ の還元とは、対照的な $\Delta \mu H^+$ 依存性を 示した。

# 4. Trx による CF1-yの酸化

次に、還元側ではたらくことが知られている Trx について、CF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化能力を同様の *in vitro* 実験系を用いて調べた。シロイヌナズナの葉緑体 型 Trx は *f*, *m*, *x*, *y*, *z* の 5 つのサブタイプに分類さ れ、それぞれ異なる標的選択性を示すことが報告 されている。このうち Trx-*f* は最も多くの標的タ ンパク質が同定されており<sup>22</sup>、CF<sub>1</sub>- $\gamma$ も Trx-*f* に よって還元される標的タンパク質のひとつであ る<sup>7-9</sup>。ところが、 $\Delta\mu$ H<sup>+</sup>が形成されない条件では、 CF<sub>1</sub>- $\gamma$ をわずかに酸化したものの、Trx 様タンパク 質に比べるとその酸化効率は著しく低かった(図 4A)。他にも、葉緑体内で最も豊富に存在し CF<sub>1</sub>γを還元することができる Trx- $m^{9,23}$  や、抗酸化ス トレス系に関わることが予想される Trx- $x^{24}$  およ び Trx- $y^{25}$  についても同様の実験を行ったが、い ずれの Trx も CF<sub>1</sub>- $\gamma$ を効率的に酸化することは出 来なかった(図 4B)。これらの結果から、還元を 担う Trx はいずれも CF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化には直接関与し ないと結論した。

## 5. おわりに

今回の研究では、CF<sub>I</sub>-γの酸化が Trx 様タンパ ク質によって行われること、そして、チラコイド 膜内外のΔμH<sup>+</sup>の解消によってこの酸化が促進さ



## 図4. TrxによるCF<sub>1</sub>-γの酸化

(A) シロイヌナズナTrx-flによるCF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化の時 間変化。(B) シロイヌナズナTrx-m1, x, y2によるCF<sub>1</sub>- $\gamma$ の酸化。チラコイド膜(50 µg Chlorophyll/mg)に 100 µM DTT<sub>0x</sub>と500 nMの各Trx混合し、900秒間振 盪した後、AMS標識して酸化還元状態を可視化し た。図中のaは有意差を表す(p < 0.05;一元配置分 散分析およびテューキー検定)(A, B) エラーバー は標準偏差を表す(n = 3)。文献20より抜粋改変。



図5. CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub>の $\Delta\mu$ H<sup>+</sup>依存的な酸化還元制御スキーム

CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>のTrxによる還元、および、Trx様タンパク質 による酸化は、 $\Delta \mu$ H<sup>+</sup>の形成・解消によって支配さ れる。文献6を参考に、文献9と文献20の結果から新 規のスキームを描いた。TrxとTrx様タンパク質につ いて示した曲線矢印は還元力の流れ、直線矢印は CF<sub>o</sub>CF<sub>1</sub>の活性化状態の変化、H<sup>+</sup>を記した青い三角 形は膜を介した $\Delta \mu$ H<sup>+</sup>の形成を表す。

れることを明らかにした。そこで、これまで明ら かにされていた Trx による還元過程と、本研究で 明らかにした酸化過程を組み合わせて、CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub> のΔμH<sup>+</sup>依存的な酸化還元制御のスキームを示す (図 5)。ΔμH<sup>+</sup>の形成・解消によって酸化還元制 御が支配される CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub> 独自の特徴は、植物に とって暗所での加水分解反応による ATP の浪費 を防ぐためのエネルギー戦略として極めて合理 的であると考えられる。

## 謝辞

本研究は、JSPS 科学研究費補助金(21H02502 [T.H.]、22J13334[T.S.])の助成によって行われま した。また、本稿執筆の機会を与えてくださった 日本光合成学会ならびに編集委員の方々に御礼 申し上げます。

*Received Nov 3, 2022; Accepted Nov 21, 2022; Published Dec 31, 2022.* 

## 参考文献

1. Jagendorf, A. T., and Uribe, E. ATP formation caused by acid-base transition of spinach chloroplasts. *Proc.* 

Natl. Acad. Sci. U. S. A. 55, 170-177 (1966).

- 2. Bosco, C. D., Lezhneva, L., Biehl, A., Leister, D., Strotmann, H., Wanner, G., and Meurer, J. Inactivation of the chloroplast ATP synthase  $\gamma$  subunit results in high non-photochemical fluorescence quenching and altered nuclear gene expression in *Arabidopsis thaliana. J. Biol. Chem.* **279**, 1060-1069 (2004).
- Yoshida, M., Muneyuki, E., and Hisabori, T. ATP synthase--a marvellous rotary engine of the cell. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2, 669-677 (2001).
- Nalin, C. M., and McCarty, R. E. Role of a disulfide bond in the γ subunit in activation of the ATPase of chloroplast coupling factor 1. *J. Biol. Chem.* 259, 7275-7280 (1984).
- Miki, J., Maeda, M., Mukohata, Y., and Futai, M. The γ-subunit of ATP synthase from spinach chloroplasts. Primary structure deduced from the cloned cDNA sequence. *FEBS Lett.* 232, 221-226 (1988).
- Junesch, U., and Graber, P. Influence of the redox state and the activation of the chloroplast ATP synthase on proton-transport-coupled ATP synthesis/hydrolysis. *Biochim. Biophys. Acta* 893, 275-288 (1987).
- Mills, J. D., Mitchell, P., and Schurmann, P. Modulation of coupling Factor ATPase Activity in intact chloroplasts, the role of the thioredoxin system. *FEBS Lett.* **112**, 173-177 (1980).
- Schwarz, O., Schurmann, P., and Strotmann, H. Kinetics and thioredoxin specificity of thiol modulation of the chloroplast H<sup>+</sup>-ATPase. *J. Biol. Chem.* 272, 16924-16927 (1997).
- Sekiguchi, T., Yoshida, K., Okegawa, Y., Motohashi, K., Wakabayashi, K. I., and Hisabori, T. Chloroplast ATP synthase is reduced by both *f*-type and *m*-type thioredoxins. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1861, 148261 (2020).
- Holmgren, A. Thioredoxin. Annu. Rev. Biochem. 54, 237-271 (1985).
- Jacquot, J. P., Lancelin, J. M., and Meyer, Y. Thioredoxins: structure and function in plant cells. *New phytol.* 136, 543-570 (1997).
- Buchanan, B. B. Role of Light in the Regulation of Chloroplast Enzymes. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 31, 341-374 (1980).
- 13. Ketcham, S. R., Davenport, J. W., Warncke, K., and McCarty, R. E. Role of the  $\gamma$  subunit of chloroplast coupling factor 1 in the light-dependent activation of photophosphorylation and ATPase activity by dithiothreitol. *J. Biol. Chem.* **259**, 7286-7293 (1984).

- 14. Komatsu-Takaki, M. Energizing effects of illumination on the reactivities of lysine residues of the  $\gamma$  subunit of chloroplast ATP synthase. *Eur. J. Biochem.* **236**, 470-475 (1996).
- Quick, W. P., and Mills, J. D. Thiol modulation of chloroplast CF<sub>0</sub>-CF<sub>1</sub> in isolated barley protoplasts and its significance to regulation of carbon dioxide fixation. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 851, 166-172 (1986).
- Kramer, D. M., and Crofts, A. R. Activation of the chloroplast ATPase measured by the electrochromic change in leaves of intact plants. *Biochim. Biophys. Acta* 976, 28-41 (1989).
- Yoshida, K., Hara, A., Sugiura, K., Fukaya, Y., and Hisabori, T. Thioredoxin-like2/2-Cys peroxiredoxin redox cascade supports oxidative thiol modulation in chloroplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, E8296-E8304 (2018).
- Yokochi, Y., *et al.* Impact of key residues within chloroplast thioredoxin-*f* on recognition for reduction and oxidation of target proteins. *J. Biol. Chem.* 294, 17437-17450 (2019).
- Yoshida, K., Yokochi, Y., and Hisabori, T. New Light on Chloroplast Redox Regulation: Molecular Mechanism of Protein Thiol Oxidation. *Front. Plant Sci.* 10, 1534 (2019).

- Sekiguchi, T., Yoshida, K., Wakabayashi, K. I., Hisabori, and T. Dissipation of the proton electrochemical gradient in chloroplasts promotes the oxidation of ATP synthase by thioredoxin-like proteins. *J. Biol. Chem.* 298, 102541 (2022).
- McCarty, R. E. ATP synthase of chloroplast thylakoid membranes: a more in depth characterization of its ATPase activity. *J. Bioenerg. Biomembr.* 37, 289-297 (2005).
- Yoshida, K., Hara, S., and Hisabori, T. Thioredoxin selectivity for thiol-based redox regulation of target proteins in chloroplasts. *J. Biol. Chem.* 290, 14278-14288 (2015).
- Okegawa, Y., and Motohashi, K. Chloroplastic thioredoxin *m* functions as a major regulator of Calvin cycle enzymes during photosynthesis *in vivo. Plant J.* 84, 900-913 (2015).
- 24. Collin, V., *et al.* The *Arabidopsis* plastidial thioredoxins: new functions and new insights into specificity. *J. Biol. Chem.* **278**, 23747-23752 (2003).
- 25. Collin, V., *et al.* Characterization of plastidial thioredoxins from Arabidopsis belonging to the new *y*-type. *Plant Physiol.* **136**, 4088-4095 (2004).

# Oxidative regulation of chloroplast ATP synthase by thioredoxin-like proteins

Takatoshi Sekiguchi<sup>1,2\*</sup>, Keisuke Yoshida<sup>1,2</sup>, Ken-ichi Wakabayashi<sup>1,2</sup> and Toru Hisabori<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Chemistry and Life Science, Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology

<sup>2</sup>School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology

# 解説特集

# 光合成の誕生・進化・退化

Editor: 增田 真二、田中 寬 (東京工業大)

序文

- 增田 真二、田中 寛(東京工業大) 139
- 解説 光合成の進化が地球環境へ及ぼした影響

解説 緑色植物の光捕集系の進化と光環境適応

- 尾﨑 和海(東京工業大) 140
- 解説 光化学系Ⅱにおける翻訳後アミノ酸変換と光合成酸素発生の起源
  - 野口 巧(名古屋大) 151
  - 44 年 162 年 163 年 163
- 解説
   植物の陸上進出と乾燥ストレス応答機構の発達

   堀
   孝一(東京工業大)
   170
- 解説 光合成をやめる進化 ~クリプト藻の葉緑体ゲノムでは光合成能消失前に何が起こるのか?~
  - 鈴木 重勝 他(国立環境研) 180

# 解説特集

序文 ‡

# <sup>1</sup>東京工業大学 生命理工学院 <sup>2</sup>東京工業大学 化学生命科学研究所 増田 真二<sup>1\*</sup>

## 田中 寛<sup>2</sup>

光合成の研究に少しでも携わった方であれば、この精巧なシステムを生物が作り上げた、という事 実をにわかに信じがたく思ったことが一度はあるかもしれない。その仕組みの理解は今では大きく進 み、教科書を開けば、色素タンパク質複合体の構造や生合成経路などが詳細に記述されている。しかし ながら、それらがどのように誕生・進化したのか、という問題に関しては決定的なことは少なく、それ に対する考察も時代と共に大きく変わってきたと感じる。例えば、1990年代では、最も初期に光合成 を始めた生物は酸素非発生型の光合成細菌で、シアノバクテリアはそれらが融合してできたのだ、と いう説が有力であった。2000年代中頃になると、光合成は(プロト)シアノバクテリアが最初に生み 出し、酸素非発生型の光合成はそれらの派生派、もしくは遺伝子の水平伝播によって生み出された、と いう説が出てきた。有力で定着しつつあったこの説も、5年前の論文で再度否定された<sup>1)</sup>。このことは、 ここ半世紀の光合成研究の成果は、「光合成の進化」の理解にはあまり役立っていないのでは、と思わ せる。「ほんとにそうなのだろうか?」という疑問から、今年5月に行われた第12回日本光合成学会 で、シンポジウム「光合成の誕生・進化・退化」を企画し、これまでにない視点から光合成の進化に関 して今なにが言えるのかを確認したいと考えた。議論を深めるべく、様々な分野の第一線で活躍して おられ、かつこれまで光合成の進化について直接話を聞く機会の少なかった研究者に発表をお願いす ることにした。その結果、この半世紀の研究により光合成の進化に関する理解は確実に進んでいるこ とを実感することができた。

今回、このシンポジウムの講演者の方々に寄稿いただき本特集をまとめた。お忙しい中、執筆・査読 いただいた方には大変お世話になった。この場を借りて御礼申し上げる。皆様と共に「光合成の誕生・ 進化・退化」の最新知見を共有できれば幸いである。

<sup>1)</sup>Blankenship, R. E. How cyanobacteria went green. *Science* 355, 1372-1373 (2017)

<sup>\*</sup>解説特集「光合成の誕生・進化・退化」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: shmasuda@bio.titech.ac.jp

# 解説

# 光合成の進化が地球環境へ及ぼした影響<sup>‡</sup>

## 東京工業大学 理学院 地球惑星科学系

尾﨑 和海\*

地球環境と生命の共進化を理解することは、地球がなぜ生命生存に適した星であり続けてきたのかと いう問題に深く関わっている。なかでも光合成の進化は、生物が太陽の光エネルギーを利用すること を可能とし、その後の地球環境を大きく転換させた点で特筆すべき事象といえる。さらに、酸素発生型 光合成機能の進化によって地球上に遍在する水を電子供与体として利用することができるようになっ たことで、それまで基礎生産を制限していた H<sub>2</sub> や Fe<sup>2+</sup>等の無機物の供給率による律速を克服し、現在 の酸化的地球環境が形成されるに至った。しかしながら、光合成の進化が地球環境に与えた影響につ いての定量的理解はまだ十分に得られているとは言えない。本稿では、この問題に関する最近の知見 を紹介する。

### 1. はじめに

現在の地球が吸収する正味の太陽放射は 240 Wm<sup>-2</sup>である<sup>1</sup>。これは全球で1.2×10<sup>17</sup>Wに相当 し、地殻熱流量(約4.4×10<sup>13</sup>W)に比べて2700倍 以上大きい。光合成の進化はこの膨大な光エネル ギーを利用可能とした点で生命進化史上の革新 的事象といえる。現在の生物圏の基礎生産のほと んどは陸上植物や藻類、シアノバクテリアなどに よる酸素発生型光合成によって担われており、太 陽放射エネルギーの約0.1% (1.5×10<sup>14</sup>W)を純一 次生産 (NPP) として利用している。これは炭素 フラックスとしてみると年間 9000 Tmol (T=10<sup>12</sup>) の二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)を有機物として固定してい ることに相当<sup>2,3</sup>し、火成活動による脱ガス作用 や風化作用などの非生物的プロセス(それぞれ5 -10 Tmol C yr<sup>-1</sup>程度<sup>4</sup>) に比べて桁違いに大きく、 現代の生物圏は地球表層圏の物質循環に大きな 影響を及ぼしていることが分かる5。

酸素発生型光合成の副産物として環境中に放

出された酸素分子 ( $O_2$ ) は、地球表層環境を酸化 することを通じて水圏の化学状態や元素循環な らびに生命進化に影響してきた<sup>6,7</sup>。現在の地球大 気は  $O_2$ を主成分(体積分率で 21%)とした酸化 的状態にあり、水に溶けにくい気体であるにもか かわらず、海洋深部まで  $O_2$ が行き渡っている(海 洋深層水の平均  $O_2$ 濃度は約 170 $\mu$ M<sup>8</sup>)。しかしな がら、これまでの地質学的・地球化学的研究に よって、現在のような酸化的大気海洋環境が形成 されたのは約 4.5-4.0 億年前(古生代オルドビス 期末からデボン紀にかけて)<sup>9-11</sup>のことであり、 それ以前は貧酸素もしくは無酸素環境が拡がる 状況であったことが明らかとなっている<sup>11-15</sup>(図 1)。

本稿では、光合成生物の進化に注目し、それが 地球表層環境に与えた影響について最近の知見 をまとめる。特に酸素発生型光合成が進化する以 前に重要な基礎生産者であったと考えられる酸 素非発生型光合成細菌が地球環境へ及ぼした影

<sup>\*</sup>解説特集「光合成の誕生・進化・退化」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: ozaki.k.ai@m.titech.ac.jp



### 図1. 大気海洋酸化還元状態の変遷史

上図:大気O2濃度の変遷史<sup>12</sup>。地質記録に基づく制約と矛盾する領域を灰色で示している。S-MIF(硫黄の質量非依存同位体分別)。S-MDF(硫黄の質量依存同位体分別)。下図:海洋酸化還元状態の変遷史。PAL (present atmospheric level) は現在の大気中O2濃度に対する比を表す。GOE = Great Oxidation Event。NOE = Neoproterozoic Oxygenation Event。

響と、酸素発生型光合成の進化から酸化的地球環 境が形成されるまでに長期間を要した理由につ いて議論する。

## 2. 大気海洋酸化還元状態の変遷史

地質記録や地球化学分析に基づいて制約され た大気  $O_2$ 濃度の変遷史<sup>12</sup>と海洋の酸化還元状態 の概略図を図1に示す。氷床コアの存在しない約 100万年前より昔の大気組成については直接的 な地質記録が存在しないため、間接的な指標に基 づいて制約を行うしかない。これまでに大気  $O_2$ 濃度の復元を行うための様々な手法が考案され ており、図1はそれらの結果を基にもっともらし い大気  $O_2$ 濃度変遷史を描いたものである<sup>12</sup>。ま た、海洋の酸化還元状態については堆積岩中の鉄 の形態分析や酸化還元敏感元素(Mo, U, V など) の濃集度や同位体の物質収支に基づいて推定さ れている<sup>7,11,16,17</sup>。これらに基づくと、大気海洋環 境の酸化還元状態の変遷は大きく 4 つの段階に 分けられる(図1のステージI~IV)。

ステージ I. 酸素発生型光合成が進化する以前

の地球大気中には  $O_2$  濃度がほとんど存在せず (理論モデルに基づくと< $10^{-12}$  PAL (present atmospheric level;現在の大気濃度に対する比)<sup>18</sup>)、 海洋中に二価鉄 (Fe<sup>2+</sup>) が溶けていたと考えられ ている<sup>16,19,20</sup>。

ステージ II. 酸素発生型光合成生物が出現した 後の太古代後期から古原生代にかけての大気 O<sub>2</sub> 濃度は、硫黄の質量非依存同位体分別(S-MIF) の地質記録に基づき<10<sup>-6</sup> PAL と制約されている <sup>19,21,22</sup>。O<sub>2</sub> 生成場では局所的に好気的環境(酸素 オアシス)が形成されていたと考えられている<sup>23-</sup>

ステージ III. 古原生代には大気 O2濃度の急増 が生じたと考えられており、大酸化イベント

(Great Oxidation Event;以下 GOE)と呼ばれている(詳細は5節参照)<sup>26</sup>。GOE後は過渡的な高 $O_2$ 期(オーバーシュート<sup>27</sup>)を経て $O_2$ 濃度は減少し、原生代の大気 $O_2$ 濃度は0.1%-10% PALの範囲で推移したと考えられている<sup>12</sup>。海洋表層環境には好気的環境が拡がっているが、海洋内部は無酸素状態であり硫化水素(H<sub>2</sub>S)や Fe<sup>2+</sup>が存在す

る状況にあった 13,16。

ステージ IV. 新原生代の酸化イベント (Neoproterozoic Oxygenation Event; NOE) 以降大 気 O<sub>2</sub> 濃度は上昇し、オルドビス期末からデボン 紀にかけて現在レベルの大気 O<sub>2</sub> 濃度に達したと 考えられている<sup>9,13</sup>。この頃までに海洋深層まで 酸化的環境が拡大した<sup>9-11</sup>。その後の時代は、還 元的海洋環境はごく限られた閉鎖的海盆にのみ 存在する状況であったが、しばしば短期間(数十 万年から100万年間)に大規模な無酸素水塊が拡 大する現象(海洋無酸素事変)が発生した<sup>28</sup>。

以上の大気海洋酸化還元状態の変遷史に基づ くと、現在のような酸化的地球環境の形成は地球 史のなかでは最近のことである。酸素発生型光合 成の進化がいつ生じたのかはよく分かっていな いが、少なくとも GOE 以前(S-MIFの消失が始 まる約 24.5 億年前<sup>29</sup>)に遡ることは確かである。 また、酸化還元敏感元素に関する地質記録によれ ば約 30 億年前までさかのぼる可能性もある<sup>30-32</sup>

(異なる見解については文献<sup>33</sup>参照)。すなわち、 酸素発生型光合成の進化から現在のような酸化 的地球環境の形成には 20 億年以上の時間を要し ており、酸素発生型光合成の存在は必ずしも現在 のような酸化的地球環境の形成を意味しない。な ぜ酸素発生型光合成の進化から酸化的地球環境 の形成に長期間を要したのか?GOE はどのよう なメカニズムによって生じたのか?GOE に伴っ て地球環境はどのように変化したのか?など、大 気 O<sub>2</sub> 濃度の変遷史には未解明問題が多く残され ている。また、酸素発生型光合成が進化する以前 に生態系の基礎生産を担っていたと考えられる 酸素非発生型光合成細菌(以下、光合成細菌)に ついても、地球環境に及ぼしていた影響は良く分 かっていない。

地球大気組成(本稿では $O_2 \diamond CH_4$ に着目する) は生命活動を介した物質循環によって規定され ている。そのため、大気組成変遷史の解明には物 質循環を介した生命と地球環境の相互作用につ いての定量的理解が欠かせない。次節以降では、 光合成生物が地球環境に及ぼした影響について、 理論モデルを用いた研究事例や近年の研究動向 を紹介する。

## 3. 光合成細菌が地球環境に与えた影響

ここでは酸素非発生型光合成生物が大気組成 (CH<sub>4</sub>)へ及ぼしていた影響を調べた研究<sup>34</sup>を紹 介する。

酸素発生型光合成は地球上に遍在する水を電子供与体として利用することのできる点で画期的であるが、光合成細菌は H<sub>2</sub>や H<sub>2</sub>S および Fe<sup>2+</sup>等の無機物を電子供与体として利用する<sup>35,36</sup>。これらは究極的には地球内部から供給されるため、全球レベルの生態系活動はこれら還元物質の流入フラックスによって律速されると考えられている<sup>37-39</sup>。しかしながら、大気-海洋-生態系中での化学反応や代謝過程といった物質循環過程を包括的に考慮しなければ生態系活動レベルや大気組成への影響を定量的に評価することはできない<sup>40-42</sup>。

この問題にアプローチするため、私たちは大気 光化学モデルと海洋微生物生態系モデルを結合 し H<sub>2</sub>や Fe<sup>2+</sup>の物質循環を扱うことが可能な新規 の理論モデルを開発した<sup>34</sup>。光合成細菌として水 素資化性光合成細菌(R1:2H<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>+ $h\nu$ → CH<sub>2</sub>0+H<sub>2</sub>0)と鉄酸化光合成細菌(R2:4Fe<sup>2+</sup>+  $11H_2O + CO_2 + h\nu \rightarrow 4Fe(OH)_3 + CH_2O + 8H^+$ ) を考慮し、生成された有機物の一部は堆積物中に 埋没するものと仮定した。残りの有機物は酢酸生 成菌 (R3: 2CH<sub>2</sub>O → CH<sub>3</sub>COOH) や酢酸資化性メ タン菌 (R4: CH<sub>3</sub>COOH  $\rightarrow$  CH<sub>4</sub> + CO<sub>2</sub>) によって無 機化され大気へ放出される。大気中での一連の化 学反応は鉛直一次元大気光化学モデル(73の化 学種と359の化学反応を考慮)を用いて評価し、 生物起源の CH4 フラックスによってどの程度の 大気 CH4 濃度が実現するのかを評価した。モデ ルの境界条件は地球内部からの還元物質(H2と Fe<sup>2+</sup>)の流入率と、太古代に想定される大気 CO<sub>2</sub> 濃度および太陽光度である。

典型的な計算結果を図 2 に示す。推定された大 気 H<sub>2</sub> 濃度は 54 ppmv であり、水素資化性光合成 細菌による NPP は 42 Tmol C yr<sup>-1</sup> である。一方、 鉄酸化光合成細菌の NPP は 20 Tmol C yr<sup>-1</sup> であ る。合計の NPP (62 Tmol C yr<sup>-1</sup>) は現在の値(約 9000 Tmol C yr<sup>-1</sup>) の 0.7%に過ぎず、エネルギー



## 図2 太古代の光合成生態系についての典型的な計 算結果<sup>33</sup>

地球内部からのH<sub>2</sub>、Fe<sup>2+</sup>の供給率をそれぞれ10.7 Tmol H<sub>2</sub> yr<sup>-1</sup>, 8 Tmol Fe yr<sup>-1</sup>とした場合の数値実験結 果<sup>34</sup>。矢印はフラックスを表している。大気中CO<sub>2</sub> 濃度は0.03 bar、太陽光度は現在の80%を仮定して いる。

フラックスの観点でみると当時の地球が吸収す る太陽の光エネルギーの約10万分の1である。 一方、温室効果気体である CH4 の大気中濃度は 790 ppmv に達しており、これは全球平均気温を 約10度上昇させるだけの温室効果をもっている。 すなわち、光合成細菌を基礎生産者とする原始的 な生態系の基礎生産は現在の生物圏に比べて非 常に小さいものの、当時の大気組成ひいては気候 状態に大きな影響力をもっていた可能性がある

(上記の結果は固体地球からの H<sub>2</sub>, Fe<sup>2+</sup>供給率や 有機物の埋没効率によって影響されるが、これら について系統的な感度実験を行った結果につい ては文献<sup>34</sup>を参照されたい)。このような結果は 大気-海洋一生態系間の生物地球化学的物質循 環を包括的に考慮して初めて得られた知見であ り、地球システム科学的アプローチが重要な意義 をもつ研究課題である。

太古代の嫌気性微生物生態系の活動レベルと 大気組成への影響は、初期地球環境のハビタビリ ティ(生命生存可能性)を考えるうえでも重要な 問題である。恒星進化の理論によれば、太古代の 太陽光度は現在より 20-30%ほど小さかったとさ れ<sup>43,44</sup>、そのような条件下で如何にして温暖な気 候が形成されていたのかという問題(暗い太陽の 問題)は、半世紀にわたって重要な未解明問題と なってきた<sup>45,46</sup>。当時の大気中に大量の CO<sub>2</sub> が含 まれていたというものが最も有力な説<sup>23,47</sup>であ るが、上記結果は生物起源の CH4 による温室効 果も初期地球の気候状態に重要な役割を果たし ていたとの仮説 40-42,48 を支持するものである。た だし、大気 CH4 濃度が高くなるほど炭素循環の 気候安定化作用 49 によって CO2 濃度が低下し、 CH4 による温室効果をバッファーすると考えら れる。また、大気中の CH<sub>4</sub>/CO<sub>2</sub> 比が 0.1-0.2 に達 するほど大きくなる場合には炭化水素のもや(へ イズ)が大気中に形成され50,51、寒冷化が引き起 こされると考えられる。これら炭素循環の応答ま で考慮した気候安定性の評価は今後の重要な研 究課題であるが、光合成細菌の進化によって地球 環境が大きく影響を受けた可能性が示された点 は重要な知見である。

## 4. 酸素収支

次に、酸素発生型光合成生物が出現してから GOE に至るまでの地球環境について考える(ス テージⅡ)。まず大気海洋系のO2収支についてま とめ(図3)、古原生代に生じた大気O2濃度の増 大イベント(GOE)が引き起こされる条件を考察



## 図3 大気海洋系のO2収支

地質学的時間スケールでの大気海洋系でのO2存在 量を規定しているフラックス。有機物と黄鉄鉱の 埋没に伴うO2生成フラックス(*J*bur)、水素散逸フ ラックス(*J*Hese)、地球内部から供給される還元ガ スの酸化と変成作用に伴う酸素消費フラックス (*J*red)、酸化風化フラックス(*J*w)。 する。

現在の地球上における O2 の究極的な供給源は 酸素発生型光合成である。しかしながら、地質学 的時間スケールを考えた場合、光合成速度そのも のを O<sub>2</sub>生成フラックスとして扱うことはできな い。なぜなら、光合成により生成された有機物の 大部分は短期間(<100年)に酸化分解(や好気 呼吸)を受け無機化され、光合成によって生成さ れた O<sub>2</sub>を消費するためである。この光合成と酸 化分解の一連の反応では正味で O2 収支に何の影 響も及ぼさない ( $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons CH_2O + O_2$ )。すな わち、地質学的時間スケールにおける O2 生成と は、酸素発生型光合成に由来する有機物がどれだ け酸化分解を免れ堆積物中に埋没するかで表さ れる(物理的に O2 から隔離されることで大気海 洋系に O<sub>2</sub>が残存する)。現在の地球上では生物生 産性の高い大陸縁辺部の湧昇域や大河川がつく るデルタなどが主な有機物埋没の場となってお り、総有機炭素埋没フラックスは約10TmolCyr <sup>1</sup>と推定されている <sup>52-54</sup>。すなわち、基礎生産で 生成される有機物の約 0.1%が再酸化を免れるこ とで正味の O2 生成が生じている。

このほか重要な O2 生成経路としては硫化鉄の 埋没がある。現在の海洋は高濃度の硫酸を含むた め、還元的環境(無酸素水塊中や堆積物中)で有 機物は硫酸還元によって無機化される。これによ り生成した H<sub>2</sub>S が好気的環境に流入すれば O<sub>2</sub> に よって酸化され正味 O2 収支には影響しないが、 一部が黄鉄鉱(FeS2)として沈殿することでH2S の酸化に消費されない分の O<sub>2</sub>が大気海洋系に残 存する。この経路による O2 生成フラックスは現 在の地球上で約2-3 Tmol O<sub>2</sub> yr<sup>-1</sup>程度と推定され ている 55-57。酸化還元収支の観点からみると有機 物や黄鉄鉱の埋没(Jbur)は大気海洋系からの還元 力の流出となっており、それに対応する O2 が残 存すると理解される。また、水素の宇宙空間への 散逸も還元力の流出となっており O2 生成過程で ある (J<sub>Hesc</sub>)。このプロセスは酸化的大気条件下で は無視できる(現在は約0.023 Tmol O<sub>2</sub> yr<sup>-1</sup>)<sup>58</sup>が、 先カンブリア代(特に GOE 以前)の貧・無酸素 大気では重要な O2 生成経路であったと考えられ る <sup>59</sup>。

一方、O<sub>2</sub>の消費プロセスとしては、火成活動に よって供給される還元ガスの酸化 (*J*<sub>red</sub>) や地殻中 の有機物や黄鉄鉱の酸化風化 (*J*<sub>w</sub>) が挙げられる。 酸化風化速度は大気 O<sub>2</sub> 濃度に依存し<sup>60</sup>、現在の 酸化的大気条件下では隆起速度の大きな地域を 除いてほぼ完全な酸化が生じている。

以上の O<sub>2</sub> 生成過程と消費過程を踏まえると、 地質学的時間スケールでの大気海洋系中の O<sub>2</sub> 量 を規定している質量収支方程式は以下のように 与えられる:

$$\frac{dM_{0_2}}{dt} = J_{\text{bur}} + J_{\text{Hesc}} - J_{\text{red}} - J_{\text{w}}.$$
 (1)

ここで*M*<sub>02</sub>は大気海洋系中のO<sub>2</sub>存在量を表す。 現在の*M*<sub>02</sub>は 38×10<sup>18</sup> mol であり、生成・消費フ ラックスはそれぞれ 12 Tmol O<sub>2</sub> yr<sup>-1</sup>程度である。 このことから平均滞留時間は約 3×10<sup>6</sup> 年と見積 もられる。すなわち、生成と消費の収支が崩れれ ば 100 万年スケールで O<sub>2</sub>濃度に変化が生じる(実 際、氷床コアの分析に基づくと、過去 80 万年間 において大気 O<sub>2</sub>濃度のわずかな減少傾向が認め られている<sup>61</sup>)。

上記の O<sub>2</sub> 収支に基づき、GOE の発生メカニズ ムについて考える。水素散逸(*J*<sub>Hese</sub>)は酸化的大 気では無視することができる一方、酸化風化(*J*<sub>w</sub>) は GOE 以前の還元的大気条件下で無視すること ができる。このことを考えると、酸化的大気形成 の閾値を示す指標として以下の *K*<sub>OXY</sub> を考えるこ とができる<sup>62,63</sup>:

$$K_{\text{OXY}} \equiv \frac{J_{\text{bur}}}{J_{\text{red}}}.$$
 (2)

 $K_{OXY} < 1$ の場合、有機物や黄鉄鉱の埋没による O<sub>2</sub>生成率を還元ガスの酸化による消費率が上 回っており、水素散逸で O<sub>2</sub>収支がバランスする ような濃度まで H<sub>2</sub>や CH<sub>4</sub>などの還元気体が大気 中に蓄積する還元的大気となる。一方、 $K_{OXY} > 1$ の場合は有機物や黄鉄鉱の埋没による O<sub>2</sub>生成が 消費を上回っており、余剰 O<sub>2</sub>フラックスが酸化 風化フラックスとバランスする状況になるまで 大気 O<sub>2</sub>濃度が蓄積した酸化的大気となる。

以上の動的平衡の理論的枠組みに基づくと、酸 素発生型光合成生物が存在していたとしても必 ずしも大気が酸化的状態になるわけではなく、大 気の酸化還元状態はあくまで O<sub>2</sub>生成と消費のバ ランスで決まっていることがわかる。たとえ酸素 発生型光合成生物が活動していたとしても、Koxy が<1 である限りは還元的大気が維持され、酸化 的大気への移行には酸素発生型光合成の活動レ ベルが増大 (*J*bur が増加)するか<sup>64</sup>、地球内部か ら供給される還元物質の量や還元力が弱まる (*J*red が減少)<sup>65-67</sup>必要がある。これらがどの程度 の影響を及ぼして GOE の発生に至ったのかにつ いてはよく分かっていない。

ここでは、酸素発生型光合成生物の活動が光合 成細菌との栄養塩利用に関する競合によって抑 制されていたために GOE の発生が妨げられてい た可能性を指摘した研究成果 <sup>68</sup> を紹介する。現在 の黒海などの還元的海洋環境では、有光層内の酸 化還元境界において光合成細菌と酸素発生型光 合成生物が水深方向に棲み分けている様子が観 察される。重要なことに、光合成細菌はより還元 的な有光層深部に生息するため深層から湧昇す るリン (P) などの必須栄養素を酸素発生型光合 成生物よりも優先的に利用することができる。こ こで基礎生産者の炭素(C)とPの組成比として レッドフィールド比 C:P=106:1 を仮定した場合、 鉄酸化光合成細菌が P に対し必要とする Fe の量 比は 424 (= 4×106) となる (4Fe<sup>2+</sup> + 11H<sub>2</sub>0 +  $CO_2 + h\nu \rightarrow 4Fe(OH)_3 + CH_2O + 8H^+)_{\circ}$  このこと から、深層水の Fe/P 比が 424 を上回っているか どうかで鉄酸化光合成細菌の活動を律速する栄 養素が変化すると予想される(図 4)。具体的に は、Fe/P>424の場合、鉄酸化光合成細菌の活動 は P に律速され、すべての P が鉄酸化光合成細 菌に利用される。そのため、空間的上位に棲息す る酸素発生型光合成は P を利用できず活動が抑 制されると考えられる。逆にFe/P<424であれば、 鉄酸化光合成細菌の活動は Fe に律速されること になり、余分なPは酸素発生型光合成の活動に利 用できるはずである。実際に海洋生態系モデルを 用いた数値実験でもそのような応答が生じるこ とが示されている<sup>68</sup>。すなわち、酸素発生型光合 成生物が出現した後も、海洋深層水の Fe/P が高 かったためにO2生成が抑制され、GOE に至らな



図4. 深層水のFe/P比と酸素発生型光合成の基礎 生産への寄与についての概念図

OP、APはそれぞれ酸素発生型光合成細菌、鉄酸化 光合成細菌を表す。有光層に湧昇する深層水の Fe/P比が424より大きい場合、鉄酸化光合成細菌の 活動はPによって律速される。

かったのかもしれない。この仮説を検証するため には当時の海洋深層水の Fe/P を明らかにする必 要があり、今後の地球化学的研究に期待したい。

## 5. ヒューロニアン氷河時代と大酸化イベント

上述の通り、GOE の発生には何らかの理由で Koxy が 1 を上回る必要があるが、実際にどのタ イミングで酸化的大気への移行が生じたのかに ついてはよく分かっていない。ここでは GOE が 発生したと考えられる古原生代の地球環境変動 について、最近の研究動向を紹介する。

古原生代は北米、南アフリカ、オーストラリア、 北欧などに氷河堆積物が見つかっており、これま での地質対比に基づくと3回ないしは4回の氷 河時代が存在することが知られている<sup>69-71</sup>(図5)。 これら一連の氷河時代をまとめてヒューロニア ン氷河時代と呼ぶ。Warkeら<sup>29</sup>はフェノスカンジ アの掘削コア試料の分析を行い、最初の氷河時代 より下位の層準(約24.5億年前)でS-MIFが消 失することを報告している。このことから、GOE はヒューロニアン氷河時代の前に開始したと考 えられる。しかしながら、最初の氷河時代の後に もS-MIFの出現と消失が繰り返し認められるた め、ヒューロニアン氷河時代を通じて大気O2濃 度の増減が繰り返したものと考えられる。これま での研究によりS-MIFが完全に消失し酸化的大

気環境へと移行した時期として最も有力視され ているのは3回目の氷河時代(南アのトランス バール累層群 Rooihoogte 層に対応;図5のRo) の直後(約23.2億年前)である。Luoら<sup>72</sup>は、南 アのボーリングコア試料から氷河堆積物の直上 で S-MIF が消失し、さらにその上位の層準で黄 鉄鉱の硫黄安定同位体比(δ<sup>34</sup>S)が著しい負異常 (<-20‰)を示すことを報告した。これらは大気 海洋環境が酸化的状態に変化したことを示す地 質記録である。しかしながら、最近、Poulton ら<sup>73</sup> は同じく南アのボーリングコアの分析によって Rooihoogte 層よりも上位の層準で S-MIF が散発 的に認められることを報告し、酸化的大気への移 行が約22億年前まで遅れていたと議論している。 しかし、さらにその後に報告された Izon ら<sup>74</sup>に よる別のコア試料の分析結果では S-MIF のシグ ナルは検出されていない。理論研究 75 によれば、 大気 O2 濃度が S-MIF を形成しなくなるほど高く なった後も、S-MIF が完全に地質記録から消失す るのに1億年程度の時間を要することが明らか にされている。そのため、Poulton らのデータが 本当に堆積時の大気 O2 濃度の情報を示している のか、それともそれ以前の S-MIF を保持した硫 黄が削剝などの物理的プロセスによって混入し ただけなのか、検証が必要と思われる。すなわち、

酸化的大気への最終的な移行については、3回目 の氷河時代直後に生じたのか、それともそれから 1億年程度後の時代に生じたのか、現段階では不 明ある<sup>73,74,76</sup>。S-MIFの記録だけでこの問題を解 決することは難しく、別の地質記録に基づく検証 や理論モデルによる定量的評価が必要である。

最後に、GOE と全球凍結現象の関係について 紹介する。南アの氷河堆積物 (Makganyene 層; 図5のM)は、その直上にある Ongeluk 火山岩の 古緯度が11±5°と低緯度を示す77ことから全球 凍結現象であったと考えられている。従来、これ は3回目の氷河時代(北米ヒューロニアン累層群 の Gowganda 層;図5のG) に対比され、全球凍 結現象後に酸化的大気へと移行した可能性が議 論されてきた <sup>78,79</sup>。しかしながら、Gumsley ら<sup>71</sup> によって Ongeluk 火山岩の U-Pb 年代が 24.26 億 年前と報告されたことで、最初の氷河時代 (ヒューロニアン累層群の Ramsay Lake 層;図5 のRL)に対応するものと考えられるようになっ た。これが正しければ、最初の氷河時代が全球凍 結現象であったことになり、全球凍結現象後に酸 化的大気へと移行したという仮説は修正が必要 と思われる。一方、最初の氷河時代の直前に S-MIF が消失している<sup>29</sup>ことから、大気 O2 濃度の 一時的上昇の後に全球凍結現象が発生したとの



## 図5. ヒューロニアン氷河時代における地質対比と大気O2濃度に関する地質記録<sup>69-71</sup>

3回ないし4回の氷河期(青縦線)が生じたと考えられている。ヒューロニアン氷河時代の直前から3回目の氷 河期にかけて散発的にS-MIFの消失が認められる。その後はS-MIFが消失する傾向にあるが、22.2億年前までS-MIFのシグナルが認められるとの報告がある<sup>73</sup>。ただしその解釈は議論の的となっている<sup>74</sup>。その他、酸素に乏 しい大気環境を示唆する砕屑性の黄鉄鉱やウラン鉱が認められる時代と、酸化的大気環境を示唆する赤色砂 岩が認められるおおよその時代が示されている。 解釈は可能である。理論モデルによれば<sup>63,80</sup>、 K<sub>OXY</sub>が1を超えると大気O2濃度の上昇とそれに 伴う CH4 濃度の低下は地質学的には速やかに (<10万年)生じる。炭素循環の気候安定化作用 <sup>49</sup>の応答時間は数十万年であるため、CH4濃度の 低下によって引き起こされる寒冷化をバッ ファーすることは難しい。そのため、GOEの開 始によって寒冷化が生じたという解釈は理論的 にも調和的である。今後、地質記録による検証が 望まれる。

## 6. おわりに

本稿では,光合成の進化と地球環境の間の相互 作用について最近の研究動向を交えて紹介した。 光合成が地球環境に与えた影響は古くから議論 されてきたテーマである 6,20 が、現在も第一級の 研究課題となっている。直接復元することのでき ない地質時代の大気組成を間接的な地質記録か ら推定するために様々な研究手法が考案されて いるが、大気 O2 濃度の変遷史には依然として オーダーレベルの不確定性が残っており(図1)、 大気 CH4 濃度に至っては制約がほとんどできて いない。これら大気組成の変遷についてメカニズ ムに基づく理解もまだ不十分である。また、本稿 では紙面の都合上触れていないが、GOE 後も長 く貧酸素な地球環境が持続した理由や、新原生代 の酸化イベントの原因や物質循環動態なども重 要な未解明問題である。今後、より高い精度で大 気組成を復元する研究手法の開発や理論モデル を用いた評価、およびそれらの両輪でこれら問題 に取り組む必要がある。

光合成の進化は大気組成や気候状態、そして水 圏の化学状態や物質循環を大きく変化させてき た。光合成が地球環境に及ぼした影響を理解する ことは、生命の星としての地球進化を理解するこ とにつながる。この問題解決には地質学一地球化 学ー微生物生態学ー地球システム科学の垣根を 超えた学際的な研究を推進することが重要であ ると考える。

## 謝辞

本稿は、第12回日本光合成学会でのシンポジ

ウム「光合成の誕生・進化・退化」で行った講演 に基づき、その後の最近の研究の内容を加えてま とめたものです。執筆の機会を頂いた宗景ゆり先 生、増田真二先生をはじめ編集委員の先生方に感 謝いたします。また、匿名の査読者の方からは有 益なご指摘を頂きました。なお、この研究の一部 は JSPS 科研費(22H05150)、住友財団基礎科学 研究助成(181028)、三菱財団自然科学研究助成 (202210014)のサポートを受けたものです。こ こに記して謝意を表します。

Received Oct 30, 2022; Accepted Nov 19, 2022; Published Dec 31, 2022

## 参考文献

- Forster, P. *et al.* The Earth's Energy Budget, Climate Feedbacks, and Climate Sensitivity. 923-1054 (Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2021).
- Prentice, I. C. *et al.* in *Climate Change 2001: the Scientific Basis* (eds J. T. Houghton *et al.*) Ch. 183-238, (Cambridge University Press, 2001).
- Woodward, F. I. Global primary production. *Current Biology* 17, R269-R273 (2007).
- 4. Berner, R. A. *The Phanerozoic Carbon Cycle: CO*<sub>2</sub> *and O*<sub>2</sub>. (Oxford University Press, 2004).
- Lenton, T. M. Gaia and natural selection. *Nature* 394, 439-447 (1998).
- Berkner, L. V. & Marshall, L. C. On the Origin and Rise of Oxygen Concentration in the Earth's Atmosphere. *Journal of Atmospheric Sciences* 22, 225-261 (1965).
- Anbar, A. D. & Knoll, A. H. Proterozoic Ocean Chemistry and Evolution: A Bioinorganic Bridge? *Science* 297, 1137-1142 (2002).
- Sarmiento, J. L. & Gruber, N. Ocean biogeochemical dynamics. pp. 503 (Princeton University Press, 2006).
- Lenton, T. M. *et al.* Earliest land plants created modern levels of atmospheric oxygen. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113, 9704-9709 (2016).
- 10. Dahl, T. W. *et al.* Devonian rise in atmospheric oxygen correlated to the radiations of terrestrial

plants and large predatory fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**, 17911-17915 (2010).

- Stolper, D. A. & Keller, C. B. A record of deepocean dissolved O<sub>2</sub> from the oxidation state of iron in submarine basalts. *Nature* 553, 323-327 (2018).
- 12. Lyons, T. W., Reinhard, C. T. & Planavsky, N. J. The rise of oxygen in Earth/'s early ocean and atmosphere. *Nature* **506**, 307-315 (2014).
- Sperling, E. A. *et al.* Statistical analysis of iron geochemical data suggests limited late Proterozoic oxygenation. *Nature* 523, 451-454 (2015).
- Sperling, E. A. *et al.* A long-term record of early to mid-Paleozoic marine redox change. *Science Advances* 7, eabf4382
- 15. Lu, W. *et al.* Late inception of a resiliently oxygenated upper ocean. *Science* **361**, 174-177 (2018).
- Poulton, S. W. & Canfield, D. E. Ferruginous Conditions: A Dominant Feature of the Ocean through Earth's History. *Elements* 7, 107-112 (2011).
- Reinhard, C. T. *et al.* Proterozoic ocean redox and biogeochemical stasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110, 5357-5362 (2013).
- Kasting, J. F., Pollack, J. B. & Crisp, D. Effects of high CO2 levels on surface temperature and atmospheric oxidation state of the early Earth. *Journal of Atmospheric Chemistry* 1, 403-428
- Farquhar, J. Atmospheric Influence of Earth's Earliest Sulfur Cycle. *Science* 289, 756-758 (2000).
- 20. Cloud, P. A working model of the primitive Earth. *American Journal of Science* **272**, 537 (1972).
- Pavlov, A. A. & Kasting, J. F. Mass-Independent Fractionation of Sulfur Isotopes in Archean Sediments: Strong Evidence for an Anoxic Archean Atmosphere. *Astrobiology* 2, 27-41 (2002).
- 22. Zahnle, K., Claire, M. & Catling, D. The loss of mass-independent fractionation in sulfur due to a Palaeoproterozoic collapse of atmospheric methane. *Geobiology* **4**, 271-283 (2006).
- 23. Kasting, J. F. Earth's early atmosphere. *Science* **259**, 920-926 (1993).
- 24. Lalonde, S. V. & Konhauser, K. O. Benthic

perspective on Earth' s oldest evidence for oxygenic photosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**, 995-1000 (2015).

- Olson, S. L., Kump, L. R. & Kasting, J. F. Quantifying the areal extent and dissolved oxygen concentrations of Archean oxygen oases. *Chemical Geology* 362, 35-43 (2013).
- 26. Holland, H. D. Volcanic gases, black smokers, and the great oxidation event. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66, 3811-3826 (2002).
- ekker, A. & Holland, H. D. Oxygen overshoot and recovery during the early Paleoproterozoic. *Earth and Planetary Science Letters* 317–318, 295-304 (2012).
- Jenkyns, H. C. Geochemistry of oceanic anoxic events. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* 11 (2010).
- Warke, M. R. *et al.* The Great Oxidation Event preceded a Paleoproterozoic "snowball Earth". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117, 13314-13320 (2020).
- Crowe, S. A. *et al.* Atmospheric oxygenation three billion years ago. *Nature* 501, 535-538 (2013).
- Planavsky, N. J. *et al.* Evidence for oxygenic photosynthesis half a billion years before the Great Oxidation Event. *Nature Geoscience* 7, 283-286 (2014).
- Ostrander, C. M., Johnson, A. C. & Anbar, A. D. Earth's First Redox Revolution. *Annual Review* of Earth and Planetary Sciences 49, 337-366 (2021).
- Slotznick, S. P. *et al.* Reexamination of 2.5-Ga "whiff" of oxygen interval points to anoxic ocean before GOE. *Science Advances* 8, eabj7190
- Ozaki, K., Tajika, E., Hong, P. K., Nakagawa, Y. & Reinhard, C. T. Effects of primitive photosynthesis on Earth's early climate system. *Nat. Geosci.* 11, 55-59 (2018).
- 35. Olson, J. M. & Pierson, B. K. Photosynthesis 3.5 thousand million years ago. *Photosynthesis research* 9, 251-259 (1986).
- Hohmann-Marriott, M. F. & Blankenship, R. E. Evolution of Photosynthesis. *Annual Review of Plant Biology* 62, 515-548 (2011).
- Canfield, D. E., Rosing, M. T. & Bjerrum, C. Early anaerobic metabolisms. *Phil. Trans. R. Soc. B* 361, 1819-1836 (2006).

- 38. Kharecha, P., Kasting, J. & Siefert, J. A coupled atmosphere–ecosystem model of the early Archean Earth. *Geobiology* **3**, 53-76 (2005).
- 39. Des Marais, D. J. When Did Photosynthesis Emerge on Earth? *Science* **289**, 1703-1705 (2000).
- Haqq-Misra, J. D., Domagal-Goldman, S. D., Kasting, P. J. & Kasting, J. F. A Revised, Hazy Methane Greenhouse for the Archean Earth. *Astrobiology* 8, 1127-1137 (2008).
- Kiehl, J. T. & Dickinson, R. E. A study of the radiative effects of enhanced atmospheric CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> on early Earth surface temperatures. *J. Geophys. Res.* 92, 2991-2998 (1987).
- Pavlov, A. A., Brown, L. L. & Kasting, J. F. UV shielding of NH<sub>3</sub> and O<sub>2</sub> by organic hazes in the Archean atmosphere. *J. Geophys. Res.* 106, 23267-23287 (2001).
- Bahcall, N. J., Pinsonneault, M. H. & Basu, S. Solar Models: Current Epoch and Time Dependences, Neutrinos, and Helioseismological Properties. *Astrophys. J.* 555, 990 (2001).
- 44. Gough, D. O. Solar interior structure and luminosity variations. *Sol. Phys.* **74**, 21-34 (1981).
- 45. Sagan, C. & Mullen, G. Earth and Mars: Evolution of Atmospheres and Surface Temperatures. *Science* **177**, 52-56 (1972).
- 46. Feulner, G. The faint young Sun problem. *Reviews of Geophysics* **50**, RG2006 (2012).
- Kasting, J. F. Theoretical constraints on oxygen and carbon dioxide concentrations in the Precambrian atmosphere. *Precambrian Res.* 34, 205-229 (1987).
- 48. Kasting, J. F. & Siefert, J. L. Life and the Evolution of Earth's Atmosphere. *Science* **296**, 1066-1068 (2002).
- Walker, J. C. G., Hays, P. B. & Kasting, J. F. A negative feedback mechanism for the long-term stabilization of Earth's surface temperature. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 86, 9776-9782 (1981).
- 50. Trainer, M. G. *et al.* Haze Aerosols in the Atmosphere of Early Earth: Manna from Heaven. *Astrobiology* **4**, 409-419 (2004).
- 51. Arney, G. *et al.* The Pale Orange Dot: The Spectrum and Habitability of Hazy Archean Earth. *Astrobiology* **16**, 873-899 (2016).

- Berner, R. A. Burial of organic carbon and pyrite sulfur in the modern ocean; its geochemical and environmental significance. *American Journal of Science* 282, 451-473 (1982).
- 53. Wallmann, K. *et al.* The Global Inventory of Methane Hydrate in Marine Sediments: A Theoretical Approach. *Energies* **5**, 2449 (2012).
- 54. Burdige, D. J. Burial of terrestrial organic matter in marine sediments: A re-assessment. *Global Biogeochemical Cycles* **19** (2005).
- Ozaki, K., Cole, D. B., Reinhard, C. T. & Tajika, E. CANOPS-GRB v1.0: a new Earth system model for simulating the evolution of ocean– atmosphere chemistry over geologic timescales. *Geosci. Model Dev.* 15, 7593-7639 (2022).
- Markovic, S., Paytan, A. & Wortmann, U. G. Pleistocene sediment offloading and the global sulfur cycle. *Biogeosciences Discussions* 12, 1205-1245 (2015).
- 57. Berner, E. K. & Berner, R. A. *Global environment : water, air, and geochemical cycles.* (Princeton University Press, 2012).
- Catling, D. C. in *Treatise on Geochemistry* (Second Edition) (eds Heinrich D. Holland & Karl K. Turekian) 177-195 (Elsevier, 2014).
- Catling, D. C., Zahnle, K. J. & McKay, C. Biogenic methane, hydrogen escape, and the irreversible oxidation of early Earth. *Science* 293, 839-843 (2001).
- Bolton, E. W., Berner, R. A. & Petsch, S. T. The Weathering of Sedimentary Organic Matter as a Control on Atmospheric O2: II. Theoretical Modeling. *American Journal of Science* 306, 575-615 (2006).
- Stolper, D. A., Bender, M. L., Dreyfus, G. B., Yan, Y. & Higgins, J. A. A Pleistocene ice core record of atmospheric O2 concentrations. *Science* 353, 1427-1430 (2016).
- Catling, D. C. & Claire, M. W. How Earth's atmosphere evolved to an oxic state: A status report. *Earth and Planetary Science Letters* 237, 1-20 (2005).
- Claire, M. W., Catling, D. C. & Zahnle, K. J. Biogeochemical modelling of the rise in atmospheric oxygen. *Geobiology* 4, 239-269 (2006).
- Alcott, L. J., Mills, B. J. W., Bekker, A. & Poulton, S. W. Earth's Great Oxidation Event facilitated by the rise of sedimentary phosphorus

recycling. *Nature Geoscience* **15**, 210-215 (2022).

- Kump, L. R. & Barley, M. E. Increased subaerial volcanism and the rise of atmospheric oxygen 2.5 billion years ago. *Nature* 448, 1033-1036 (2007).
- 66. Kadoya, S., Catling, D. C., Nicklas, R. W., Puchtel, I. S. & Anbar, A. D. Mantle data imply a decline of oxidizable volcanic gases could have triggered the Great Oxidation. *Nature Communications* 11, 2774 (2020).
- Gaillard, F., Scaillet, B. & Arndt, N. T. Atmospheric oxygenation caused by a change in volcanic degassing pressure. *Nature* 478, 229-232 (2011).
- Ozaki, K., Thompson, K. J., Simister, R. L., Crowe, S. A. & Reinhard, C. T. Anoxygenic photosynthesis and the delayed oxygenation of Earth's atmosphere. *Nature Communications* 10, 3026 (2019).
- Wang, S.-J., Rudnick, R. L., Gaschnig, R. M., Wang, H. & Wasylenki, L. E. Methanogenesis sustained by sulfide weathering during the Great Oxidation Event. *Nature Geoscience* 12, 296-300 (2019).
- 70. Bekker, A., Krapež, B. & Karhu, J. A. Correlation of the stratigraphic cover of the Pilbara and Kaapvaal cratons recording the lead up to Paleoproterozoic Icehouse and the GOE. *Earth-Science Reviews* 211, 103389 (2020).
- Gumsley, A. P. *et al.* Timing and tempo of the Great Oxidation Event. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **114**, 1811-1816 (2017).
- 72. Luo, G. *et al.* Rapid oxygenation of Earth's atmosphere 2.33 billion years ago. *Science Advances* **2**, e1600134 (2016).
- 73. Poulton, S. W. et al. A 200-million-year delay in

permanent atmospheric oxygenation. *Nature* **592**, 232-236 (2021).

- Izon, G. *et al.* Bulk and grain-scale minor sulfur isotope data reveal complexities in the dynamics of Earth's oxygenation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119, e2025606119 (2022).
- 75. Reinhard, C. T., Planavsky, N. J. & Lyons, T. W. Long-term sedimentary recycling of rare sulphur isotope anomalies. *Nature* **497**, 100-103 (2013).
- Luo, G., Zhu, X., Wang, S., Zhang, S. & Jiao, C. Mechanisms and climatic-ecological effects of the Great Oxidation Event in the early Proterozoic. *Science China Earth Sciences* 65, 1646-1672 (2022).
- Evans, D. A., Beukes, N. J. & Kirschvink, J. L. Low-latitude glaciation in the Palaeoproterozoic era. *Nature* 386, 262-266 (1997).
- Harada, M., Tajika, E. & Sekine, Y. Transition to an oxygen-rich atmosphere with an extensive overshoot triggered by the Paleoproterozoic snowball Earth. *Earth and Planetary Science Letters* 419, 178-186 (2015).
- 79. Kirschvink, J. L. *et al.* Paleoproterozoic snowball Earth: Extreme climatic and geochemical global change and its biological consequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97, 1400-1405 (2000).
- Wogan, N. F., Catling, D. C., Zahnle, K. J. & Claire, M. W. Rapid timescale for an oxic transition during the Great Oxidation Event and the instability of low atmospheric O2. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119, e2205618119 (2022).

# Impacts of the evolution of photosynthesis on Earth's environment

Kazumi Ozaki

## Department of Earth and Planetary Sciences, Tokyo Institute of Technology

# 解説

# 光化学系Ⅱにおける翻訳後アミノ酸変換と光合成酸素発生の起源<sup>‡</sup>

名古屋大学 理学研究科

野口 巧\*

約24億年前に地球大気の酸素濃度が急上昇した「大酸化イベント」は、シアノバクテリアによる酸素 発生が主な原因であると考えられている。しかし、その数億年前から酸素の存在を示す痕跡が見出さ れており、光合成酸素発生がいつ、そして如何にして始まったのかは、大きな謎として残されている。 筆者らは、シアノバクテリアの光化学系IIにおいて Mn クラスターのカルボキシレート配位子の変異 アミノ酸が、翻訳後にタンパク質レベルで本来のアミノ酸に変換され、酸素発生能が回復する現象を 見出した。そして、この翻訳後アミノ酸変換が、酸素発生の起源と進化に重要な役割を果たしたという 仮説を提唱した。本稿では、この光化学系IIのアミノ酸変換現象と酸素発生の起源について解説する。

## 1. はじめに

約24億年前のいわゆる「大酸化イベント」は、 本来還元的であった地球大気の酸素濃度を急上 昇させ、酸化的大気を形成した(図1)<sup>1</sup>。それに より、酸素呼吸生命が進化し、その後の生命のさ らなる進化と繁栄がもたらされた。この大酸化イ ベントは、シアノバクテリアの酸素発生型光合成 による酸素放出が主な原因であると一般的に考 えられている。よって、水を電子供与体とする酸 素発生型光合成の完成は、水と二酸化炭素から光 エネルギーを用いて有機物を合成するという、生 命のエネルギー獲得手段の確立に加え、地球と生 命の共進化の方向性を決定づけたターニングポ イントであったといえる。

光合成酸素発生が実際にいつ始まったかについては、これまでに様々な説が提唱されてきた<sup>2-6</sup>。大酸化イベント以前には、硫化水素や水素を電子供与体として用いる酸素非発生型光合成が主



図1. 地球大気の酸素濃度の変遷と生命の進化

\*解説特集「光合成の誕生・進化・退化」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: tnoguchi@bio.phys.nagoya-u.ac.jp

に行われており、大酸化イベントの直前に、シア ノバクテリアが水を用いる酸素発生型光合成を 進化させたというシナリオはわかりやすい。しか し、大酸化イベントの数億年前から地球上に酸素 が存在していた様々な痕跡が見出されており 2,3,7、 また、系統解析により、酸素呼吸や酸素利用タン パク質は大酸化イベントよりもかなり前に進化 した可能性が示唆されている<sup>8,9</sup>。さらに、酸素発 生を担う光化学系II (PSII)の反応中心タンパク 質(D1・D2 タンパク質)の系統解析から、D1・ D2 タンパク質に分岐する以前のホモダイマー反 応中心において既に水分解が行われていたとの 推測もなされている 5.6。よって、光合成の進化の かなり初期段階から、酸素発生が行われていた可 能性がある<sup>6</sup>。酸素発生反応の触媒中心である Mn クラスターが進化の過程で如何にして形成され たかについても、様々な仮説が提唱されているが 10-12、ゲノム上に進化過程を示す痕跡が残されて おらず、依然ほとんど謎であるといってよい。

一方、光合成酸素発生のメカニズムは、PSIIの 高分解能X線結晶解析<sup>13-16</sup>などにより次第に明 らかになりつつあるが、未だその全貌は解明され ていない。筆者らは、最近、シアノバクテリアの 変異体を用いた酸素発生機構の研究の過程で、 Mn クラスターのアミノ酸配位子の変異体が、翻 訳後にタンパク質レベルでアミノ酸変換を起こ し、酸素発生能を回復するという新奇な現象を見 出した<sup>17,18</sup>。さらに、この現象に基づいて、翻訳 後アミノ酸変換が光合成酸素発生の起源と進化 に関与するという全く新たな仮説を提唱した<sup>18</sup>。 本稿では、この翻訳後アミノ酸変換現象の発見と、 酸素発生の起源および進化についての仮説を解 説する。

## 2. 光化学系IIにおける水分解・酸素発生反応

光合成における水分解・酸素発生反応を担う酸 素発生系は、PSIIの電子供与体側に存在する(図 2a)<sup>19,20</sup>。酸素発生系の触媒中心は、4つの Mn イ オン (Mn1–Mn4) と1つの  $Ca^{2+}$ が5つの酸素原 子で架橋された Mn<sub>4</sub>CaO<sub>5</sub>構造を持つ Mn クラス ターであり、D1 タンパク質または CP43 タンパ ク質由来の6つのカルボキシレート配位子(D1-D170, E189, E333, D342, A344(C末端), CP43-E354) および一つのヒスチジン配位子 (D1-H332) を介 してタンパク質に固定されている(図 2b)<sup>13,14</sup>。 水分解反応  $(2H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-)$  は、S 状態 と呼ばれる5つの中間状態  $(S_0-S_4)$  の光駆動サイ クルによって行われる(図2c)。光誘起電荷分離 によって生成した二量体クロロフィル P680 のラ ジカルカチオンは、チロシン Yz(D1-Y161)を酸化 し、Yzはプロトンを放出して中性ラジカル Yzと なる。 $Y_z$ は Mn クラスターを酸化し、 $S_n$ 状態(n



#### 図2. 光化学系Ⅱにおける酸素発生系の構造と反応

(a) 光化学系IIの電子伝達鎖、(b) 酸素発生系と電子受容体Yzの構造、(c) 酸素発生S状態サイクル。

= 0-3)を  $S_{n+1}$ 状態へと遷移させる。最も酸化数 の高い S4 状態は過渡的な中間状態であり、酸素 分子を放出して So 状態に緩和する。So 状態から 1 電子酸化された S<sub>1</sub>状態が暗中で最も安定であ り、閃光照射によって水分解反応を進めると、3 閃光目で最初に酸素が放出され、その後は4 閃光 ごとに酸素が放出される。4つの Mn イオンは基 本的に3価または4価の間で変化し、S1状態で は(Mn1, Mn2, Mn3, Mn4 = +3, +4, +4, +3)であると 考えられている。S<sub>3</sub>状態において、1分子の水が Mn1 に挿入されることが自由電子レーザーを用 いたX線結晶解析により示されたが<sup>15,16</sup>、各中間 状態のプロトン化構造は未だ明らかとなってい ない。Mn クラスターの特徴は、その配位子がほ とんどカルボキシル基よりなることである。これ は、Mn や Ca 間の架橋形成という構造的役割に 加え、カルボキシル基が持つ負電荷によって Mn クラスターの酸化還元電位を下げ、Yz・への電子 移動を容易にする役割がある。

Mn クラスターは、PSII 複合体の形成時には存 在しておらず、そのアポ PSII への光照射による 「光活性化」を経て構築される<sup>21,22</sup>。光活性化の 初期過程では、光誘起電子移動による Mn<sup>2+</sup>の酸 化とそれに続く暗過程、さらに 2 つ目の Mn<sup>2+</sup>の 光誘起酸化を経て、比較的安定な中間体(恐らく 2核 Mn 錯体) が形成されることが知られていた。 最近のアポ PSII のクライオ電子顕微鏡(EM)解析 <sup>23,24</sup> とそれに基づく量子化学計算<sup>22</sup> から、最初の Mn<sup>2+</sup>は D1-D170 と D1-E189 に結合することが示 された。また、アポ PSII は、D1 タンパク質の C 末端領域がゆるんだ構造を取っていることがク ライオ EM 解析により示され<sup>23-25</sup>、最初の Mn<sup>2+</sup> の光酸化後の暗過程は、この D1 の C 末端ポリペ プチドのコンフォメーション変化、および Mn<sup>3+</sup> の移動と新たな Mn<sup>2+</sup>の結合の一連の過程である ことが推測された22。さらに、高速原子間力顕微 鏡解析によって、CP43 タンパク質のルーメン側 ドメインの構造ゆらぎが直接的に観測され<sup>26</sup>、こ れが、D1 タンパク質のコンフォメーション変化 を促進すると考えられた。

酸素発生系を含む PSIIコアタンパク質の構造 は、ルーメン側に結合する表在性タンパク質を除 いて、現存するすべての酸素発生型光合成生物の 間で基本的に同一であり、シアノバクテリアにお いて酸素発生系の構造および反応は既に完成さ れていたと考えられる。シアノバクテリアのゲノ ムには、酸素発生活性を持つ D1 タンパク質とは 異なる、酸素発生能のないアイソフォームが存在 する場合があるが、系統解析から、これらは、酸 素発生型 D1 タンパク質から派生したものである ことが示されている 6。よって、現存するシアノ バクテリアには、酸素発生系の進化を示す祖先型 D1 タンパク質の遺伝子は残っていないと思われ る。また、近年、シアノバクテリアの姉妹群のゲ ノムには光合成遺伝子が存在しないことが示さ れ、シアノバクテリアは、水平伝播によって光合 成遺伝子を獲得した可能性が示唆されている 27。 したがって、シアノバクテリアの進化過程は必ず しも酸素発生の進化を反映しておらず、酸素発生 の起源を考えるためには、PSIIタンパク質、特に D1 タンパク質の進化そのものに注目する必要が ある。

## 3. Mn クラスター配位子の翻訳後アミノ酸変換

筆者らは、光誘起フーリエ変換赤外(FTIR)差 分光法を主な解析手法として用い、酸素発生系の 構造および反応機構を解明する研究を行ってき た<sup>28</sup>。この手法では、S 状態遷移に伴う微小な赤 外吸収変化を検出することにより、酸素発生系に おける水分子やアミノ酸の反応を追跡すること ができる。Mn クラスターのアミノ酸配位子の役 割を調べるため、シアノバクテリア Synechocystis sp. PCC 6803 においてそれらの変異体を作製し、 FTIR 解析を行った。まず、Mn4 と Ca を架橋す る D1-D170 を His に改変した D1-D170H 変異体 について、1 閃光照射による S1→S2 遷移の際の FTIR 差スペクトルを測定した (図 3A)。しかし、 得られたスペクトルの形状は野生型のものと全 く同一であった<sup>17</sup>。これは、Debus らが以前報告 した結果<sup>29</sup>を再現するものであった。FTIR 差分 光法は、非常に感度が高く、特にカルボキシル基 は強い赤外強度を示すため、その極めて微小な構 造変化をも検出することができる。よって、D1-D170H 変異体の PSII が野生型のものと同じ FTIR



図3. D1-D170H変異体のFTIRおよびLC-MS解析 Synechocystis sp. PCC 6803の野生株およびD1-

D170H変異体から調製したPSIIの(A)S1→S2遷移 のFTIR差スペクトル、および(B)D1タンパク質の D170位アミノ酸を含むフラグメントのMSクロマ トグラム(左)とMSスペクトル(右)。

スペクトルを示したことは、変異導入された His が何らかの理由で野生型の Asp に戻ったことを 示している。しかしながら、D1-D170H 変異体の DNA 解析では、変異体の D1 遺伝子 (*psbA2*)の みが検出され、野生型のものは一切検出されな かった。

そこで、液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS)を用いて、PSII 試料中の D1 タンパク 質のアミノ酸配列を直接調べた(理化学研究所と の共同研究)。D1-D170H 変異体の D1 タンパク質 の 170 位のアミノ酸を同定すると、His は 23%に とどまり、およそ 70%が Asp に変換されており、 さらに微量(7%)の Asn も検出された(図 3B) <sup>17</sup>。この結果から、タンパク質レベルでは、確か に変異体の His が主に野生型の Asp に変換され たことが確認された。

DNA レベルでの変換が検出できなかったこと から、D1-170 位の His から Asp/Asn への変換は、 転写後に RNA レベル、または翻訳後にタンパク 質レベルで起こると考えられた。しかし、D1-D170H 細胞から抽出した RNA の解析では、変異 体の配列のみが検出され、野生型のものは検出さ れなかった。そこで、タンパク質レベルでのアミ ノ酸変換を確認するため、<sup>13</sup>C 同位体ラベルした <sup>13</sup>C-His を加えた培地中で D1-H170H 細胞 (His 耐 性株)を培養することによって、PSIIの His 残基 に<sup>13</sup>C 置換を施し、D1-170 位で His から変換され た Asp/Asn に <sup>13</sup>C 同位体が導入されるか否かを 調べた<sup>18</sup>。まず、FTIR 解析において、[<sup>13</sup>C-His] D170H のスペクトルに COO<sup>-</sup>伸縮振動の低波数 シフトが観測され(図 4Aa)、量子力学/分子力 学 (QM/MM) 計算によって、この変化が D170 側 鎖の<sup>13</sup>C 置換によることが示された(図 4Ab)。 さらに、LC-MS 解析において、D1-170 位で変換 された Asp および Asn の約 60%が <sup>13</sup>C 置換され ており、これは D1 タンパク質中の His の <sup>13</sup>C 置 換率と同等であることが示された(図4B)。これ らの結果から、D1-D170H 変異体における His か ら Asp および Asn への変換は、翻訳後にタンパ ク質レベルで起こることが証明された<sup>18</sup>。

こうした PSII のアミノ酸変換はどのような条件下で起こるのであろうか?弱光下で D1-D170H 細胞を培養した場合にも同様なアミノ酸 変換は観測されたが、弱光下で除草剤 DCMU を 加えて電子伝達を阻害した場合にはほとんど変 換は起こらなかった<sup>17</sup>。さらに、Mn<sup>2+</sup>を含まない 培地中で培養した場合には、変換は全く起こらな かった<sup>18</sup>。このことから、His から Asp/Asn への 変換には、光誘起電子移動と Mn<sup>2+</sup>が必要である ことが示された。以上の結果から、観測されたア ミノ酸変換は Mn クラスター構築の光活性化過 程の間に起こることが示唆された。

次の疑問は、他の配位子位置においても同様な アミノ酸変換が起こるか、また、変換にアミノ酸 種の依存性はあるのかという問題である。そこで、



## 図4.<sup>13</sup>C-Hisを導入したD1-D170H変異体のFTIRおよびLC-MS解析

(A) S<sub>1</sub>→S<sub>2</sub>遷移のFTIR差スペクトル。(a) 青線:[<sup>12</sup>C-His]D170H、赤線:[<sup>13</sup>C-His]D170H、黒線:<sup>12</sup>C-<sup>13</sup>C二重 差スペクトル。(b) 黒線:<sup>12</sup>C-<sup>13</sup>C二重差スペクトルのCOO<sup>-</sup>対称伸縮振動領域(aの青破線領域)の拡大図、緑 線:D1-D170の<sup>13</sup>C置換を仮定したQM/MM計算によるシミュレーション。(B) [<sup>12</sup>C-His]D170H(上)および[<sup>13</sup>C-His]D170H(下)のLC-MS解析。(a) D1-170位アミノ酸の割合、(b) His→Asp変換フラグメントのMSスペクトル (左) とMSクロマトグラム(右)。

D1-D170 とは別のカルボキシレート配位子であ る D1-E189 を Gln および Ala に改変した D1-E189Q/A 変異体、さらに D1-D342 を Asn および Ala に改変した D1-D342N/A 変異体を作製し、ア ミノ酸変換の有無を調べた。酸素発生活性測定、 FTIR、LC-MS 解析により、アミド基を持つアミ ノ酸に改変した E189Q および D342N 変異体では およそ半分の D1 タンパク質が野生型の Glu また は Asp に変換されたが、Ala に改変した E189A お よび D342A 変異体では全く変換が起こらなかっ た (図 5)<sup>18</sup>。このことから、異なる配位子位置 でも変換が起こること、His だけではなく、アミ



## 図5. D1-E189Q/AおよびD1-D342N/A変異体におけ るアミノ酸変換

赤:酸素発生活性、青: $S_1 \rightarrow S_2$ 遷移のFTIR強度、緑: LC-MS解析。酸素発生活性およびFTIR強度は、変 異体PSIIの野生型PSIIに対する比を、LC-MSは変異 アミノ酸のEまたはDへの変換率を示す。

ド基を持つAsnやGlnも対応するAspまたはGlu に変換されるが、炭素鎖の短いAlaではAsp/Glu への変換は起こらないことが示された。D1-D170 および D1-E189 では、これまでに様々なアミノ 酸の変異体が報告されており、それらの酸素発生 活性を見ると、本来のAspまたはGluよりも炭 素鎖長が長いアミノ酸では、多くの場合、酸素発 生活性がある程度回復しており、また、それより も短いアミノ酸では、基本的に酸素発生活性が失 われている<sup>30-33</sup>。このことは、イミダゾール基や アミド基を持つアミノ酸だけでなく、十分な炭化 水素鎖長を持つ場合には、ほとんどのアミノ酸側 鎖でAsp/Glu に変換できる可能性があることを 示している。

それでは、どのような化学機構でこれらのアミ ノ酸変換が起こるのだろうか? 実は、His から Asp や Asn への変換が、金属イオンと過酸化水素 存在下で起こることは既に知られている。Fenton 反応によって過酸化水素から形成されたヒドロ キシルラジカル (OH') が、イミダゾール基を酸 化し、Asp/Asn に変換する機構が提唱されている <sup>34,35</sup>。よって、PSIIの光活性化の過程で、光誘起 電子移動によって生成した Mn<sup>3+</sup>或いは Mn<sup>4+</sup>に よって水が不完全に酸化されて過酸化水素が形 成され、さらに Fenton 反応によって生成した OH' が His を酸化して Asp/Asn に変換するという機構 が考えられる (図 6)。このような、活性酸素種を 介した酸化が他のアミノ酸でも起これば、His 以 外のアミノ酸でも Asp や Glu に変換することが 可能であると推測される。一方、Asn や Gln のア ミド基の場合には、脱アミド化によって Asp や Glu に変換される反応が知られている<sup>36</sup>。この場 合には、恐らく Mn イオンが触媒として働き、配 位子系のアミドと水分子による加水分解反応を 促進すると考えられる(図 6)。

# 4. 翻訳後アミノ酸変換と光合成酸素発生の起源

これまでに報告されている翻訳後アミノ酸変換は、一般に、老化あるは病気に関連し、タンパク質を不活性化する<sup>34-36</sup>。それに対し、今回筆者らが見出した PSII における翻訳後アミノ酸変換では、カルボキシレート配位子を生成して、酸素発生系を活性化する。このことは、PSII は本来、翻訳後アミノ酸変換によって酸素発生能を獲得する能力を備えていることを意味する。この PSII の能力にはどのような意味があるのだろうか。

筆者らは、祖先型 PSII における翻訳後アミノ 酸変換が、酸素発生の起源と進化過程に関与した のではないかと考えている。Mn クラスターの配 位子系が未完成の祖先型 PSII において、最初の



## 図6. 酸素発生系における翻訳後アミノ酸変換の 予想される化学機構

Hisは活性酸素種を介した酸化によりAspに、また、 Asn/Glnは脱アミド化によってAspまたはGluに変 換される。その他のアミノ酸は、炭化水素鎖が十 分長い場合には、活性酸素種を介した酸化によっ てAsp/Gluに変換されると予想される。
Mn<sup>2+</sup>結合部位が存在すれば、その近傍のアミノ酸 を翻訳後アミノ酸変換によってカルボキシルア ミノ酸に変換し、Mn イオンを固定し架橋するた めの配位子を形成することができる。そして、そ の負電荷によって Mn の酸化還元電位を低下さ せて、Yrによる酸化を容易にすることができる。 Chernoev ら<sup>12</sup>は最近、Mn 除去した PSII に過剰 の Mn<sup>2+</sup>を加えて光照射することにより、50-100 個の Mn よりなる Mn 酸化物のナノ粒子を形成で きることを示し、それが初期 Mn クラスターの形 成に関与している可能性を示した。つまり、PSII には本来、様々な大きさの Mn 酸化物を形成する 能力があり、適当なカルボキシレート配位子が存 在すれば、そのように形成された Mn 酸化物をタ ンパク質に固定することが可能となる。また、 様々な Mn 酸化物が、適当な酸化剤存在下で水分 子を酸化し、酸素を発生する能力を持つことも示 されている 37。これらのことから、筆者らは、配 位子系が未完成の祖先型 PSII において、まず、 翻訳後アミノ酸変換によっていくつかのカルボ キシレート配位子が生成し、ある種の始原的な Mn クラスターが形成されて、不完全な水分解に よる低効率な酸素発生が行われたと推測する。そ して、この不完全な酸素発生が行われている間に、 遺伝子レベルでの配位子系の最適化、プロトン、 水分子経路の最適化が起こり、さらに細胞全体で 様々な酸素からの保護機構が進化し、最終的に完 成型の酸素発生系が形成されたと考える(図 7) <sup>18</sup>。こうした翻訳後アミノ酸変換による酸素発生 が、太古の地球における酸素の起源になったので あろう。

それでは、このような酸素発生はいつ頃始まっ たのであろうか?上の酸素発生機構において必 須となる要素は、最初の Mn<sup>2+</sup>結合部位と、P680 への電子移動を中継するチロシン Yzの存在であ る。この Mn<sup>2+</sup>結合部位は D1-D170 と D1-E189 に よって形成され、完成形の Mn4CaOs クラスター の Ca に近い位置にある<sup>22,24</sup>。最近、X線結晶解 析あるいはクライオ EM 解析により、ヘリオバク テリアおよび緑色硫黄細菌の I 型ホモダイマー 反応中心の構造が明らかにされた<sup>38,39</sup>。Cardona らによって指摘されているように<sup>40,41</sup>、これらの 反応中心には、PSII と同様の Ca 結合部位が、反 応中心(バクテリオ)クロロフィルから同等の距 離に存在し、さらに、クロロフィルと Ca の間に はチロシン残基が存在する(図 8A)。これらの I



## 図7. 光合成酸素発生の起源と酸素発生系の進化過程の仮説

Mnクラスターの配位子系が未完成の祖先型PSIIにおいて、翻訳後アミノ酸変換によって始原的Mnクラスター が形成され、不完全な水分解による酸素発生が行われる。遺伝子レベルでの配位子系およびプロトン・水分子 経路の最適化、酸素からの保護機構の進化を経て、大酸化イベントが起こる24億年前までに、完成型酸素発生 系を持つPSIIが形成される。 型ホモダイマー反応中心は、系統樹上で PSII と は遠い位置にあり<sup>6,40</sup>、共通の金属結合部位およ びチロシン残基の存在は、I型とII型反応中心が 分岐する以前の最も始原的なホモダイマー反応 中心において、既にこれらの構造要素が備わって いたことを示唆している(図 8B)。したがって、 38-35 億年前の光合成進化の初期段階の始原的 反応中心において、既に翻訳後アミノ酸変換によ る低効率な酸素発生が行われていた可能性があ る。

# 5. おわりに

PSIIにおける翻訳後アミノ酸変換の研究は、まだ始まったばかりであり、Mn クラスターのすべ

ての配位子位置、或いはそれ以外の近傍アミノ酸 残基でも変換が可能なのか、どのアミノ酸種が変 換されるのか、各アミノ酸変換の具体的な化学的 機構は何か、など多くの疑問が残されている。本 稿で示した His から Asp、Asn/Gln から Asp/Glu の変換は、他のタンパク質でも既に知られている ものであるが、例えば Val、Leu、Ile などの脂肪 族アミノ酸からカルボキシルアミノ酸への変換 は、筆者の知る限り未だ報告されておらず、これ が確かめられれば、PSII に特有なアミノ酸変換と なる。こうした PSII のアミノ酸変換は、光誘起 電子移動、Mn イオン、水、活性酸素などが関与 した極めて興味深い反応であり、アミノ酸修飾の 観点からも重要な現象であろう。



## 図8. 光化学系Ⅱとヘリオバクテリアおよび緑色硫黄細菌のⅠ型ホモダイマー反応中心の金属結合部位と系統 関係

(A) PSIIにおけるMnクラスターとI型ホモダイマー反応中心におけるCa結合部位の比較。PSII
 (*Thermosynechococcus vulcanus*)、ヘリオバクテリア(*Heliobacterium modesticaldum*)、緑色硫黄細菌(*Chlorobaculum tepidum*)の構造は、それぞれPDB ID 4UB6<sup>14</sup>、5V8K<sup>38</sup>、6M32<sup>39</sup>より得た。(B) PSIIとI型ホモダイマー反応中心の系統関係<sup>6,40</sup>。Ca結合部位(赤丸)と近傍チロシン残基を示した。これらの構造要素を備えた光合成初期の始原的反応中心は、不完全な水の酸化による低効率な酸素発生を行っていた可能性がある。

生命の歴史にはいくつかの鍵となる進化過程 が存在するが、PSIIの水分解・酸素発生反応は間 違いなくそのうちの一つであろう。この反応は、 電子源を水に定めることによって光エネルギー 変換系を完成させ、生命をエネルギー問題から解 放した。そして、地球大気に酸素をもたらし、さ らなる生命の進化を推進した。生命の基本要素で ある水を自らが分解する酵素反応系を進化させ るのには、大変な困難が伴ったであろうことは想 像に難くない。それを遂行するのに、遺伝子レベ ルでの進化に先んじて、セントラルドグマを超え た翻訳後アミノ酸変換という奇手を用いたのは 十分に考えられうることである。本研究において、 最も始原的な光合成反応中心においても、低効率 ながらも水分解による酸素発生が行われていた 可能性が示された。それが本当であるとすれば、 光合成系は水を用いない酸素非発生型光合成か ら始まったのではなく、むしろ普遍的に存在する 水を電子供与体として用いることを前提として 生じた生体システムであるかもしれない。水分解 が可能であれば、酸化還元電位がより低い化合物 を電子供与体として用いる酸素非発生型光合成 は容易に進化するであろう。こうした考えは現段 階では一つの仮説に過ぎないが、光合成の進化過 程を明らかにする上で、考慮すべき重要な視点を 与えるものであると考える。

### 謝辞

本稿で紹介した研究は、理化学研究所の堂前直 博士、鈴木健裕博士、名古屋大の嶋田友一郎博士、 長尾遼博士(現岡山大)、北島(井原)智美博士、中 村伸博士、松原巧氏との共同研究として行われた ものである。ここに感謝の意を表したい。本研究 は、JSPS 科学研究費補助金(JP17H06435, JP17H03662, JP22K19270)の支援によって行われ た。

Received Oct 20, 2022; Accepted Oct 27, 2022; Published Dec 31, 2022

#### 参考文献

1. Holland, H. D. The oxygenation of the atmosphere and

oceans. Philos. Trans. R. Soc. B 361, 903-915 (2006).

- Lyons, T. W., Reinhard, C. T. & Planavsky, N. J. The rise of oxygen in Earth's early ocean and atmosphere. *Nature* 506, 307-315 (2014).
- Crowe, S. A. *et al.* Atmospheric oxygenation three billion years ago. *Nature* 501, 535-538 (2013).
- Fischer, W. W., Hemp, J. & Johnson, J. E. Evolution of oxygenic photosynthesis. *Annu. Rev. Earth Planet Sci.* 44, 647-683 (2016).
- Cardona, T., Sanchez-Baracaldo, P., Rutherford, A. W. & Larkum, A. W. Early Archean origin of Photosystem II. *Geobiology* 17, 127-150 (2019).
- Oliver, T., Sanchez-Baracaldo, P., Larkum, A. W., Rutherford, A. W. & Cardona, T. Time-resolved comparative molecular evolution of oxygenic photosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1862, 148400 (2021).
- Anbar, A. D. *et al.* A whiff of oxygen before the Great Oxidation Event? *Science* 317, 1903-1906 (2007).
- Brochier-Armanet, C., Talla, E. & Gribaldo, S. The multiple evolutionary histories of dioxygen reductases: Implications for the origin and evolution of aerobic respiration. *Mol. Biol. Evol.* 26, 285-297 (2009).
- Jabłońska, J. & Tawfik, D. S. The evolution of oxygenutilizing enzymes suggests early biosphere oxygenation. *Nat. Ecol. Evol.* 5, 442-448 (2021).
- Dismukes, G. C. *et al.* The origin of atmospheric oxygen on Earth: The innovation of oxygenic photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 2170-2175 (2001).
- Raymond, J. & Blankenship, R. E. The origin of the oxygen-evolving complex. *Coord. Chem. Rev.* 252, 377-383 (2008).
- Chernev, P. *et al.* Light-driven formation of manganese oxide by today's photosystem II supports evolutionarily ancient manganese-oxidizing photosynthesis. *Nat. Commun.* 11, 6110 (2020).
- Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.-R. & Kamiya, N. Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature* 473, 55-60 (2011).
- Suga, M. *et al.* Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses. *Nature* 517, 99-103 (2015).
- Suga, M. *et al.* Light-induced structural changes and the site of O=O bond formation in PSII caught by XFEL. *Nature* 543, 131-135 (2017).
- Kern, J. *et al.* Structures of the intermediates of Kok's photosynthetic water oxidation clock. *Nature* 563,

421-425 (2018).

- Kitajima-Ihara, T. *et al.* Fourier transform infrared and mass spectrometry analyses of a site-directed mutant of D1-Asp170 as a ligand to the water-oxidizing Mn<sub>4</sub>CaO<sub>5</sub> cluster in photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1861, 148086 (2020).
- Shimada, Y. *et al.* Post-translational amino acid conversion in photosystem II as a possible origin of photosynthetic oxygen evolution. *Nat. Commun.* 13, 4211 (2022).
- Shen, J.-R. The structure of photosystem II and the mechanism of water oxidation in photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 66, 23-48 (2015).
- Cox, N., Pantazis, D. A. & Lubitz, W. Current understanding of the mechanism of water oxidation in photosystem II and Its relation to XFEL data. *Annu. Rev. Biochem.* 89, 795-820 (2020).
- Bao, H. & Burnap, R. L. Photoactivation: The lightdriven assembly of the water oxidation complex of photosystem II. *Front. Plant Sci.* 7, 578 (2016).
- Sato, A., Nakano, Y., Nakamura, S. & Noguchi, T. Rapid-scan time-resolved ATR-FTIR study on the photoassembly of the water-oxidizing Mn<sub>4</sub>CaO<sub>5</sub> cluster in photosystem II. *J. Phys. Chem. B* 125, 4031-4045 (2021).
- Gisriel, C. J. *et al.* Cryo-EM Structure of monomeric photosystem II from *Synechocystis* sp. PCC 6803 lacking the water-oxidation complex. *Joule* 4, 2131-2148 (2020).
- 24. Zabret, J. *et al.* Structural insights into photosystem II assembly. *Nat. Plants* 7, 524-538 (2021).
- Huang, G. *et al.* Structural insights into a dimeric Psb27-photosystem II complex from a cyanobacterium *Thermosynechococcus vulcanus. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **118**, e2018053118 (2021).
- 26. Tokano, T., Kato, Y., Sugiyama, S., Uchihashi, T. & Noguchi, T. Structural dynamics of a protein domain relevant to the water-oxidizing complex in photosystem II as visualized by high-speed atomic force microscopy. *J. Phys. Chem. B* **124**, 5847-5857 (2020).
- Soo, R. M., Hemp, J., Parks, D. H., Fischer, W. W. & Hugenholtz, P. On the origins of oxygenic photosynthesis and aerobic respiration in Cyanobacteria. *Science* 355, 1436-1439 (2017).
- 28. Noguchi, T. Fourier transform infrared difference and time-resolved infrared detection of the electron and proton transfer dynamics in photosynthetic water

oxidation. Biochim. Biophys. Acta 1847, 35-45 (2015).

- Debus, R. J., Strickler, M. A., Walker, L. M. & Hillier, W. No evidence from FTIR difference spectroscopy that aspartate-170 of the D1 polypeptide ligates a manganese ion that undergoes oxidation during the S<sub>0</sub> to S<sub>1</sub>, S<sub>1</sub> to S<sub>2</sub>, or S<sub>2</sub> to S<sub>3</sub> transitions in photosystem II. *Biochemistry* 44, 1367-1374 (2005).
- Nixon, P. J. & Diner, B. A. Aspartate 170 of the photosystem II reaction center polypeptide D1 is involved in the assembly of the oxygen-evolving manganese cluster. *Biochemistry* 31, 942-948 (1992).
- Chu, H. A., Nguyen, A. P. & Debus, R. J. Site-directed photosystem II mutants with perturbed oxygenevolving properties.
   Instability or inefficient assembly of the manganese cluster *in vivo*. *Biochemistry* 33, 6137-6149 (1994).
- Chu, H. A., Nguyen, A. P. & Debus, R. J. Amino-acid residues that influence the binding of manganese or calcium to photosystem II .1. The lumenal interhelical domains of the D1 polypeptide. *Biochemistry* 34, 5839-5858 (1995).
- Debus, R. J., Campbell, K. A., Pham, D. P., Hays, A. M. A. & Britt, R. D. Glutamate 189 of the D1 polypeptide modulates the magnetic and redox properties of the manganese cluster and tyrosine Yz in photosystem II. *Biochemistry* 39, 6275-6287 (2000).
- Uchida, K. & Kawakishi, S. Ascorbate-mediated specific oxidation of the imidazole ring in a histidine derivative. *Bioorg. Chem.* 17, 330-343 (1989).
- Stadtman, E. R. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: Biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic. Biol. Med.* 9, 315-325 (1990).
- Robinson, N. E. Protein deamidation. *Proc. Natl. Acad.* Sci. U. S. A. 99, 5283-5288 (2002).
- Robinson, D. M. *et al.* Photochemical water oxidation by crystalline polymorphs of manganese oxides: Structural requirements for catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* 135, 3494-3501 (2013).
- Gisriel, C. *et al.* Structure of a symmetric photosynthetic reaction center-photosystem. *Science* 357, 1021-1025 (2017).
- Chen, J. H. *et al.* Architecture of the photosynthetic complex from a green sulfur bacterium. *Science* 370, abb6350 (2020).
- Cardona, T. & Rutherford, A. W. Evolution of Photochemical Reaction Centres: More Twists? *Trends Plant Sci.* 24, 1008-1021 (2019).
- 41. Gisriel, C. J., Azai, C. & Cardona, T. Recent advances

in the structural diversity of reaction centers. *Photosynth. Res.* **149**, 329-343 (2021).

# Post-translational amino acid conversion in photosystem II and the origin of photosynthetic oxygen evolution

# Takumi Noguchi\*

Graduate School of Science, Nagoya University

# 解説

# 緑色植物の光捕集系の進化と光環境適応‡

### 北海道大学低温科学研究所

#### 亀尾 辰砂、田中 亮一、高林 厚史

緑色植物(緑藻および陸上植物)の光化学系の構成や構造に関しては、シロイヌナズナやホウレンソウ のような維管束植物とクラミドモナスに代表される一部のコア緑藻類を用いた長年の研究によって大 きく理解が進んできた。しかし、緑藻の中でも進化初期に分岐したストレプト藻類やプラシノ藻類、さ らにはプラシノデルマ藻類の光化学系の解析は非常に限られているのが現状である。私たちはそれら 緑藻の光化学系、特に光捕集系に興味を持って解析を進めており、その色素組成、タンパク質組成、分 光学的性質などについて報告してきた。本稿では、緑藻類の光捕集系の特徴について先行研究を踏ま えて議論しつつ、それらを「海洋の緑藻の光環境適応」という観点から考える。

#### 1. はじめに

光合成研究の材料としての緑色植物を考える と、シロイヌナズナやタバコ、ホウレンソウ、ト ウモロコシなどの維管束植物やクラミドモナス などのコア緑藻類、などが主に用いられてきた。 とりわけ、シロイヌナズナやクラミドモナスはモ デル生物として、変異株リソースが豊富であり、 栽培/培養や形質転換が容易であり、実験系が整 備されているなどの特徴を持つため、特に用いら れてきた。

一方で、クライオ電顕による構造解析技術の発 展により、コケ植物やコア緑藻類の光化学系の構 造の報告が相次いでいる。それにより、緑色植物 の光捕集系に予想以上の多様性があることが明 らかになってきた。逆に言えば、緑色植物の光捕 集系の進化や多様性を知るためには、より幅広い 種を用いた解析が必要であることになる。しかし、 残念なことに、緑藻の進化初期に分岐した、プラ シノデルマ藻類、プラシノ藻類、ストレプト藻類 の光化学系の研究はとても限られているのが現 状である。なお、プラシノ藻類(およびプラシノ デルマ藻類)はその光合成色素の多様さでよく知 られており、プラシノ藻類特有のユニークな LHC も報告されていることから、光捕集系も維 管束植物やコア緑藻類とは大きく異なる可能性 がある。しかも、次世代シークエンサーの登場以 来のシークエンス技術の向上により、プラシノデ ルマ藻類やプラシノ藻類、ストレプト藻類のゲノ ム情報が公開されるようになってきたことは追 い風であり、今後、この分野の研究発展が期待さ れる。

本稿では先行研究の知見を基に、まず、緑色植物の進化やその光捕集系の進化について議論し、 さらに、緑色植物の光合成色素の多様性と LHC タンパク質の進化について光環境への適応とい う観点を踏まえて議論する。

#### 2. 真核藻類の進化と緑藻の光捕集系の特徴

真核藻類の祖先はシアノバクテリアの葉緑体 化によって誕生し、さらに灰色藻類、紅藻類、緑 藻類の一次共生藻類へと進化したと考えられて いる。一次共生藻類の周辺集光アンテナを比較す ると、灰色藻類はシアノバクテリア由来のフィコ ビリソームアンテナ (PBS)のみを有するのに対

<sup>\*</sup>解説特集「光合成の誕生・進化・退化」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: takabayashi@lowtem.hokudai.ac.jp

し、紅藻類はフィコビリソーム以外にアンテナと して light-harvesting complex (LHC)を有し、緑藻 類は LHC のみを有する<sup>1.2</sup>。真核藻類の祖先から 最初に分岐したのが灰色藻類なのか、紅藻類なの かは現時点では明らかではないが、周辺集光アン テナに着目すると、まず灰色藻類 (PBS) が分岐 し、次に紅藻類(PBS および LHC)と緑藻類 (LHC) が分岐したと考えると進化の筋道は理解しやす い。LHC は緑藻類と紅藻類の共通祖先が獲得し、 紅藻類と緑藻類で別々に、多様化したものと考え られている<sup>1.2</sup>。特に緑藻類の LHC 遺伝子は高度 に多様化しており、数十もの LHC 遺伝子が報告 されている。

次に、集光色素であるクロロフィル(Chl)に 着目すると、灰色藻類および紅藻類はChlaのみ を有するが、緑藻類はChlaのみならず、Chlbを 有する。知られている限りでは、Chlbを有する 真核藻類は緑藻類、および緑藻を取り込んだ二次 共生藻類のみである。一方で、シアノバクテリア ではChlbを持つ種が報告されている。さらに、 Chlb合成酵素(chlorophyll(ide) a oxygenase, CAO) はシアノバクテリアと緑藻で配列相同性が見ら れることから、緑藻のChlbの合成酵素はシアノ バクテリア由来である可能性が提唱されている<sup>3</sup>。 ただ、この点については現時点では立証するだけ の十分なデータがなく、さらなる研究が必要であ る。

このように、1)周辺集光アンテナとしての LHCおよびその多様化、2)集光色素としてのChl bの利用は、緑藻類および緑藻の一系統から進化 した陸上植物の特徴である。

## 3. 緑藻類および陸上植物の進化

ここでは、緑色植物の光捕集系の進化と光環境 適応に関する議論の前提として、まず緑藻類およ びその子孫である陸上植物の進化について考え たい(図1)。まず、緑藻類はその進化初期に緑藻 植物(Chlorophyta)とストレプト植物 (Streptophyta)に分岐したと考えられてきた<sup>4,5</sup>。 緑藻植物はプラシノ藻類(Prasinophyta)とコア緑 藻類(core Chlorophyta)に分類され、プラシノ藻 類はコア緑藻類の祖先であることが明らかに なっている。また、ストレプト植物はストレプト 藻類の一系統が陸上植物に進化したと考えられ ている。なお、陸上植物に最も近縁なストレプト 藻類はシャジクモではないかと考えられていた ものの、最近の系統解析ではホシミドロ属の方が



#### 図1 本稿に登場する緑色植物の系統関係

最近のゲノム情報と系統学的な解析から、緑色植物の中で最も早く分岐したのはプラシノデルマ植物ではないかと考えられるようになった。次に、緑色植物は、ストレプト植物と緑藻植物の大きく2つに分岐した。ストレプト植物に属する緑藻は陸上植物の祖先であり、ストレプト植物はその両方を含む分類群である。また、 プラシノ藻類はコア緑藻類の祖先であり、緑藻植物はその両方を含む分類群である。興味深いことに、ストレ プト藻類は基本的に淡水/陸上に生息し、プラシノ藻類は基本的に海洋に生息する。その光環境の違いは集光 系の違いの主な理由の1つであると考えられる。 近縁であると考えられるようになった 6.7。

さらに、最近の分子系統解析では、プラシノデ ルマ植物(Prasinodermophyta)がストレプト植物 と緑藻植物が分岐する前にすでに分岐していた ことが強く示唆されている(図1)<sup>89</sup>。このこと から、プラシノデルマ植物がストレプト植物と緑 藻植物の共通祖先ではないかと考えられている。 なお、先行研究ではメソスティグマ(Mesostigma viride)がストレプト植物と緑藻植物の共通祖先 ではないかとも考える向きもあったものの、最近 の分子系統解析の結果から、現在では最も早く分 岐したストレプト藻類であると考えられている <sup>10,11</sup>。実は、私たちもプラシノデルマ植物に属す るパルムフィルム目のパルムフィルム

(*Palmophyllum crassum*) に着目しNGS を用いて 解読した葉緑体ゲノム<sup>12</sup> に基づく分子系統樹に 関する論文を準備していたが、近縁種の *Verdigellas peltata* の系統解析の論文<sup>8</sup>に先を越さ れてしまったのは苦い思い出である。

なお、緑色植物とは別の分類群ではあるが、緑藻 の葉緑体を取り込んだ二次共生藻類としてユー グレナやクロララクニオンが知られている<sup>13</sup>。こ れら二次共生藻は Chl b を有しており、葉緑体が 近縁の緑藻の光化学系との比較は興味深いと思 われる。

まとめると、緑藻は主に、プラシノデルマ藻類、 プラシノ藻類、コア緑藻類、ストレプト藻類、に 分類できる。それらの違いに関しては様々な報告 があるが、本稿では生育環境の光環境の違いと光 捕集系という観点から考えていきたい。

# 4. ストレプト藻類とプラシノ藻類の生息環境の 違いと Chl bの蓄積量の違い一その関係は?

ストレプト藻類は淡水/陸上環境に生息するが、 プラシノデルマ植物とプラシノ藻類は主に海洋 環境に生育している<sup>14</sup>。海洋環境と淡水/陸上環 境では光環境が大きく異なることは注目に値す る。私たちは、海洋、特に沖合の綺麗な海中は450-500 nm の青色が豊富な光環境であることを強調 したい<sup>15</sup>。それに加えて、海中は淡水/陸上と比べ て光強度が弱いため、光合成生物にとって光律速 な環境であることは言うまでもない。そのため海 洋性の緑藻は 450-500 nm の集光効率を高める必 要がある。そこで重要な役割を担うのが Chlb で ある。Chlbは Chlaよりもソーレー帯(Soret band) のピークが長波長側にシフトしており、集光効率 も高い(図2)。そのため、Chlbは Chlaよりも 450-500 nm の(緑色よりの)青色の集光効率に優 れることが知られている。

私たちは緑藻における Chl b の生理的意義につ いて調べるため、淡水性緑藻や海洋性緑藻の色素 分析を行った<sup>16,17</sup>。その結果、海洋性緑藻では淡 水性緑藻や陸上植物よりも Chl a/b 比が低い (Chl b が多い)こと、LHC アンテナだけでなく光化学 系 (PS) I や II のコアアンテナにも Chl b が含ま れていること、その Chl b は集光や反応中心への エネルギー移動に関与していることが明らかに なった。これらは海洋性緑藻にとって、Chl b が 集光に有利であることを強く示唆している。

プラシノデルマ藻類がストレプト藻類とプラ シノ藻類の共通祖先であることを考え合わせる と、プラシノデルマ藻類に分類されるパルモフィ ルムで Chl a/b 比が特に低かったことは興味深い。 パルモフィルムでは Chl a よりも Chl b の方が 2 倍近く多く<sup>17</sup>、陸上植物と比べれば Chl a 比で 5 倍近く Chl b を多く蓄積している計算になる。ま た、パルモフィルムやその近縁種の Verdigellas peltata は特に深い海に生息することが知られて いる<sup>8,14</sup>ことから、例外的に高い Chl b の蓄積は それに寄与している可能性が高い。この結果から も、緑藻類で Chl b を獲得したのは深い海の光環



#### 図2 Chl a, Chl b, Mg-DVP, prasinoxanthinの吸収ス ペクトル

海洋性の緑藻、特にプラシノ藻類の光化学系の色素 組成の特徴として、クロロフィル b (Chl b)の高蓄 積やMg-DVPおよびprasinoxanthinの蓄積が挙げら れる。特に外洋の綺麗な深い海では450-500 nmの比 較的長波長の青色が豊富であることが知られてお り、これらプラシノ藻類に特徴的な色素はそのよう な波長の光の集光に有利であると考えられている。 境に適応するためではないかと推測できる。

一方、プラシノデルマ藻類やプラシノ藻類がど のように Chlbを高蓄積しているのか、その機構 については明らかになっていない。ただ、陸上植 物で見いだされた Chl b 合成酵素 (CAO) の量的 制御配列がそれら緑藻類の CAO には存在しない <sup>17</sup>。この制御配列は Chl b の蓄積に伴う CAO の分 解促進による CAO のフィードバック制御に機能 しており、むしろ陸上植物や淡水性緑藻が Chl b の高蓄積を避けるための機構であると考えられ る。Chlbの高蓄積はエネルギー移動の不効率化、 ひいては活性酸素による障害につながるからで あろう<sup>18</sup>。つまり、プラシノ藻類で Chl b を高蓄 積するためのメカニズムに特別なものがあるわ けではなく(例えば mRNA やタンパク質レベル の量的制御で十分)、陸上植物や淡水性緑藻がChl b を高蓄積しないための機構の方が重要ではな いかと考えている。

# 5. 海洋の光環境での集光に有利な光合成色素と それらの緑藻における分布

私たちの研究 16,17 も含めた先行研究によるプ ラシノデルマ藻類、ストレプト藻類、陸上植物、 プラシノ藻類、コア緑藻類の色素組成の比較の結 果から、私たちが Chlb以外にプラシノ藻類に顕 著な光合成色素で、しかも海洋での光環境適応に 重要ではないかと考えている色素がある。その1 つは 2,4-divinylprotochlorophyllide a (Mg-DVP) で ある (図 2)。Mg-DVP はクロロフィル合成の中 間体であるが、興味深いことに、一部のプラシノ 藻類はこの色素を光合成色素として利用してい る<sup>17,19-22</sup>。Mg-DVP の吸収スペクトル(図 2) は Mg-DVP が chlorophyll c-like 色素と呼ばれていた こともあるように、Chlcと非常によく似ている。 Chl c は珪藻類や褐藻類などの二次共生藻類が持 つクロロフィルであり、やはり海洋での集光に有 利であると考えられる色素である。この Mg-DVP の蓄積は淡水性の緑藻や陸上植物では見られず、 緑藻では海洋性の種のみで見られることを考え 合わせると、海洋での集光能の向上のために利用 しているのであろう。また、Chl c3 に吸収スペク トルが似ている Chl c<sub>CS-170</sub>と呼ばれる色素が海洋 性のプラシノ藻類に蓄積することが知られてい たが<sup>17,21,23</sup>、この色素は7-Methoxycarbonyl-8vinylprotochlorophyllide *a* であることが明らかに なっている<sup>24</sup>。この色素も淡水性の緑藻には見ら れず海洋性の緑藻にのみ見られることやその吸 収スペクトルから、海洋での集光能の向上に寄与 しているのではないかと考えられてはいるもの の、これらの色素の機能やLHCアンテナに蓄積 する機構については謎であり、今後の解析が期待 される。

海中での集光に重要なのはクロロフィルだけ ではない。カロテノイド色素もその役割を担って いる。一般的にカロテノイド色素の機能には集光 に加えて、熱放散や活性酸素の消去があるが、陸 上と比べて弱光環境である海洋中では特に集光 機能が重要であると考えられる。実際、淡水性緑 藻や陸上植物と比べると、海洋性緑藻、特にプラ シノ藻類のカロテノイド色素は多様である。海洋 での集光を考えるときに、注目すべきカロテノイ ド色素はプラシノキサンチン (prasinoxanthin) で ある<sup>25</sup>。まず、プラシノキサンチンは淡水性の緑 藻には見られず、プラシノ藻類にのみ存在する 17.22.26。そして、プラシノキサンチンは海中での集 光に有利な特性を有している(図2)。また、プラ シノキサンチンを持つプラシノ藻類の色素組成 は特徴的であり、陸上植物とは顕著に異なること が知られている<sup>21,27,28</sup>。例えば、ウリオリド (uriolide) <sup>29</sup> やマイクロモナール (micromonal) <sup>30</sup> はプラシノキサンチンを持つプラシノ藻類に よく見られ<sup>21</sup>、やはり海洋での集光に有利なスペ クトルを示し<sup>30</sup>、LHCIIの安定化や3量体化に機 能しているのではないかとも推測されている<sup>31,32</sup>。 しかし、プラシノキサンチンを持つ緑藻と持たな い緑藻では何が違うのか、については今後の課題 である。今後、プラシノ藻類のゲノム解析や光化 学系の構造解析が進むことでその謎が明らかに なることを期待したい。

## 6. 緑色植物の LHC 遺伝子の系統解析

前述のように、近年のクライオ電子顕微鏡を用 いた構造解析技術の発展により、クラミドモナス 以外の緑藻やコケ植物などの光化学系の構造が



#### 図3 緑藻のLHCの系統関係

私たちが報告した系統樹(Aso et al. 2021)を基に LHCの系統関係を示した。カッコ内はそのLHCが見 出された生物種を示す。At: Arabidopsis thaliana(シ ロイヌナズナ), Cr: Chlamydomonas reinhardtii(ク ラミドモナス), Kn: Klebsormidium nitens(クレブソ ルミディウム), Mp: Micromonas pusilla (マイクロモ ナス), Mv: Mesostimga viride (メソスティグマ)。メソ スティグマの持つLHCセットは他のストレプト植 物とは大きく異なっている。

報告されるようになり、それらの構造の比較から、 光化学系には予想以上の多様性があることが明 らかになってきた<sup>33</sup>。前述のとおり、緑藻類では LHC 遺伝子が高度に多様化しており、数十の LHC 遺伝子が存在する。PSI や PSII に結合する LHC の数やLHC の assembly のみならず、結合す る LHC タンパク質の種類にも多様性があるのは そのためである。LHC タンパク質に結合する光 合成色素もLHC ごとに異なる分布を示すことか らも、LHC 遺伝子の多様化はその色素組成と密 接に結びついていると考えられる。

近年緑藻のゲノム解析が進められてきたもの の、それらゲノム情報を用いた LHC 遺伝子の網 羅的な系統解析は行われていない。私たちは、比 較的最近ゲノムが解読されたストレプト藻類の メソスティグマやクレブソルミディウムを含め た LHC の系統樹を作成した(図 3)のでそれを 紹介したい。

私たちはストレプト藻類とプラシノ藻類、もし くはストレプト藻類と陸上植物の LHC 遺伝子 セットを比較するために、Isoform sequencing (Isoseq)を行い、LHC 遺伝子を同定するとともに、先 行研究から同定された LHC 遺伝子群、さらに最 近公開されたゲノム情報 <sup>11</sup> でアノテーションさ れていた LHC 遺伝子群、さらには他の緑藻や陸 上植物のゲノムデータを用いて系統樹を作成し た<sup>34</sup>。そして、結論から言えば、ストレプト藻類 のクレブソルミディウムの LHC セットは維管束 植物の LHC セットとほとんど変わらなかった。 しかし、最も早く分岐したストレプト藻類である メソスティグマでは LHC 遺伝子セットが他のス トレプト植物と大きく異なっていた (図 3)。 次に、同定したメソスティグマの LHC が PSII に

結合するのか (LHCII なのか)、PSI に結合するの か (LHCI なのか) に関しては Native-PAGE で分 離した PSI と PSII のバンドの質量分析を行うこ とで判断した <sup>34</sup> (図 4)。

まず、メソスティグマの LHCII として推定さ れたのは、major LHCII を構成する LHCBM(維 管束植物の Lhcb1, Lhcb2, Lhcb3 に相当)以外に



## 図4 メソスティグマの光化学系のCN-PAGEによ る分離と質量分析によるLHCの同定

メソスティグマのチラコイド膜を1% a-dodecyl maltosideで可溶化して、Clear-Native (CN)-PAGEで分離後、質量分析で各バンドに含まれる LHCタンパク質を同定した。陸上植物の光化学系 と比較すると、PSIIにLHCB6がなくLHCPがある こと、PSIに algae-type LHCA2 と algae-type LHCA9が結合していることはメソスティグマの 光化学系の特徴である。 は LHCB4、 LHCB5、 そして prasinophyte-specific LHC (LHCP) <sup>35</sup> であった (図 4)。LHCP はプラ シノ藻類のオストレオコッカスでプラシノ藻類 に特有の LHC として同定された<sup>35</sup>。この LHCP はオストレオコッカスでは major LHC であり、 LHCII trimer を形成するとの報告がある<sup>36</sup>。一方 で、ストレプト藻類でLHCPを持つメソスティグ マは例外的な存在である。質量分析の結果から、 メソスティグマの LHCP は LHCII trimer に含ま れていなかったことから、minor LHCII として機 能しているのではないかと考えられた。また、 LHCB6 はストレプト植物に特有の LHC である が<sup>37</sup>、メソスティグマはそれを持たなかった。 次に、メソスティグマの LHCI として推定された のは、LHCA1、LHCA2(維管束植物のLHCA2ホ モログ)、LHCA3、緑藻型LHCA2(クラミドモナ スのLHCA2ホモログ)、および緑藻型LHCA9(ク ラミドモナスのLHCA9ホモログ)であった(図 4)。なお、緑藻と維管束植物のLHCの命名法が 一貫していないため、クラミドモナスのLHCA2、 LHCA9 に関しては、本稿ではこのように緑藻型 として記載する。メソスティグマ以外のストレプ ト植物は緑藻型 LHCA2 と緑藻型 LHCA9 を持た ないが、メソスティグマは緑藻植物と同様にこれ らを有していた。なお、LHCA2が2分子種見出 されたことから、ヒメツリガネゴケの PSI-LHCI<sup>38</sup> 同様に、1 つは LHCA4 の代わりに 利用している可能性がある。

これまでの結果から、メソスティグマの LHC セットはプラシノ藻類の LHC セットとよく似て いる一方で、メソスティグマとクレブソルミディ ウムでの LHC セットには大きな違いがあること が明らかになった。このことは何を意味するのだ ろうか?私たちは、メソスティグマが分岐したあ とのストレプト藻類の光化学系に比較的大きな 変化が生じ、その形質のかなりな部分が陸上植物 に引き継がれたのだろうと考えている。現在、メ ソスティグマ及びクレブソルミディウムの光化 学系の分離や解析に取り組んでおり、ぜひこの光 化学系の分子進化について、明らかにしていきた い。

なお、光環境適応という観点で考えると、メソ

スティグマがシフォナキサンチンを持っている ことも興味深い。シフォナキサンチンは海洋性の 緑藻に見られる光合成色素で、淡水性緑藻ではメ ソスティグマ以外には見られない。LHCPも海洋 性のプラシノ藻類に特有の見られるLHCであり、 淡水性緑藻ではLHCP はメソスティグマ以外に は見られないことを考え合わせると、シフォナキ サンチンがLHCP に結合している可能性が考え られる。前述のようにこのLHCPは major LHCII ではないと思われるため、何をしているのかが不 明である。今後の構造解析の結果を待ちたい。

# 7. まとめ

本稿では、緑色植物の進化と集光アンテナの進 化や多様性について議論した。近年のゲノム解読 やRNAseq、そしてクライオ電子顕微鏡の技術発 展により、緑藻類の集光アンテナの多様性につい て、分子レベルでの議論が少しずつ進められるよ うになってきた。一方で、緑藻の種の多様性と比 べるとその報告例はまだまだ限られており、今後 のさらなる解析が望まれる。とりわけ、プラシノ 藻類が持つ光合成色素の種類は豊富であるもの の、その光化学系の先行研究はとても限られてお り、私たちも研究解析の魅力的なターゲットであ ると考えている。 一方で、プラシノ藻類につい ては形質転換系が確立された種が極めて限られ ており、変異株リソースや形質転換系の整備など は今後に向けての課題である。また、私たちは、 特にプラシノ藻類には培養や光化学系の調製が 難しい種が少なくないとも感じており、この点に おいても、技術的な課題が残されている。

環境適応という観点から考えると、光化学系 の集光アンテナ系は集光、エネルギー移動、熱放 散と、光合成の環境適応に重要な機能を担ってい る。緑藻はストレプト藻類が淡水/陸上環境で進 化し、プラシノデルマ藻類とプラシノ藻類はおも に海洋環境で進化しているが、淡水/陸上と海洋 では光環境という観点から大きな違いがあり、私 たちは、この違いがプラシノ藻類とストレプト藻 類の集光系の違いに影響したのだろうと考えて いる。さらにはストレプト藻類の淡水/陸上環境 への適応は陸上化の際にも貢献したと思われる。 この機構の詳細を明らかにするためにも、今後、 メソスティグマやプラシノデルマ藻類、またプラ シノ藻類の光化学系の解析が必要であろう。私た ちもそれを楽しみにしている。

Received Nov 4, 2022; Accepted Nov 8, 2022; Published Dec 31, 2022

### 参考文献

- Neilson, J. A. D. & Durnford, D. G. Structural and functional diversification of the light-harvesting complexes in photosynthetic eukaryotes. *Photosynth. Res.* 106, 57–71 (2010).
- 2. Green, B. R. What happened to the phycobilisome? *Biomolecules* **9**, 748 (2019).
- 3. Tomitani, A. *et al.* Chlorophyll *b* and phycobilins in the common ancestor of cyanobacteria and chloroplasts. *Nature* **400**, 159–162 (1999).
- Becker, B. & Marin, B. Streptophyte algae and the origin of embryophytes. *Ann. Bot.* 103, 999–1004 (2009).
- Leliaert, F. *et al.* Phylogeny and molecular evolution of the green algae. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 31, 1–46 (2012).
- de Vries, J. & Archibald, J. M. Plant evolution: landmarks on the path to terrestrial life. *New Phytol.* 217, 1428–1434 (2018).
- Cheng, S. *et al.* Genomes of subaerial zygnematophyceae provide insights into land plant evolution. *Cell* 179, 1057-1067.e14 (2019).
- Leliaert, F. *et al.* Chloroplast phylogenomic analyses reveal the deepest-branching lineage of the Chlorophyta, Palmophyllophyceae class. nov. *Sci. Rep.* 6, 25367 (2016).
- 9. Li, L. *et al.* The genome of *Prasinoderma coloniale* unveils the existence of a third phylum within green plants. *Nat Ecol. Evol.* **4**, 1220–1231 (2020).
- Lemieux, C., Otis, C. & Turmel, M. A clade uniting the green algae *Mesostigma viride* and *Chlorokybus atmophyticus* represents the deepest branch of the Streptophyta in chloroplast genome-based phylogenies. *BMC Biol.* 5, 2 (2007).
- Wang, S. *et al.* Genomes of early-diverging streptophyte algae shed light on plant terrestrialization. *Nat. Plants* 6, 95–106 (2020).
- 12. Furukawa, R., Kunugi, M., Ihara, K., Takabayashi, A.

& Tanaka, A. Complete Chloroplast Genome Sequence of the Early Diverging Green Alga *Palmophyllum crassum. Genome Announc.* **5**, (2017).

- Archibald, J. M. The puzzle of plastid evolution. *Curr. Biol.* 19, R81-8 (2009).
- Leliaert, F., Verbruggen, H. & Zechman, F. W. Into the deep: new discoveries at the base of the green plant phylogeny. *Bioessays* 33, 683–692 (2011).
- Stomp, M., Huisman, J., Stal, L. J. & Matthijs, H. C. P. Colorful niches of phototrophic microorganisms shaped by vibrations of the water molecule. *ISME J.* 1, 271–282 (2007).
- Kunugi, M., Takabayashi, A. & Tanaka, A. Evolutionary changes in chlorophyllide *a* oxygenase (CAO) structure contribute to the acquisition of a new light-harvesting complex in micromonas. *J. Biol. Chem.* 288, 19330–19341 (2013).
- Kunugi, M. *et al.* Evolution of green plants accompanied changes in light-harvesting systems. *Plant Cell Physiol.* 57, 1231–1243 (2016).
- Sakuraba, Y., Tanaka, R., Yamasato, A. & Tanaka, A. Determination of a chloroplast degron in the regulatory domain of chlorophyllide *a* oxygenase. *J. Biol. Chem.* 284, 36689–36699 (2009).
- Garrido, J. L. & Zapata, M. High performance liquid chromatographic separation of polar and non-polar chlorophyll pigments from algae using a wide pore polymeric octadecylsilica column. *J. High Resolut. Chromatogr.* 16, 229–233 (1993).
- 20. Fawley, M. W. A new form of chlorophyll *c* involved in light-harvesting. *Plant Physiol.* **91**, 727–732 (1989).
- Latasa, M., Scharek, R., Gall, F. L. & Guillou, L. Pigment suites and taxonomic groups in Prasinophyceae. J. Phycol. 40, 1149–1155 (2004).
- Guillard, R. R. L., Keller, M. D., O'Kelly, C. J. & Floyd, G. L. *Pycnococcus provasolii* gen. Et Sp. Nov., a coccoid prasinoxanthin-containing phytoplankter from the western north Atlantic and gulf of Mexico. *J. Phycol.* 27, 39–47 (1991).
- Wynne, M. J., Green, J. C., Leadbeater, B. S. C. & Diver, W. L. The chromophyte algae: problems and perspectives. *Taxon* 39, 638 (1990).
- Álvarez, S., Rodríguez, F., Riobó, P., Garrido, J. L. & Vaz, B. Chlorophyll *c* (CS-170) isolated from *Ostreococcus* sp. is [7-methoxycarbonyl-8-vinyl]protochlorophyllide *a. Org. Lett.* 15, 4430–4433 (2013).
- 25. Foss, P., Guillard, R. R. L. & Liaaen-Jensen, S. Prasinoxanthin—a chemosystematic marker for algae.

Phytochemistry 23, 1629–1633 (1984).

- Takaichi, S. Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions. *Mar. Drugs* 9, 1101–1118 (2011).
- 27. Egeland, E. S. *et al.* Carotenoids from further prasinophytes. *Biochem. Syst. Ecol.* **23**, 747–755 (1995).
- Egeland, E. S., Guillard, R. R. L. & Liaaen-Jensen, S. Additional carotenoid prototype representatives and a general chemosystematic evaluation of carotenoids in Prasinophyceae (Chlorophyta). *Phytochemistry* 44, 1087–1097 (1997).
- Foss, P., Guillard, R. R. L. & Synnøve, L.-J. Carotenoids from eucaryotic ultraplankton clones (Prasinophyceae). *Phytochemistry* 25, 119–124 (1985).
- Egeland, E. S. & Liaaen-Jensen, S. Ten minor carotenoids from Prasinophyceae (Chlorophyta). *Phytochemistry* 40, 515–520 (1995).
- 31. Wilhelm, C. *et al.* Refined carotenoid analysis of the major light-harvesting complex of *Mantoniella squamata*. *Photosynthetica* **33**, 161–171 (1997).
- Böhme, K., Wilhelm, C. & Goss, R. Light regulation of carotenoid biosynthesis in the prasinophycean alga *Mantoniella squamata*. *Photochem. Photobiol. Sci.* 1, 619–628 (2002).
- 33. Suga, M. & Shen, J. R. Structural variations of

photosystem I-antenna supercomplex in response to adaptations to different light environments. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **63**, 10–17 (2020).

- 34. Aso, M., Matsumae, R., Tanaka, A., Tanaka, R. & Takabayashi, A. Unique peripheral antennas in the photosystems of the streptophyte alga *Mesostigma viride. Plant Cell Physiol.* 62, 436–446 (2021).
- Six, C., Worden, A. Z., Rodríguez, F., Moreau, H. & Partensky, F. New insights into the nature and phylogeny of prasinophyte antenna proteins: *Ostreococcus tauri*, a case study. *Mol. Biol. Evol.* 22, 2217–2230 (2005).
- Swingley, W. D. *et al.* Characterization of photosystem I antenna proteins in the prasinophyte *Ostreococcus tauri. Biochim. Biophys. Acta* 1797, 1458–1464 (2010).
- Kouřil, R., Nosek, L., Bartoš, J., Boekema, E. J. & Ilík, P. Evolutionary loss of light-harvesting proteins Lhcb6 and Lhcb3 in major land plant groups –break-up of current dogma. *New Phytol.* 210, 808–814 (2016).
- Gorski, C. *et al.* The structure of the *Physcomitrium* patens photosystem I reveals a unique Lhca2 paralogue replacing Lhca4. *Nat. Plants* 8, 307–316 (2022).

# Evolution and adaptation of light-harvesting systems in green plants

Shinsa Kameo, Ryouichi Tanaka, Atsushi Takabayashi\*

Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University

# 解説

# 植物の陸上進出と乾燥ストレス応答機構の発達‡

# 東京工業大学 生命理工学院

# 堀 孝一

光合成生物の陸上進出は、「酸素発生型光合成の誕生」「真核光合成生物の誕生」と並ぶ光合成生物の進 化における大きな転換点である。水中と陸上環境は極めて異なった環境であるが、なぜ水性藻類はそ の転換点において陸上環境に移行していったのだろうか。この問題は広範囲の分野が関わる学際的な 領域でもあり、植物学、古気候学、進化学、分子生物学等の様々な分野がこの問題にアプローチし、魅 力的な説を数多く生み出している。さらに近年のゲノム解析の進展とモデル生物の研究手法の発展に より、詳細な陸上化要因について議論が可能になりつつある。植物の陸上進出に関わっただろう要素 は様々であるが、本稿では乾燥応答機構に着目し、近年の現況および、陸上進出初期の特徴を残してい ることが期待できるストレプト藻類クレブソルミディウムに関して著者らがおこなっている解析を含 め紹介したい。

#### 1. はじめに

光合成生物は陸上と海洋に広く分布し、地球上 の生態系を支えている。陸上と海洋における光合 成生物の一次生産量はほぼ同程度と見積もられ ているが<sup>1</sup>、植物バイオマスはそのほとんどが陸 上に存在し、全生物バイオマスの約80%を占める <sup>2</sup>。この陸上植物の膨大なバイオマスは炭素貯留 などの物質循環、土壌の形成や陸上生態系の維持 など、地球の環境に極めて大きな影響を与えてき たと考えられ<sup>3</sup>、現在の地球環境は植物の陸上進 出あってのものであると思われる。しかし、陸上 環境は温度変化、乾燥、強光、紫外線、重力など 水性藻類がすみやかに移住することは極めて厳 しい環境である。何故この厳しい環境を克服して 水性藻類が陸上に進出できたのか明らかにする 事は、植物の環境応答の進化のみならず地球の歴 史の重要な転換点の解明につながると考えられ る。水性藻類と陸上植物には遺伝子的にも大きな 隔たりがあり、植物の陸上進出に関与したと考え られる因子は様々な物が考えられる。そこで、植 物の陸上進出を考えていくうえで、水性藻類と陸 上植物を結ぶ藻類の存在が重要となってくる。

#### 2. 陸上植物に至る光合成生物の系統関係

陸上植物(本稿では読みやすさを優先し、有胚 植物を陸上植物として記述した) が属する緑色植 物亜界は緑藻植物門と陸上植物を含むストレプ ト植物に分けられる(図1)。緑藻植物門は大きな 分類群であり、モデル藻類として様々な研究に用 いられるクラミドモナスやクロレラ含み、馴染み がある研究者も多いかと思う。一方、ストレプト 植物という分類群は使われることが少ないが、陸 上植物の誕生にいたる系統関係では重要な意味 を持つ。ストレプト植物は陸上植物と近縁の6つ の藻類群(メソスティグマ藻綱、クロロキブス藻 綱、クレブソルミディウム藻綱、シャジクモ綱、 コレオケーテ藻綱、接合藻綱)を加えた分類群で ある(図1)。このストレプト植物に含まれる藻類 は、細胞分裂装置や鞭毛、グリコール酸の代謝機 構、rRNA 配列などの解析により、緑藻植物門の

<sup>\*</sup>解説特集「光合成の誕生・進化・退化」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: hori.k.ac@m.titech.ac.jp

藻類と比べて明らかに陸上植物に近縁である事 が古くから知られてきた4。これらの藻類群は緑 藻植物門から陸上植物が出現するまでの過程で 分岐してきた陸上植物の側系統群であり、緑藻植 物門から陸上植物への進化過程を結ぶ藻類とし て期待される(メソスティグマ藻綱、クロロキブ ス藻綱は姉妹群)。利便性から、ストレプト植物 に含まれる藻類群のみを指して車軸藻類(広義) やストレプト藻と呼ぶこともある(シャジクモ綱 との混乱を避けるため、本稿ではストレプト藻と 呼ぶ)。ストレプト藻は淡水もしくは淡水の水辺 や陸上の湿潤な領域に生息し、淡水域から陸上に 進出した藻類から陸上植物が誕生したと考えら れている。これらの藻類群の内、陸上植物に最も 近い分類群については近年まで諸説あったが、現 在ではゲノム・トランスクリプトーム情報が蓄積 し、接合藻綱が陸上植物の姉妹群であると考えら

れている 5,6。

一方、陸上植物の基部については、コケ植物の 単系統性について長く議論されてきたが、ヒメツ リガネゴケ、ゼニゴケに加えてツノゴケゲノムが 公開され、コケ植物の単系統性が支持されている <sup>7,8,9</sup>。したがって、緑藻植物門から陸上植物に至る 大まかな系統関係については、あらかた固まった と思われる。現在、陸上植物の最も古い痕跡化石 は 4.7 億年前の胞子と考えられており<sup>10</sup>、系統解 析と化石によるキャリブレーションからは陸上 植物の誕生は 5.1-4.7 億年前と考えられている 11。 解析法によってはさらに古い時代に出現した可 能性も示唆されており、今後のさらなる解析が期 待される<sup>9</sup>。この陸上植物の誕生に至る前に、藻 類は陸生藻類として陸上に進出し、陸上環境への 適応を進めてきたと考えられる。では藻類がいつ 陸上に進出したかという事に関しては、細胞壁組



#### 図1 緑色植物亜界における系統関係と分岐年代

緑色植物亜界において、緑藻植物門からコケ植物に至る分岐過程と、陸上植物につながる代表的な獲得形質を 示す。分岐年代はMorris J.L., et al. PNAS (2018), Jiao C., et al. Cell, (2020) を参照した。それぞれの分類群名称の 括弧内の数字は、その分類群の生物におけるゲノム解読が最初に報告された年数を示す。画像(著者撮影、未 発表)はそれぞれ、緑藻植物門: Chlamydomonas reinhardtii、クレブソルミディウム藻綱: Klebsormidium nitens NIES-2285、接合藻綱:チリモの一種、苔類: ゼニゴケの一種、蘚類: スギゴケの一種、維管束植物: Selaginella apoda 成や関連遺伝子の解析などからクレブソルミデ イウム藻綱が分岐した時には、すでに陸上環境の 影響を受けていた事が示唆されている<sup>12</sup>。した がって、ストレプト藻が誕生した初期に陸生藻類 として陸上に進出し、シャジクモ綱、接合藻綱な ど一部は水性藻類に戻りながらも、徐々に陸上環 境へ適応を深め、陸上植物が誕生したという説が 有力となってきている。ストレプト藻は分岐する に従い、段階的に陸上植物の特徴を獲得しており、 陸上植物に至る過程を明らかにしていくために 非常に好都合である(図1)。陸上植物の誕生過程 を紐解き、陸上進出の原動力を明らかにしていく ためには、様々なストレプト藻の環境適応機構を 明らかにし、藻類やコケ植物と比較していく事が 有効な手法であると期待できる。

# 3. クレブソルミディウムに関して

我々は、このような陸上植物の誕生過程で、ク レブソルミディウムに着目し、解析を進めている。 クレブソルミディウムは細胞分化や有性生殖が ないシンプルな糸状性の藻類である(図2)。淡水 や岩、土壌、樹皮上など様々な環境に生育し、湿 潤な日陰のコンクリートブロックなど都市部に も生育する非常に身近な陸生藻類である。ストレ プト藻の中では比較的初期の約7億年前に分岐 したと推定され、低温や低栄養、乾燥環境など劣 悪な環境である極地や高地などにも分布してお り<sup>13</sup>、初期の陸上環境にどのように適応していっ たのかを推察するのに非常に適した藻類である と考えている。

私達はこのクレブソルミディウムの一種 *Klebsromidium nitens* NIES-2285株のドラフトゲノ ムの解析を行い、緑藻植物門と比べて大幅に陸上 植物に特異的な遺伝子を獲得していることを報 告した<sup>14</sup>。陸上植物全般に保存性の高い遺伝子 ファミリーは6割程度獲得しており、植物ホルモ ン応答の一部を含め、環境応答や様々な陸上植物 に特異的と考えられていた遺伝子を多数獲得し ている。光合成に関しては NDH 複合体を獲得し ているという点でも興味深い。その中で、我々は 細胞表層構造、脂質代謝系、オーキシン応答につ いて解析を行っており、本稿では著者らがおこ なっているクレブソルミディウムの乾燥応答機 構の解析を含めて、植物の陸上進出と乾燥ストレ ス応答機構の発達について解説したい。

# 4. 陸上植物の乾燥耐性

陸上に進出した植物にとって、水分の確保が極



# 図2 クレブソルミディウムの形態

(a) Klebsormidium nitens NIES-2285の顕微鏡画像。NIES-2285株は現在の大規模藻類コレクションの礎となった Pringsheim's collectionの1つであり、E.G. Pringsheimによって1951年より前に単離され、Hormidium barlowとし て記載された。日本では国立環境研究所のNIESコレクションにおいてNIES-2285株として維持されている (NIES-2285株は他の藻類コレクションSAG 335-1a、UTEX321、CCAP 335/1aと同株である)。1972年に Klebsormidium flaccidumと改名されたが、2016年にK. nitensと再同定された。そのため2014年のドラフトゲノム の論文はK. flaccidumと記載されている。(b)空調室外機の土台コンクリートに形成されたクレブソルミディウ ム群集。赤丸の部位の乾燥時(c), (e)および降水時(d), (f)のコンクリートおよび顕微鏡画像。画像は著者により 撮影(未発表)。 めて重要であることは想像に難くない。陸上植物 の内、多くの維管束植物は、吸水器官として地下 深くに侵入する根、維管束による水輸送、ワック スークチクラ層による表皮からの水損失の防止、 気孔の開閉による蒸散の調節など、乾燥環境でも 細胞内の水分含量を維持する恒水性 (homoiohydry)によって乾燥環境を乗り切っている<sup>15</sup>。

一方、陸上植物の基部で分岐したコケ植物におい ては、乾燥によって細胞内の水分含量は大きく減 少するが、適合溶質の合成や乾燥耐性のある栄養 生殖細胞の形成などにより乾燥状態を耐え、水分 の再吸収によって復旧する変水性(Poikilohvdrv) 植物である<sup>16,17</sup>。この変水性による脱水状態から の強い復旧能力は、多くの維管束植物では恒水性 を獲得するに従い、種子状態を除いて失われたと 考えられている。根、維管束系、表皮細胞や気孔 などの組織分化による効率的な水利用は種子植 物の生息域を大きく広げたと考えられるが、土壌 の形成が未発達である初期の陸上環境で生存す るために、水が利用可能な時だけ成長を維持する 変水性は極めて重要な能力であったと思われる。 クレブソルミディウムも乾燥時に細胞壁を柔軟 に変形させ、核、葉緑体、ミトコンドリアなどの 細胞小器官が破壊されるのを防ぎ<sup>18,19</sup>、再水和に より光合成活性が復帰する<sup>19,20</sup>。

# 5. 乾燥応答の情報伝達経路

この乾燥応答の情報伝達経路についてはシロ イヌナズナやコムギなど維管束植物のモデル植 物を用いた遺伝学的解析や分子生物学的解析に より、植物ホルモンであるアブシシン酸(ABA) が情報伝達因子として中心的な役割を果たすこ とが広く知られている(図3)。また、モデルコケ 植物のヒメツリガネゴケとゼニゴケについても 乾燥応答機構の解析が精力的に進められている。 先に述べたように乾燥耐性機構は変水性から恒 水性へと大きな変化を遂げてきたが、変水性のコ ケ植物でもこの乾燥情報伝達機構は広く保存さ れており、ABA をシグナル分子として乾燥応答 が誘導される事が示されている<sup>21,22</sup>。したがって、 陸上植物が誕生した時点で基本的な ABA 依存性 の乾燥情報伝達機構は完成していたと考えられ ている。また、ヒメツリガネゴケの ABA 非感受 性株の解析から Group B3 RAF である ARK が SNRK2 をリン酸化することが報告され<sup>23</sup>、陸上 植物で広く保存されていることが明らかとなっ ている<sup>24</sup>。さらに ARK はエチレン受容体型ヒス チジンキナーゼと結合し、乾燥と冠水応答の切り 替えを行っていることも報告された<sup>26</sup>。このよう に非種子植物による新たな知見も増えつつあり、 陸上植物における乾燥応答機構の進化の議論は 急速に深まってきている。



#### 図3 陸上植物の主要な乾燥応答に働くABA情報伝 達経路

(1) 乾燥ストレスによりABAがキサントフィルから合成される。(2) ABAがPYR/PYL/RCAR受容体に結合すると、受容体とgroup A PP2Cの相互作用を誘導し、PP2Cのホスファターゼ活性を阻害する。(3) PP2Cは通常サブクラスIII SNRK2の脱リン酸化を行うことで、その活性を抑制しているが、PP2Cのホスファターゼ活性の阻害とMAPKKKであるRafによるSnRK2のリン酸化によってSNRK2が活性化する。 (4) 活性化したSNRK2はAREB転写因子を始め様々な基質をリン酸化し、(5) 乾燥応答を誘導する。 ABA応答は様々なフィードバックによって制御されているが、本稿で言及する(6) AREBの正の自己フィードバック<sup>37</sup>、(7) PP2Cの発現誘導による負のフィードバック<sup>38</sup>を示す。

その一方で、この ABA を中心とした乾燥応答機 構がどのように誕生したのかという点について は、未だ不明な点が多い。ゲノム解析からは Group A PP2C, Subclass III SNRK2, Group B3 RAF といった主要な情報伝達因子は緑藻植物門から クレブソルミディウムが分岐した段階でプロト タイプが存在していると考えられ、クレブソルミ ディウムの SnRK2 は、ヒメツリガネゴケにおい て ABA シグナル伝達を相補する事も報告された <sup>14,26</sup>。ABA 受容体である PYR/PYL/RCAR は接合 藻以降に存在しており土壌細菌からの水平伝播 により獲得されたと考えられているが31、接合藻 Zygnema circumcarinatum  $\mathcal{O}$  ZcPYR8  $\ddagger$  PP2C  $\epsilon$ 抑制する活性はあるが、ABA と結合せず ABA 受 容体としての働きを獲得したのは陸上植物以降 であると考えられている32。これらの具体的な機 能・役割についてはこれからの解析が待たれる。 緑藻植物門においてもこれらの起源となる情報 伝達因子が存在しており、ABA 検出も多数の報 告がある<sup>28</sup>。クラミドモナスでも ABA 処理を 行った結果、ROS の減少や走地性への影響が報 告されているが 29,30、分子レベルでのメカニズム は明らかにされておらず、統一した見解はまだな い。このようにストレプト藻類を含めて、藻類に おける ABA の機能や、RAF、PP2C、SNRK2 と いった陸上植物の ABA 情報伝達因子の藻類にお ける役割はほぼわかっていないのが現状である。

# 6. クレブソルミディウムにおける乾燥情報伝達経路の解析

我々はクレブソルミディウムが受容体を除い て ABA 応答の主要な因子が揃っており<sup>14</sup>、乾燥 に応答して ABA を蓄積する事を見出した<sup>33</sup>。し たがって、当初は PYR/PYL/RCAR 以外の経路で 乾燥応答に ABA が関与していることを期待し、 ABA の投与実験を行った。しかしながら、ABA を処理しても陸上植物で一般的にみられる生育 抑制など表現型の変化は見られなかった。また、 いくつかの乾燥応答遺伝子を陸上植物との相同 性から探索し、ABA による誘導を試みたが、大 きな変化は見られなかった<sup>33</sup>。したがってクレブ ソルミディウムにおいて ABA は少なくとも乾燥 応答のシグナル分子としては働いていないと考 えられる。そこでトランスクリプトーム解析を行 い、乾燥状態でどのような遺伝子変動が起きてい るのか把握することを行った。乾燥に特化した遺 伝子だけを選抜するために、培地環境と生育段階 の異なる複数サンプルをコントロールとし、乾燥 状態でのみ変化する遺伝子を抽出した結果、233 の乾燥で上昇する遺伝子、164の減少する遺伝子 を抽出した<sup>33</sup>(図4)。これらの遺伝子を詳細に見 ていくと、特に顕著であったのは乾燥時の過剰な エネルギー供給により生産される活性酸素 (ROS) や活性カルボニル (RCS) に対して、鉄イオンの 隔離による ROS 発生の抑制や、グルタチオン合 成、グルタチオン-アスコルビン酸回路、カタラー ゼ、アルドケト還元酵素による ROS/RCS 消去系 の応答であった33(図5)。また、光合成装置の転 写産物の減少と、カロテノイドの分解系が上昇し ており、できるだけ光の吸収を抑え光合成装置か ら生じる ROS の発生を抑制しているように見え



## 図4 クレブソルミディウムの乾燥応答誘導遺伝子 の同定

乾燥処理11時間後のトランスクリプトームデータ を固体培地、液体培地で生育段階の異なる4点(コ ントロール)それぞれと比較し、共通して有意差の ある発現変動遺伝子を乾燥応答遺伝子とした。コン トロール4点を複製として扱った場合の乾燥処理と のVolcano plotを示す。乾燥応答遺伝子と同定した遺 伝子はオレンジ(発現上昇)および青(発現抑制)で 示した。本データは第62回日本植物生理学会年会 (2021)にて報告し、作成中の論文<sup>33</sup>より一部抜粋、改 変したものである。



#### 図5 クレブソルミディウムの乾燥応答遺伝子の機能

同定した乾燥応答遺伝子の推定機能による分類図。桃色の吹き出しは強化される機能、青色の吹き出しは抑制 される機能を示し、発現上昇する遺伝子は黒字、発現抑制される遺伝子は青字で示す。図は作成中の論文<sup>33</sup>よ り一部抜粋、改変したものである。

る。このカロテノイド分解系の増強の結果、ABA が増加していると考えられた。脱水による浸透圧 ストレス対しては、LEA やシャペロンなどでタ ンパク質を保護するとともに、適合溶質の生産に よって対応していると思われる。その他にも、 DNA 複製系の抑制がみられるなど、全体として 陸上植物の乾燥応答に非常によく似た応答を示 した。また、PP2C や、AREB 様の bZIP,B3 転写 因子も乾燥に応答しており、ABA が情報伝達因 子として機能していない可能性が高いにも関わ らず、陸上植物の ABA 応答経路と同様な機構が 働いていることが示唆された。

トランスクリプトーム解析により乾燥応答特 異的な遺伝子群を特定できたため、シスエレメン ト解析により、関連する転写因子の推定を行った。 その結果、乾燥に応答する遺伝子の上流領域には、 B3 転写因子の一部が結合する RY モチーフ

(CATGCA) <sup>34</sup> および、bZIP 転写因子の AREB ファミリーが 結合する ABRE モチーフ (GCCACGT[A/G])<sup>35</sup>が有意に存在していることが 明らかとなった <sup>33</sup> (図 6)。したがってシスエレメ



における6塩基の存在率

図6 乾燥応答遺伝子のシスエレメント解析 横軸は特定の6塩基配列が、乾燥応答で発現が上昇 する233遺伝子の上流領域に存在する割合を示す。 縦軸はそのHypergeometric p-valueを示し、上に行く ほどその6塩基配列が乾燥応答遺伝子の上流配列 に有意に存在する事を示す。黄色および水色のス ポットはそれぞれABREモチーフ(GCCACGT[A/G]) およびRYモチーフ(CATGCA)を構成する配列(末 端1塩基はみ出すものを含む)のうち1E-03以下のpvalueであるものを示す。本データは第62回日本植物 生理学会年会(2021)にて報告し、作成中の論文<sup>33</sup>より 一部抜粋、改変したものである。



図7 乾燥応答遺伝子のプロモーターアッセイ 転写因子としてKnbZIP1もしくはKnbZIP2、レポー ターとしてPP2C、KnbZIP2、LEAおよびGSTの上流 配列をGUSにつないだコンストラクトをベンサミ アナタバコに一過的に発現させ、GUS活性を測定し た。縦軸は転写因子の代わりにGFPを発現させた場 合のGUS活性を1とした場合の相対値である。有意 差検定はstudent t-testによりGFP発現との間で行っ た(\*P<0.05,\*\*P<0.01)。本データは第12回光合成 学会年会・公開シンポジウム(2022)にて報告し、作 成中の論文<sup>33</sup>より一部抜粋、改変したものである。

ント解析からも乾燥応答を誘導する転写因子として、陸上植物と同様にAREBとB3転写因子が 関与する可能性が高いと考えられた。

クレブソルミディウムの転写因子は陸上植物 の58 種類の転写因子の分類のうち、46 種類を保 持しており、緑藻植物門と比べて転写因子の種類 は大幅に増加している。しかし冗長性は低く、転 写因子数は 242 遺伝子と陸上植物に比べて大幅 に少ない<sup>36</sup>。AREB 様 bZIP 転写因子は2遺伝子 であり、B3 転写因子は7遺伝子のみである。こ れらの中に、乾燥応答に関与する転写因子が存在 する事が期待できる。クレブソルミディウムの形 質転換系はまだ開発できていないため、ベンサミ アナタバコの一過的発現系を用いてこれらの転 写因子と乾燥応答遺伝子である PP2C および LEA の上流配列を用いてレポーター解析を行っ た。その結果、AREB 様の KnbZIP2 が顕著に乾燥 応答遺伝子の転写を活性化する事を示した。他の 乾燥応答遺伝子として、KnbZIP2 と GST も含め 解析を行ったが、どのプロモーターも KnbZIP1 に はさほど影響されず、KnbZIP2 遺伝子によって広 く活性化されることが明らかとなった<sup>33</sup>(図7)。 また興味深い点として、陸上植物で報告されてい る AREB によって自身が誘導される正のフィー

ドバック経路<sup>37</sup>、AREB によって PP2C が誘導さ れる負のフィードバック経路<sup>38</sup> がクレブソルミ ディウムにも存在している可能性が示唆された。

以上の結果から、クレブソルミディウムでも AREB 様の KnbZIP2 転写因子が乾燥応答遺伝子 を制御しており、シロイヌナズナなどで報告され ているフィードバック経路も存在していること が推測された。しかし、ABA 受容体もなく、ABA が乾燥シグナルとして機能しないクレブソルミ デイウムにおいて、何がこの乾燥情報を伝達して いるのか疑問が残る。そこで、乾燥応答では ROS に対する応答が非常に多く見られたことから、 ROS がシグナルの役割を担っているのではない かと考えた。その検証としてクレブソルミディウ ムを過酸化水素やメチルビオロゲンで処理した 結果、乾燥応答遺伝子はこれらの薬剤投与にも強 く応答した<sup>33</sup>(図8)。したがって、乾燥によって 生産される ROS が乾燥応答のシグナル物質とな り、経路は定かではないが KnbZIP2 を活性化し ている事が期待された。



### 図8 乾燥応答遺伝子のROS応答性

クレブソルミディウムをABA、乾燥、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>および Methylviologenで処理し、PP2C、KnbZIP2、LEAお よびGSTの発現量変化をqPCRにより解析した。未 処理コントロールにおける各遺伝子の測定値とハ ウスキーピング遺伝子(citrate synthase)から求め た $\Delta \Delta$ Ctを縦軸とした。有意差検定は未処理コン トロールと処理区の間でstudent t-testにより行った (\*P<0.05, \*\*P<0.01)。本データは第12回光合成学 会年会・公開シンポジウム(2022)にて報告し、作成 中の論文<sup>33</sup>より一部抜粋、改変したものである。 陸上植物において ROS は様々な植物ホルモン 応答やストレス応答において転写因子、情報伝達 因子と複雑に相互作用し、植物のシグナル伝達と 代謝に広く影響を与える<sup>39</sup>。ABA 応答とも複雑 にクロストークしており、ROS はセカンドメッ センジャーとして ABA 応答に関与する事や<sup>40</sup>、 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>は PP2C を抑制することが知られている<sup>41,42</sup>。 KnbZIP2 の活性化には、陸上植物の ABA 情報伝 達経路と同様に PP2C-SNRK2 経路が関与する可 能性の他、他の経路を介している可能性もあり、 さらなる解析が必要である。

# 7. 終わりに

これまでの知見を踏まえ、光合成生物の乾燥ス トレス応答機構の起源を考えていくと、「緑藻植 物門で既に存在している PP2C-SNRK2 経路は、 少なくともストレプト藻類の段階で ROS 応答に 関与しており、陸上植物の誕生と共にシグナル分 子として ABA を組み込むことで、より乾燥に特 化した ABA 依存的な乾燥応答が誕生した」とい う仮説はもっともらしいように思える。その仮説 を検証していくうえで、KnbZIP2の上流の解明の 他にも、クレブソルミディウムの乾燥応答で解明 すべき課題は多い。シスエレメント解析から B3 転写因子の関与も強く関与が示唆されるが、乾燥 応答に寄与するB3転写因子の同定には至ってい ない。また、KnbZIP2の役割が真に ROS 応答で あったとすれば、乾燥に関わらず様々なストレス 応答に関与する事が考えられる。我々は冠水応答 においても KnbZIP2 が関与することを確認して いるが、他にも様々なストレス環境での解析も進 め、ROS 情報伝達の分子的実体を明らかにする 必要がある。また、ABA をシグナル分子として 用いていない藻類における ABA の機能解明も、 陸上植物の乾燥応答の進化を理解する上で欠か すことはできない。部分的に情報を組み合わせる のは危険ではあるが、クラミドモナスにおいて ABA の投与が ROS 生産を低減させること<sup>29</sup>、 ABA は暗所で負の走地性を誘導する事<sup>30</sup>、走光 性は細胞のレドックス状態によって制御され ROS に影響されること<sup>43</sup>などから、ABA は藻類 においてシグナル分子ではないが、酸化還元状態 の制御に働く可能性も期待される。今後、様々な 研究から、ROS と ABA、乾燥応答が徐々に繋が り光合成生物の乾燥ストレス応答機構の起源が 見えてくる事を期待している。

# 謝辞

本稿執筆の機会を下さった第12回年会・公開 シンポジウムオーガナイザーの田中 寛先生、増 田 真二先生、本誌編集委員の皆様に厚く御礼申 し上げます。本稿におけるクレブソルミディウム の研究は、東京工業大学 太田・増田研究室、太 田・下嶋研究室において太田 啓之先生、増田 真 二先生、下嶋 美恵先生のご指導、ご協力のもと 私と大学院生によって行われました。心より御礼 申し上げます。使用した K. nitens NIES-2285 株は 国立環境研究所より分譲頂きました。ここで紹介 した研究は JSPS 科研費(22K06354)の一環として 行っています。この場を借りて感謝申し上げます。

Received Oct 31, 2022; Accepted Nov 7, 2022; Published Dec 31, 2022

# 参考文献

- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T. & Falkowski, P. Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. *Science* 281, 237–240 (1998).
- Bar-On, Y. M., Phillips, R. & Milo, R. The biomass distribution on Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115, 6506–6511 (2018).
- Spencer, C. J. et al. Composition of continental crust altered by the emergence of land plants. *Nat. Geosci.* 15, 735–740 (2022).
- Leliaert, F. et al. Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae. *Critical Reviews in Plant Sciences* 31, 1–46 (2012).
- Timme, R. E., Bachvaroff, T. R. & Delwiche, C. F. Broad Phylogenomic Sampling and the Sister Lineage of Land Plants. *PLoS ONE* 7, e29696 (2012).
- Cheng, S. et al. Genomes of Subaerial Zygnematophyceae Provide Insights into Land Plant Evolution. *Cell* 179, 1057-1067.e14 (2019).
- Li, F.-W. et al. Anthoceros genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts. *Nat. Plants* 6, 259–272 (2020).

- Zhang, J. et al. The hornwort genome and early land plant evolution. *Nat. Plants* 6, 107–118 (2020).
- Su, D. et al. Large-Scale Phylogenomic Analyses Reveal the Monophyly of Bryophytes and Neoproterozoic Origin of Land Plants. *Molecular Biology and Evolution* 38, 3332–3344 (2021).
- Rubinstein, C. V., Gerrienne, P., de la Puente, G. S., Astini, R. A. & Steemans, P. Early Middle Ordovician evidence for land plants in Argentina (eastern Gondwana). *New Phytologist* 188, 365–369 (2010).
- Morris, J. L. et al. The timescale of early land plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115, E2274–E2283 (2018).
- Harholt J., Moestrup Ø. & Ulvskov P. Why Plants Were Terrestrial from the Beginning. Trends in Plant Science 21, 96–101 (2016).
- Elster, J. et al. Freezing and desiccation injury resistance in the filamentous green alga Klebsormidium from the Antarctic, Arctic and Slovakia. *Biologia* 63, 843–851 (2008).
- Hori, K. et al. Klebsormidium flaccidum genome reveals primary factors for plant terrestrial adaptation. *Nat Commun* 5, 3978 (2014).
- Yang, X. et al. Response Mechanism of Plants to Drought Stress. *Horticulturae* 7, 50 (2021).
- Proctor, M. C. F. & Tuba, Z. Poikilohydry and homoihydry: antithesis or spectrum of possibilities? *New Phytologist* 156, 327–349 (2002).
- Oliver, M. J. Desiccation Tolerance in Bryophytes: A Reflection of the Primitive Strategy for Plant Survival in Dehydrating Habitats? *Integrative and Comparative Biology* 45, 788–799 (2005).
- Holzinger, A., Lütz, C. & Karsten, U. Desiccation stress causes structural and ultrastructural alterations in the aeroterrestrial green alga Klebsormidium crenulatum (Klebsormidiophyceae, Streptophyta) isolated from an Alpine soil crust. J. Phycol. 47, 591– 602 (2011).
- Karsten, U. & Holzinger, A. Light, Temperature, and Desiccation Effects on Photosynthetic Activity, and Drought-Induced Ultrastructural Changes in the Green Alga Klebsormidium dissectum (Streptophyta) from a High Alpine Soil Crust. *Microb Ecol* 63, 51–63 (2012).
- Karsten, U. & Rindi, F. Ecophysiological performance of an urban strain of the aeroterrestrial green alga Klebsormidium sp. (Klebsormidiales, Klebsormidiophyceae). *European Journal of Phycology* 45, 426–435 (2010).
- 21. Cuming, A. C. Moss as a Model System for Plant

 Stress Responses. in Plant Stress Biology 17–36 (John

 Wiley
 & Sons,
 Ltd,
 2009).

 doi:10.1002/9783527628964.ch2.

 2009).

 </

- Eklund, D. M. et al. An Evolutionarily Conserved Abscisic Acid Signaling Pathway Regulates Dormancy in the Liverwort Marchantia polymorpha. *Current Biology* 28, 3691-3699.e3 (2018).
- Saruhashi, M. et al. Plant Raf-like kinase integrates abscisic acid and hyperosmotic stress signaling upstream of SNF1-related protein kinase2. *Proc Natl Acad Sci USA* 112, E6388–E6396 (2015).
- Katsuta, S. et al. Arabidopsis Raf like kinases act as positive regulators of subclass III SnRK2 in osmostress signaling. *Plant J* 103, 634-644 (2020).
- Toriyama, T. et al. Sensor histidine kinases mediate ABA and osmostress signaling in the moss Physcomitrium patens. *Current Biology* 32, 164-175.e8 (2022).
- Shinozawa, A. et al. SnRK2 protein kinases represent an ancient system in plants for adaptation to a terrestrial environment. *Commun Biol* 2, 30 (2019).
- Kobayashi, Y. & Tanaka, K. Evolution and Function of the Phytohormone Abscisic Acid: Roots of the Phytohormone Abscisic Acid Acquisition. *Kagaku to Seibutsu* 55(4): 256-262 (2017)
- Hirsch, R., Hartung, W. & Gimmler, H. Abscisic Acid Content of Algae under Stress. *Botanica Acta* 102, 326–334 (1989).
- Yoshida, K., Igarashi, E., Mukai, M., Hirata, K. & Miyamoto, K. Induction of tolerance to oxidative stress in the green alga, Chlamydomonas reinhardtii, by abscisic acid. *Plant, Cell & Environment* 26, 451– 457 (2003).
- Al-Hijab, L. et al. Abscisic acid induced a negative geotropic response in dark-incubated Chlamydomonas reinhardtii. *Sci Rep* 9, 12063 (2019).
- Cheng, S. et al. Genomes of Subaerial Zygnematophyceae Provide Insights into Land Plant Evolution. *Cell* 179, 1057-1067.e14 (2019).
- Sun, Y., Pri-Tal, O., Michaeli, D. & Mosquna, A. Evolution of Abscisic Acid Signaling Module and Its Perception. *Front. Plant Sci.* 11, 934 (2020).
- Hori K. et al. [Manuscript in preparation]. School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology
- Reidt, W. et al. Gene regulation during late embryogenesis: the RY motif of maturation-specific gene promoters is a direct target of the FUS3 gene product. *The Plant Journal* 21, 401–408 (2000).

- 35. Uno, Y. et al. Arabidopsis basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**, 11632–11637 (2000).
- 36. 堀孝一、太田啓之 車軸藻クレブソルミディウムのゲノムから見た植物の陸上化、植物科学最前線
  7:65 (2016)
- 37. Wang, X. et al. ABRE-BINDING FACTORS play a role in the feedback regulation of ABA signaling by mediating rapid ABA induction of ABA co-receptor genes. *New Phytologist* **221**, 341–355 (2019).
- Brocard, I. M., Lynch, T. J. & Finkelstein, R. R. Regulation and Role of the Arabidopsis Abscisic Acid-Insensitive 5 Gene in Abscisic Acid, Sugar, and Stress Response. *Plant Physiology* 129, 1533–1543 (2002).
- 39. Devireddy, A. R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y. & Mittler, R. Integration of reactive oxygen species and hormone signaling during abiotic stress. *The Plant*

Journal 105, 459-476 (2021).

- 40. Kwak, J. M. et al. NADPH oxidase AtrbohD and AtrbohF genes function in ROS-dependent ABA signaling in Arabidopsis. *The EMBO Journal* **22**, 2623–2633 (2003).
- 41. Meinhard, M. & Grill, E. Hydrogen peroxide is a regulator of ABI1, a protein phosphatase 2C from Arabidopsis. *FEBS Letters* **508**, 443–446 (2001).
- Meinhard, M., Rodriguez, P. L. & Grill, E. The sensitivity of ABI2 to hydrogen peroxide links the abscisic acid-response regulator to redox signalling. *Planta* 214, 775–782 (2002).
- Wakabayashi, K., Misawa, Y., Mochiji, S. & Kamiya, R. Reduction-oxidation poise regulates the sign of phototaxis in Chlamydomonas reinhardtii. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 11280–11284 (2011).

# Development of drought stress response during land colonization of plants

Koichi Hori\*

Tokyo Institute of Technology, School of Life Science and Technology

# 解説

# 光合成をやめる進化 ~クリプト藻の葉緑体ゲノムでは光合成能消失前 に何が起こるのか? ~<sup>‡</sup>

国立環境研究所 生物多様性領域 鈴木重勝、山口晴代\*

現在の藻類の系統のほとんどすべてに非光合成種が含まれることから、藻類における二次的な光合成 能の消失は複数回独立して起こったと考えられている。この光合成能の消失という現象は、光合成の 獲得に加えて、藻類の多様化に大きな影響を及ぼした原動力のひとつといえる。近年、光合成能を消失 したいわゆる非光合成種を用いた比較ゲノム解析の結果から、光合成能消失後の進化過程については 理解が進んできた。しかしながら、光合成能消失メカニズムについてはほとんど分かっていない。これ は、光合成をやめる直前の進化段階に相当する藻類がこれまで知られていなかったことが主要な原因 である。本稿では、国立環境研究所微生物系統保存施設の藻類培養株を活用することで、光合成をやめ る直前のクリプト藻を見出し、その進化プロセスを提唱した研究について紹介する。

 はじめに -藻類カルチャーコレクションの もつポテンシャル

藻類は、陸上植物を除く酸素発生型光合成を行 う生物の総称で、真核生物の多くの主要系統にま たがって存在している。このような藻類の多様化 を引き起こした最大の要因といえるのが、細胞内 共生という現象である。もともと酸素発生型光合 成は原核生物の藻類であるシアノバクテリアに 起源する。真核藻類では、緑色植物、紅色植物、 灰色植物の共通祖先がシアノバクテリアを細胞 内共生させることで光合成能が真核生物に伝搬 した。この現象を一次共生と呼び、一次共生に よって光合成能を獲得したこれらの生物をさら に細胞内共生させること(この現象を二次共生と 呼ぶ。)で、多様な真核生物の系統に光合成とい う形質が伝搬したことが広く受け入れられてい る。

藻類は系統的、形態的、遺伝的に大きな多様性 をもつことから、基礎研究、応用研究に関わらず、 多くの用途に用いられている研究資源である。し かしながら、その培養株の維持管理には特殊な技 術や多大な労力を必要とする。そのため、公的な カルチャーコレクションの存在は藻類研究に欠 かせないものとなっている。現在、日本国内には 藻類に特化した2つのカルチャーコレクション が存在している。そのうち国立環境研究所微生物 系統保存施設(MCC-NIES)は単細胞性藻類を中 心とした微細藻類を保存しており、神戸大学海藻 類系統保存施設(KU-MACC)では海藻類を中心 とした大型藻類の保存を行っている。2022年10 月時点で、MCC-NIES では 460 属 1,069 種以上を 含む 3,000 株を超える微細藻類の培養株を維持、 管理、公開しており(図1)、研究・教育目的で利 用可能である。多くの培養株が基礎研究や応用研 究の実験材料として幅広い分野で用いられてい る一方、寄託以来利用されていない未利用株も存 在する。これらの藻類リソースの活用が、今後の 真核生物の多様性や進化研究の発展に繋がるこ とが期待される。本稿では、未利用藻類リソース を用いた研究例として、クリプト藻を用いた光合

<sup>\*</sup>解説特集「光合成の誕生・進化・退化」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: yamaguchi.haruyo@nies.go.jp



#### 図1. MCC-NIESにおける保存株の多様性と累計分 譲回数

MCC-NIESで公開している保存株の分類群別内訳 (2022年10月時点)。カッコ内には属数と種数を示 す。

成能消失に伴う色素体ゲノムの進化過程につい ての研究を紹介する。

## 2. 藻類における光合成能の消失

これまでの研究により、緑色植物、ユーグレナ 植物、クリプト植物、不等毛植物、渦鞭毛植物な ど、様々な系統の藻類で二次的な光合成能の消失 が独立に生じたと考えられている。光合成能を消 失した種にも、色素体と色素体ゲノムを保持する もの (e.g., Prototheca, マラリア原虫)、色素体ゲ ノムのみ失ったもの (e.g., Polytomella)、色素体と 色素体ゲノムの両方を消失したもの(e.g., Amoebophrya)、もともとの色素体を消失し新た な色素体を獲得したもの (e.g., Karenia) など、 様々な進化段階に相当する種が存在することが 知られている。その中にはマラリア原虫であるア ピコンプレクサ類や、プロトテカ症の原因となる プロトテカといった病原性を示す種も含まれて いることから、主に光合成能の消失後の進化プロ セスについて精力的に研究が進められてきた。例 えば、プロトテカ類では複数遺伝子を用いた分子 系統解析により、近縁種間で少なくとも3回以上 の独立した光合成能の消失と寄生性の獲得イベ ントが生じたことが示唆されており1、同様の現 象はクリプト藻や珪藻などでも推測されている 2-4

近年のゲノム解析技術の進歩は、藻類の光合成 の消失進化に大きな知見をもたらしている。2002 年にマラリア原虫である Plasmodium falciparum の全ゲノムが解読された後5、緑藻植物、不等毛 植物、アピコンプレクサ類、渦鞭毛植物に含まれ る複数種の核ゲノムが解読されてきた<sup>1,6-8</sup>。それ らのゲノム情報から予測される代謝経路を近縁 の光合成性種のものと比較することで、光合成能 消失後の進化プロセスや色素体の光合成以外の 役割を推測することができる。その結果、光合成 能消失に伴い、大半の光合成関連タンパク質コー ド遺伝子は失われるが、炭素固定や脂肪酸、テル ペノイド、テトラピロール、イソプレノイドなど の生合成に関わる遺伝子群は光合成消失後も保 存的であることが分かってきた。これらの残され た機能の類似性は収斂進化の結果であると解釈 されている。また、これまでにゲノム解読が行わ れた非光合成性藻類は主に寄生性種や病原性種 であったが、最近、非光合成性かつ自由生活性の 珪藻 Nitzschia putrida の核ゲノムが解読された。 この種では、これまで光合成能の消失に特徴づけ られていた核ゲノムの縮小化や光合成関連遺伝 子を除く遺伝子群の欠失が確認されなかったこ とから、光合成能の消失が直接的に核ゲノムの縮 小化や遺伝子の欠失を引き起こすというより、寄 生性といった生活様式の獲得に起因することが 示唆されている。

## 3. クリプト藻における非光合成化

クリプト藻(=クリプト植物)は二次共生に よって獲得した紅色植物に由来する色素体をも つ単細胞藻類であり、淡水・汽水・海水といった 水環境に普遍的に存在する?。特に湖沼の深部で 優占し、主要な一次生産者であることが知られて いる<sup>10</sup>。また、クリプト藻は多様な光捕集に関わ るフィコビリタンパク質をもっており<sup>11</sup>、種に よっては 15 µmol photons/m<sup>2</sup>/s 程度の低照度の光 でも培養、増殖が可能であることから12、光に対 する依存度が比較的低いと思われる。さらに、ク リプト藻は基本的に光合成性であるが、 *Cryptomonas undulata や C. phaseolus* などの種で は、光合成を行うとともにグルコースを吸収し利 用するといった吸収栄養を行うことが知られて いる<sup>12</sup>。しかしながら、全く光に依存せずに培養 可能な光合成種はほとんど知られておらず、

Rhodomonas salina を 0.25 M の高濃度グリセロー ル存在下に暗黒下で培養した一例のみが報告さ れているに留まっている<sup>13</sup>。一方、クリプト藻に おける捕食性の有無については議論がある。 *Cryptomonas や Chroomonas* においてバクテリア の取り込みや細胞内のバクテリアが観察されて いるが<sup>14,15</sup>、それらは細胞内在性のバクテリアで あり捕食性はないという知見もある<sup>16</sup>。さらに、 野外サンプルの観察により、*Cryptomonas borealis* において真核生物に対する捕食性(共食い)が存 在することが示唆されているが<sup>17</sup>、少なくとも筆 者らが実験に使用した培養株を用いた観察では 捕食性は見られていない。

クリプト藻には色素体を元々持っていないと

思われる Goniomonas の他に、二次的に光合成能 を消失したと考えられる種が複数存在している <sup>18</sup>(図 2A,B)。これらの二次的な非光合成種は、 *Cryptomonas*属内の異なる3つの系統に位置し ており、それぞれ *C. paramaecium、Cryptomonas* sp. SAG 977-2f、*Cryptomonas* sp. M1634 が代表的 な種である。興味深いことに、それぞれの系統に 非常に近縁な光合成種が存在しており、それぞれ *C. borealis、C. loricata、C. erosa*であり、少なく とも3回の独立な光合成能の消失が起こったと 考えられている。最近、それら3系統の非光合成 性クリプト藻の色素体ゲノムが解読された結果 <sup>2,19</sup>、光合成種に対して非光合成種の色素体ゲノ ムは >20 kbp ほど縮小化しており、光合成関連遺



## 図2. Cryptomonas属の多様性

(a). Cryptomonas属の主要な種間系統関係。系統関係はHoef-Emden<sup>18</sup>とSuzuki et al.<sup>4</sup>に基づく。青文字の種は非 光合成性種を、樹形上の白丸は光合成能の消失イベントを示す。

(b). Cryptomonas属の主要なMCC-NIES保存株の光学顕微鏡写真。スケールバーは10 µmを示す。

(c). 暗所培養下でのCryptomonasの増殖。Cryptomonas5株を有機物添加VT培地(+BSM、オレンジ線)と、有機物非添加のVT培地(-BSM、青線)を用いて、20日間連続暗所培養した。増殖パターンにより、有機物存在下で暗所増殖可能、暗所生存不可、暗所生存可能だが増殖不可の3グループに分けられた。エラーバーは標準偏差を示す。Suzuki et al. 4を改変。

伝子の偽遺伝子化や欠失が見られた。また、3種 の非光合成性種に共通する特徴として、逆位反復 配列としてコードされる rRNA オペロンの片方 が欠失していること、ゲノム再編成が光合成種に 比べて頻繁に生じているという特徴があったこ とから、これらが収斂進化の結果であることが示 唆された<sup>2</sup>。

# 4. 光合成能消失の直前に相当するクリプト藻の 探索

前述のように、光合成能を消失した後の進化プ ロセスについては比較的理解が進んできたが、そ もそも光合成能消失を引き起こす要因や原動力 の理解はほとんど進んでいない。これは光合成能 消失の直前の進化状態にあると推測される種が 知られていないことが主要な要因である。そこで 筆者らの研究グループでは MCC-NIES に保存さ れる主要なクリプト藻の系統を対象として「光合 成能消失の直前に相当する種」を探索した4。ス クリーニングにおいて、次に挙げる3つの点に注 目した。1つ目は従属栄養(ここでは従属栄養性 の中でも特に吸収栄養のことをいう。)可能な光 合成種であることである。一般的に光合成種が光 合成能を消失するには、前提条件として従属栄養 性(特に吸収栄養性)をもっていることが必須だ と考えられている<sup>20</sup>。ここでは特に、光非依存的 に生存できるのみならず、増殖可能な種を探索し た。2つ目は色素体ゲノム構造の再編成の有無で ある。既知の非光合成クリプト藻はすべて色素体 ゲノムに大きな再編成が見られることから<sup>2</sup>、光 合成能消失段階で色素体ゲノムの構造が不安定 化することが予測される。3つ目として、非光合 成種に系統的に近縁であることである。この点に ついては、近縁な非光合成種が未報告である可能 性も考慮した。

# 4.1. 色素体ゲノムの網羅的解読

先行研究において、*Cryptomonas、Teleaulax*、 *Guillardia、Rhodomonas* を含む 11 種の色素体ゲ ノムが解読されていた。そこで筆者らは新たに *Chroomonas、Hemiselmis、Proteomonas* を含む 16 の NIES 株の色素体ゲノム配列を解読した<sup>4</sup>。色 素体ゲノム配列のシンテニー解析を行ったとこ ろ、イントロンや一部の遺伝子の欠失を除けば、 27種中20の光合成種で遺伝子の配置が広く共通 していた。このことは、大半の光合成性クリプト 藻はそれらの共通祖先における色素体ゲノムの 構造をそのままの状態で保持していることを示 している。一方、Cryptomonas borealis と Cryptomonas sp. NIES-345 で大きな色素体ゲノム の再編成が見られた。これらを一般的な光合成種 である C. curvata に対して比較するとそれぞれ4 回と1回のゲノム再編成(遺伝子がコードされる 順番の変化)が生じたことが予測された。色素体 ゲノムコード遺伝子による分子系統解析を行っ たところ、C. borealis と Cryptomonas sp. NIES-345 は非光合成性種である C. paramaecium に近縁で あった。また Cryptomonas sp. NIES-345 株では非 光合成種で見られたようにrRNA オペロンが1コ ピーのみに減少していた。興味深いことに、C. borealis ではインタクトな rRNA オペロンの他に 偽遺伝子化した 23SrRNA の断片配列がコードさ れており、rRNA オペロン消失の中間的な形質と 考えられた。

Cryptomonas 属に注目すると、C. borealis と Cryptomonas sp. NIES-345 の色素体ゲノムには、 光合成種と非光合成種の中間的な特徴が配列レ ベルで存在することが明らかとなった。まず、ク リプト藻の色素体ゲノム全体で共有される 35 遺 伝子について、その同義非同義置換率 (dN/dS) を計測したところ、*C. borealis* と *Cryptomonas* sp. NIES-345 は非光合成種と同様に、その他の光合 成種よりも高い値を示した。また、コドン使用頻 度を定量化し比較したところ、他の光合成種に対 して C. borealis と Cryptomonas sp. NIES-345 は光 合成関連遺伝子のコドン使用頻度により高いバ イアスが生じていることが明らかとなった。これ らの点より、Cryptomonas 属の光合成種において、 C. borealis と Cryptomonas sp. NIES-345 では色素 体ゲノムに対する選択圧が弱まっており、特に光 合成関連遺伝子において顕著であることが示唆 された。

## 4.2. 光合成活性の測定

色素体ゲノムに大きな構造変化が見られた C. borealis と Cryptomonas sp. NIES-345 について、そ の光合成活性を PAM 蛍光法によって測定した。 最大量子収率(Fv/Fm)の平均値は C. borealis で 0.72、Cryptomonas sp. NIES-345 でも 0.72 であり、 他の光合成種と比較しても有意な差は見いだせ なかった。さらにクリプト藻の光合成色素である クロロフィル a と c を抽出し測定したが、その量 は細胞サイズによってばらつきはあるものの、C. borealis と Cryptomonas sp. NIES-345 もクロロフィ ルを合成していることを確認した。したがって、 C. borealis と Cryptomonas sp. NIES-345 はその色 素体ゲノムは非光合成種と類似した特徴をもつ ものの、Cryptomonas 属の他種と同程度の光合成 活性をもつ光合成種であることが示された。

## 4.3 従属栄養環境下での増殖

C. borealis と Cryptomonas sp. NIES-345 を含む Cryptomonas 属の光合成種について、光非依存的 に増殖可能かを調べるために培養実験を行った (図 2C)。培養は連続暗期条件で有機物添加培地 と無機培地を用いて 20 日間実施し、経時的に細 胞数をカウントした。有機物として 10%濃度の BSM (0.8% peptone, 0.1% glucose, 0.1% yeast extract, 0.1% beef extract) を用いた。その結果、光非依存 的に生存できない種、光非依存的に生存できるが 増殖できない種、光非依存的に増殖可能な種の3 つの増殖パターンに分けられることがわかった。 C. curvata と Cryptomonas sp. NIES-345 は有機物 の有無に関わらず同様のパターンを示し、暗所下 では速やかに細胞数が減少した。Cryptomonas sp. NIES-3952 は有機物添加培地のみで培養 12 日目 まで細胞数が維持されたが、その後減少した。一 方、C. borealis と C. tetrapyrenoidosa は有機物添 加培地で、培養開始12日目まで緩やかな細胞数 の増加が見られた。したがって、Cryptomonas sp. NIES-345 は光非依存的に生存できないのに対し て、C. borealis と C. tetrapyrenoidosa が光非依存 的に増殖可能な光合成種であることが示された。

まとめると、本研究で使用した培養株の中では C. borealisのみが、光非依存的に増殖可能な光合 成種で、系統的に非光合成種の C. paramaecium と 近縁であり、その色素体ゲノムに大きな再編成が 見られ、色素体ゲノムに対する選択圧が低下して いるという特徴を併せもっていた。したがって、 筆者らは本種をクリプト藻における「光合成能消 失の直前に相当する種」として提案した。

# 5. Cryptomonas borealis の色素体ゲノムに起こっていること

5.1 特異的な遺伝子欠失

非光合成性クリプト藻の色素体ゲノムでは、遺 伝子の欠失や偽遺伝子化が生じている<sup>2,19</sup>。その ため、C. borealis の色素体ゲノムにコードされる 遺伝子の種類を比較したところ、前述した rRNA オペロンの不完全な欠失とともに、rne、ycf19、 ycf29、ycf36 といった遺伝子が欠失していること が分かった。特に ycf19 と ycf29 は C. borealis の みで欠損しており、非光合成種を含めた Cryptomonas の他種では保存されていた。ycf19 と ycf29 はそれぞれ色素体の分裂と色素体ゲノム コード遺伝子の転写調節に関係していると考え られており<sup>21,22</sup>、これらの遺伝子の欠失は光合成 機能の維持に対する選択圧の低下を反映してい ると考えられる。

5.2 現在進行中のグループ II イントロンの増加 と転移

C. borealis の色素体ゲノムに見られる大きな特 徴の1つにグループⅡイントロン数の増加があ る。C. borealis の色素体ゲノムには、15 個のグ ループ II イントロンの存在が予測され、そのう ち clpC に挿入される1つを除けば、全てに保存 的な6つのドメインが存在しており、機能的であ ることが示唆された。実際、RNA-seq 解析により インタクトな 14 個のイントロンの大半でスプラ イシングされることが確認できた。C. borealis と は対照的に、その他のクリプト藻の色素体ゲノム には0-8個のイントロンのみが存在していた。ま た、C. borealis の rps6 と atpB イントロンなど (77.5%類似度)、イントロンによっては配列が類 似するものもあることから、C. borealis がもつ一 部のイントロンは重複、転移することで増殖して いったことが推測された。

グループ II イントロンが重複、転移する際に は逆転写活性を有する intron-encoded protein (IEP) の存在が必要だと考えられている<sup>23</sup>。C. borealis の色素体ゲノムには5つの IEP が存在しており、 その一部は色素体の起源である紅色植物に由来 するものではなく、緑色植物との系統的な類縁性 がみられた。そのため、一部のインロトンは緑色 植物からの水平転移によって獲得されたことが 示唆された。また、IEP に保存されるドメイン構 造を調べてみると、逆転写活性に関するサブドメ インの多くや X ドメインは存在するが、ゲノム に組み込まれる際に必要とされる D ドメインや En ドメイン、YADD モチーフなどは見つからな かった。この点については他種を用いた先行研究 でも同様に指摘されていたため、クリプト藻の色 素体ゲノム上のグループ II イントロンに転移能 はないと予測されていた<sup>24</sup>。筆者らは、実際にイ ントロンが転移しているのか確かめるため、イン トロン領域特異的な DNA-RNA ハイブリッドを 検出することを試みた。グループ II イントロン は RNA としてゲノムに挿入され、逆転写される ことでゲノム中に組み込まれることから<sup>23</sup>、実際 に転移しているのならばイントロン領域特異的 に一時的な DNA-RNA ハイブリッドが形成され ていると予測される。まずは C. borealis の atpB イントロンと psbN イントロンをターゲットとし た。atpB イントロンは1つの IEP を含み、psbNイントロンは IEP をコードしていなかった。その 結果、atpBイントロンとpsbNイントロンの両方 で DNA-RNA ハイブリッドの存在が示された。

一方、イントロン領域ではない 16S rRNA におい ては、DNA-RNA ハイブリッドは検出できなかっ た。これらの結果から、IEP の有無に関わらず、 *C. borealis*のグループIIイントロンは領域特異的 に DNA-RNA ハイブリッドを形成しており、イ ントロンの転移が現在も起こっていることが示 唆された。クリプト藻の IEP は、逆転写の際に反 対側の DNA 鎖を切断するエンドヌクレアーゼ活 性をもち、プライミングに関与する En ドメイン <sup>25</sup>を欠いており、逆転写ができないと予想されて いた<sup>24</sup>。しかしながら、実際には逆転写が生じた ことから、複製フォークの新生 DNA 鎖をプライ ミングに用いて逆転写を行っていると考えてい る<sup>26,27</sup>。さらに、同様の実験を C. curvata の psbN イントロン (1つの IEP を含む) でも行った。C. curvata の色素体ゲノムはグループ II イントロン を1つしかもたない。その結果、C. borealis とは 対象的に、イントロン領域にも DNA-RNA ハイ ブリッドは検出されず、C. curvata ではイントロ ンの転移能が失われていることが示唆された。現 在のところ、C. curvata のイントロンで転移能が 欠失した原因は明らかではないが、C. curvata の IEP はプライマーとの結合に関係する FLG モ チーフを欠いていることと関連があるのかもし れない。

# 5.3. 多量の構造多型の存在

通常、色素体ゲノムはゲノムコピー間での差異 は少ないと考えられている。しかしながら、C. borealis の色素体ゲノムを用いてマッピング解析 を行ったところ、1つの色素体に含まれるゲノム コピー間に非常に多くの構造多型が存在するこ とがわかった。まず、illumina ショートリードを 用いて、数百 bp 程度までの構造多型(SV; 配列 の挿入または欠失)を調べた。その結果、C. borealis の色素体ゲノムには、1-386 bp までの 325 個の SV の存在が推測され、これは 289 個の挿入 と36個の欠失で構成されていた。一方、光合成 性の近縁種である C. curvata と Cryptomonas sp. NIES-345 では、それぞれ 42 個と 19 個の SV し か見られなかった。特に非光合成種の C. paramaecium は 2 つの SV が予測されたのみで あった。すべての欠失は 1-2 bp と小さく、大きな 欠失は起こりにくいことが示唆された。また、ゲ ノム中に存在する SV の出現頻度は低く、平均の 出現頻度は0.55%-3.2%であった。つまり、色素体 ゲノムコピーの大半は正常な配列をもつことを 意味する。この SV の数はイントロン数と相関が 見られ、実際、イントロンをもたない C. paramaecium では SV がほとんど見られない。色 素体ゲノムにおける SV の出現位置を調べると、 ゲノム全体に分布していたが、わずかに遺伝子上 に存在するものが多かった。例えば C. borealis の 色素体ゲノムでは、56.9%、27.1%、16.0%の SV

が、それぞれ遺伝子、遺伝子間領域、IEP を含む イントロン領域に存在していた。 さらに、*C. borealis* の色素体ゲノムを用いて、Nanopore ロン グリードにより数 kbp までのより大きな SV (挿 入、欠失、逆位、逆位重複)の検出を試みた。そ の結果、83–1,430 bp の 61 個の SV を検出するこ とができた。

多くの真核生物の核ゲノムには色素体ゲノム と類似する配列(NUPT)が存在することが知ら れている<sup>28</sup>。モデルクリプト藻であり、核ゲノム の配列が利用可能な Guillardia theta の核ゲノム には明確な NUPT は存在しないが<sup>29</sup>、NUPT の存 在は色素体ゲノムへのミスアラインメントに よって、色素体ゲノムにおける SV の検出に際し て偽陽性を示すことが予想される。そこで、C. borealis のドラフトゲノム配列を決定し(358 Mbp; scaffold N50: 78.9 kbp)、潜在的な NUPT の 配列を含んだ核ゲノム、ミトコンドリアゲノム、 色素体ゲノムをまとめたデータセットに対して マッピング解析を行った。その結果、ショート リードを用いた解析では 219 個の SV が、ロング リードを用いた解析では 61 個の SV がそれぞれ 検出された。したがって NUPT による偽陽性の 影響は比較的少なく、解析に大きな影響を与えて いないと考えられる。

前述のように、一部の SV は遺伝子内部に存在 していることから、必須タンパク質に機能の欠失 を伴うアミノ酸の置換や欠失を引き起こすと考 えられる。先行研究により、G. theta は細胞あた り1つの色素体をもち、1つの色素体には 130-260 コピーの色素体ゲノムが存在することが示 されている<sup>30</sup>。この点と SV の出現頻度が低いこ とを踏まえると、SV が引き起こすタンパク質機 能の欠失は 1 つの色素体に含まれる色素体ゲノ ムの他コピーによって相補されると考えられる。

# 6. クリプト藻では光合成能消失前に何がおこったのか?

これまで述べてきた内容をもとに、クリプト藻 における光合成能消失に至る進化プロセスを、色 素体を中心に考えてみる(図3)。

まず、クリプト藻の栄養様式について注目して

見ていきたい。色素体を元々持っていないと思わ れるクリプト藻 Goniomonas や Hemiarma は捕食 性であること<sup>31,32</sup>、現存する光合成性クリプト藻 は細胞内共生によって色素体を獲得したと考え られていることから、光合成性クリプト藻の祖先 状態は捕食と光合成を行う混合栄養性をもつと 考えられている 33。現存する光合成性クリプト藻 の捕食性についてはよくわかっていないが、大半 の種が長期間無菌的に維持されていることから も、生存に必須ではないと推測される。現存する 光合成性クリプト藻は培地中の有機物を吸収し 利用できるが、その能力は種によって異なる4,12,13。 また、高濃度の有機物を添加せずに、光非依存的 に培養可能な光合成種は C. borealis と C. tetrapyrenoidosa のみであったことから、光合成種 における従属栄養能は系統特異的に失われつつ あると考えられる。C. paramaecium などの二次的 に光合成能を消失した種は吸収栄養性であるた め、それらの直接の祖先は光非依存的に増殖可能 な光合成種であったと思われる。

遺伝子の種類やコード順といった色素体ゲノ ムの構造は、C. borealis と Cryptomonas sp. NIES-345株を除く、光合成性クリプト藻全体で高度に 保存されている 4,34。そのため、光合成性クリプ ト藻の祖先状態では、現存する光合成種と構造的 に類似した色素体ゲノムをもっていたことが示 唆される。つまり、祖先状態の色素体ゲノムはお よそ 120 kbp で~80 個程度の遺伝子をコードし、 rRNA オペロンをコードした逆位反復配列をもっ ていたと思われる。さらに共生者である紅藻に由 来するものと、緑藻から水平転移してきた複数の グループⅡイントロンをもっていた。そして、そ れらのイントロンは自立的な転移能をもってい たことが推測される。光合成性クリプト藻の祖先 状態は混合栄養性であったため、光合成や色素体 ゲノムに対する選択圧が比較的弱く、イントロン の転移・重複が起こっていた。しかしながら、ク リプト藻の大半の種では、種分化の過程で従属栄 養に対する依存度が低下し、相対的に光合成に対 する依存度が上昇した。このことは光合成や色素 体ゲノムに対する選択圧の上昇を意味する。この 様な種においては、イントロンの転移や重複が生



図3. クリプト藻における光合成能消失に至る栄養様式と色素体ゲノムの進化モデル 現存の光合成性クリプト藻の共通祖先において光合成が獲得され、この時点では光合成と捕食性を併せ持って いた。その後、捕食性の重要性は低下し、光合成性と吸収栄養性が主要な栄養様式となった。この過程で、転 移性イントロンの増殖と逆位反復配列の欠失を主な原動力として、色素体ゲノム構造が不安定化し、光合成能 消失に至った可能性がある。現存するほとんどの光合成種では、従属栄養能は低下し、吸収栄養のみで増殖は できないため、光合成に対する選択圧が上昇し、色素体ゲノム構造が保存されていると考えられる。

じたとしても、変異を生じたゲノムのコピーは速 やかに消失し、色素体内に保存されなかったであ ろう。この状態が、現存する大半の光合成性クリ プト藻に相当する。

一方、従属栄養性を維持した種の色素体ゲノム では、イントロンが増加することで、イントロン 配列を介した相同組換えなどによって、その色素 体ゲノムに多数の構造多型やゲノム再編成を引 き起こす可能性が高まると考えられる。結果とし て、直接的なイントロンの挿入やゲノム再編成に より、逆位反復配列も断片化、欠失する可能性が ある。色素体ゲノムでは、一般的に逆位反復配列 がゲノム上に生じた変異の修復に関わると考え られているため 35,36、逆位反復配列の欠失は、色 素体ゲノムにおける構造多型の出現やゲノム再 編成を促進しうる。この状態が、本稿で詳述した C. borealis に相当すると考えている。Cryptomonas sp. NIES-345 では、逆位反復配列の欠失後に従属 栄養性への依存度が低下し、それに伴い色素体ゲ ノムに対する選択圧が上昇したため、ゲノムコ ピー間に存在していた変異が減少したと考えら れる。

従属栄養性に依存した光合成種の中では、富栄

養で低照度といった特殊な環境下で、光合成に対 する選択圧が大幅に低下し、光合成のコア遺伝子 に変異が生じた色素体ゲノムのコピーが個体内、 あるいは集団内に増えていくかもしれない。この ことが非光合成化の原動力の1つであろうと推 測している。光合成能の消失後、その色素体ゲノ ムにはゲノム縮小化への強い選択圧が生じ、イン トロンの消失や遺伝子間領域の縮小化、光合成関 連遺伝子の欠失が引き起こされる。これにより、 色素体ゲノム構造が再度安定化すると考えられ る。この状態が C. paramaecium に相当するので あろう。

# 6. 終わりに

本稿では MCC-NIES の未利用培養株を利用し て行った、クリプト藻の光合成能消失プロセスに 焦点を当てた研究例について紹介した。現在、紹 介した培養株を用いて、人工的に光合成能消失プ ロセスを再現できるかという研究を進めている。 ここで紹介した培養株は MCC-NIES の保存株の ほんの一部に過ぎない。保存株の中でも、特に未 利用培養株には大きな潜在的な可能性が詰まっ ている。ぜひ、新たな研究材料として、MCC-NIES の多様な藻類培養株をご利用いただきたい。

## 謝辞

本稿に含まれる筆者らの研究の一部は、JSPS 科研費(19K15904)、ナショナルバイオリソース 藻類(17km0210116j0001)の支援を受け行われま した。

Received Oct 31, 2022; Accepted Nov 10, 2022; Published Dec 31, 2022

### 参考文献

- Suzuki, S., Endoh, R., Manabe, R., Ohkuma, M. & Hirakawa, Y. Multiple losses of photosynthesis and convergent reductive genome evolution in the colourless green algae Prototheca. *Sci. Rep.* 8, 940 (2018).
- Tanifuji, G. *et al.* Comparative plastid genomics of Cryptomonas species reveals fine-scale genomic responses to loss of photosynthesis. *Genome Biol. Evol.* 85, 95–127 (2020).
- Kamikawa, R. *et al.* Multiple losses of photosynthesis in Nitzschia (Bacillariophyceae). *Phycol. Res.* 63, 19– 28 (2015).
- Suzuki, S., Matsuzaki, R., Yamaguchi, H. & Kawachi, M. What Happened before Losses of Photosynthesis in Cryptophyte Algae? *Mol. Biol. Evol.* 39, 1–7 (2022).
- Gardner, M. J. *et al.* Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature* **419**, 498–511 (2002).
- Kamikawa, R. *et al.* Genome evolution of a nonparasitic secondary heterotroph, the diatom Nitzschia putrida. *Sci. Adv.* 8, eabi5075 (2022).
- Pombert, J.-F., Blouin, N. A., Lane, C., Boucias, D. & Keeling, P. J. A lack of parasitic reduction in the obligate parasitic green alga *Helicosporidium*. *PLoS Genet.* 10, e1004355 (2014).
- Farhat, S. *et al.* Rapid protein evolution, organellar reductions, and invasive intronic elements in the marine aerobic parasite dinoflagellate Amoebophrya spp. *BMC Biol.* 19, 1 (2021).
- Hoef-Emden, K. & Archibald, J. M. Cryptophyta (Cryptomonads). in *Handbook of the Protists* (eds. Archibald, J. M., Simpson, A. G. B. & Slamovits, C. H.) 851–891 (Springer, 2017). doi:10.1007/978-3-319-28149-0\_35

- Gervais, F. Ecology of cryptophytes coexisting near a freshwater chemocline. *Freshw. Biol.* **39**, 61–78 (1998).
- Greenwold, M. J. *et al.* Diversification of light capture ability was accompanied by the evolution of phycobiliproteins in cryptophyte algae. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 286, 20190655 (2019).
- Gervais, F. Light-dependent growth, dark survival, and glucose uptake by cryptophytes isolated from a freshwater chemocline. *J. Phycol.* 33, 18–25 (1997).
- Antia, N. J., Kalley, J. P., McDONALD, J. T. & Bisalputra, T. Ultrastructure of the Marine Cryptomonad Chroomonas salina Cultured under Conditions of Photoautotrophy and Glycerol-Heterotrophy. J. Protozool. 20, 377–385 (1973).
- Tranvik, L. J., Porter, K. G. & Sieburth, J. M. Occurrence of bacterivory in Cryptomonas, a common freshwater phytoplankter. *Oecologia* 78, 473–476 (1989).
- KUGRENS, P. & LEE, R. E. Ultrastructural Evidence for Bacterial Incorporation and Myxotrophy in the Photosynthetic Cryptomonad Chroomonas Pochmanni Huber-Pestalozzi (Chyptomonadida). *J. Protozool.* 37, 263–267 (1990).
- Schnepf, E. & Melkonian, M. Bacteriophage-like particles in endocytic bacteria of Cryptomonas (Cryptophyceae). *Phycologia* 29, 338–343 (1990).
- Wawrik, V. F. Mixotrophie bei Cryptomonas borealis Skuja. *Arch. für Protistenkd.* 112, 312–313 (1970).
- Hoef-Emden, K. Revision of the Genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae) II: Incongruences between the Classical Morphospecies Concept and Molecular Phylogeny in Smaller Pyrenoid-less Cells. *Phycologia* 46, 402–428 (2007).
- Donaher, N. *et al.* The complete plastid genome sequence of the secondarily nonphotosynthetic alga *Cryptomonas paramecium*: reduction, compaction, and accelerated evolutionary rate. *Genome Biol. Evol.* 1, 439–48 (2009).
- Dorrell, R. G. *et al.* Principles of plastid reductive evolution illuminated by nonphotosynthetic chrysophytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **116**, 6914–6923 (2019).
- Kabeya, Y. *et al.* The YlmG protein has a conserved function related to the distribution of nucleoids in chloroplasts and cyanobacteria. *BMC Plant Biol.* 10, 57 (2010).
- 22. Puthiyaveetil, S. & Allen, J. F. Chloroplast twocomponent systems: evolution of the link between

photosynthesis and gene expression. *Proc. Biol. Sci.* **276**, 2133–45 (2009).

- 23. Lambowitz, A. M. & Zimmerly, S. Group II introns: mobile ribozymes that invade DNA. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **3**, a003616 (2011).
- 24. Khan, H. & Archibald, J. M. Lateral transfer of introns in the cryptophyte plastid genome. *Nucleic Acids Res.* 36, 3043–3053 (2008).
- San Filippo, J. & Lambowitz, A. M. Characterization of the C-Terminal DNA-binding/DNA Endonuclease Region of a Group II Intron-encoded Protein. *J. Mol. Biol.* 324, 933–951 (2002).
- Zhong, J. & Lambowitz, A. M. Group II intron mobility using nascent strands at DNA replication forks to prime reverse transcription. *EMBO J.* 22, 4555–4565 (2003).
- Martinez-Abarca, F., Barrientos-DuraÂn, A., FernaÂndez-LoÂpez, M. & Toro, N. The RmInt1 group II intron has two different retrohoming pathways for mobility using predominantly the nascent lagging strand at DNA replication forks for priming. *Nucleic Acids Res.* 32, 2880–2888 (2004).
- Richly, E. & Leister, D. NUPTs in Sequenced Eukaryotes and Their Genomic Organization in Relation to NUMTs. *Mol. Biol. Evol.* 21, 1972–1980 (2004).
- 29. Curtis, B. A. *et al.* Algal genomes reveal evolutionary mosaicism and the fate of nucleomorphs. *Nature* **492**, 59–65 (2012).
- 30. Hirakawa, Y. & Ishida, K.-I. Polyploidy of

endosymbiotically derived genomes in complex algae. *Genome Biol. Evol.* **6**, 974–80 (2014).

- Jezbera, J., Hornák, K. & Simek, K. Food selection by bacterivorous protists: insight from the analysis of the food vacuole content by means of fluorescence in situ hybridization. *FEMS Microbiol. Ecol.* 52, 351–63 (2005).
- Shiratori, T. & Ishida, K.-I. A New Heterotrophic Cryptomonad: Hemiarma marina n. g., n. sp. J. *Eukaryot. Microbiol.* 63, 804–812 (2016).
- Hoef-Emden, K. Multiple independent losses of photosynthesis and differing evolutionary rates in the genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae): combined phylogenetic analyses of DNA sequences of the nuclear and the nucleomorph ribosomal operons. *J. Mol. Evol.* 60, 183–95 (2005).
- Kim, J. I. *et al.* Evolutionary Dynamics of Cryptophyte Plastid Genomes. *Genome Biol. Evol.* 9, 1859–1872 (2017).
- Palmer, J. D. & Thompson, W. F. Chloroplast DNA rearrangements are more frequent when a large inverted repeat sequence is lost. *Cell* 29, 537–550 (1982).
- Strauss, S. H., Palmer, J. D., Howe, G. T. & Doerksen, A. H. Chloroplast genomes of two conifers lack a large inverted repeat and are extensively rearranged. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85, 3898–3902 (1988).

# What happened before losses of photosynthesis in plastid genomes of cryptophytes?

Shigekatsu Suzuki and Haruyo Yamaguchi\*

Biodiversity Division, National Institute for Environmental Studies

# 表紙の紹介

# 糊で貼り合わせたような複数の葉緑体

# <sup>1</sup>宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センター <sup>2</sup>宇都宮大学大学院地域創生科学研究科 市川 晋太郎<sup>1,2</sup>、児玉 豊<sup>1,2</sup>

コロナ禍で、人と人との物理的な距離が離れると共に、オンラインの研究イベントが増え、移 動しなくても研究発表を聞くことができるようになった。また共同研究者との研究打ち合わせも オンラインで可能になったため、お互いの拘束時間が格段に短くなったように思う。ただその一 方で、研究イベントの余白時間(休憩時間など)における情報交換は、オンラインでは難しく、 人と人とが物理的に接触することによって起こるのだとも気付かされた。このような余白時間に おける情報交換によって研究が大きく発展することもあるため、多くの研究イベントは、オンラ インの良さを残しつつも、いずれは対面開催に戻っていくのであろう。

物理的な接触による情報交換というのは、何も人と人とに限った話ではなく、生物界の至る所 で起こっており、多くの研究者の興味の対象である。たとえば、集団・個体・組織・細胞・オルガ ネラ・分子の間で、物理的な接触によって様々な情報が移動する。私たちの研究室が興味の対象 とする植物のオルガネラでは、光や温度の環境変化に応答した物理的な接触が起こることが知ら れる。葉緑体・ミトコンドリア・ペルオキシソームは、光依存的に近接し、三者オルガネラ複合 体として、互いに共有している代謝経路を駆動すると予想されている<sup>1</sup>。また植物細胞が低温に晒 されると、理由はわかっていないが、葉緑体同士がベタベタと接着することも知られている<sup>2,3</sup>。 オルガネラ間で移動するのは、代謝産物などの分子であろう。しかし、オルガネラ間接触によっ て分子の移動が本当に起こっているのかは、これを人工的に制御する技術が存在しないため、あ まりわかっていない。

最近、私たちは、オルガネラ間接着を人工的に制御する新しい技術"オルガネラグルー"を開発 した 4。タンパク質間相互作用の解析法として有名な二分子蛍光補完(BiFC:びふしー)法5に 用いられる蛍光タンパク質断片の特性を利用し、普段は物理的な距離が離れた葉緑体同士を人工 的に近接させることに成功した4。本号の表紙には、水生の単子葉植物オオカナダモの細胞内にお いてオルガネラグルーで誘発した「糊で貼り合わせたような複数の葉緑体」の写真が掲載されて いる。オルガネラグルーの詳細に関しては次号で解説するが、その情報を基にして様々な余白時 間に皆さんと議論できることを一番の楽しみにしている。

## 文献

- 1. Midorikawa, K., et al. Three-dimensional nanoscale analysis of light-dependent organelle changes in Arabidopsis mesophyll cells. PNAS Nexus 1, pgac225 (2022).
- 2. Kodama, Y., et al. Low temperature-induced chloroplast relocation mediated by a blue light receptor, phototropin 2, in fern gametophytes. J. Plant Res. 121, 441-448 (2008).
- 3. Tanaka, H., et al. Chloroplast aggregation during the cold-positioning response in the liverwort Marchantia polymorpha. J. Plant Res. 130, 1061-1070 (2017).
- 4. Ichikawa, S., et al. Organellar glue: a molecular tool to artificially control chloroplast-chloroplast interactions. ACS synth. biol. 11, 3190-3197 (2022).
- 5. Hu, C.-D., et al. Visualization of interactions among bZIP and Rel family proteins in living cells using bimolecular fluorescence complementation. Mol. Cell 9, 789-798 (2002).

若手の会特別企画:若手研究者の海外留学レポート!

# 第16回「家族で海外留学」

東京都立大学 理学部 生命科学科 特任助教 渡辺 麻衣

私は2018年2月に家族3人でドイツに渡り、2022年8月末に家族4人で帰国しました。今回の記 事では、4年半滞在したドイツ、フライブルクでの経験を、海外留学におけるプライベートな面を中心 に紹介したいと思います。

# ドイツ留学のきっかけ

ある時、夫(榎本元)がドイツに留学することを決め、EMBOのフェローシップを獲得してきました。(この辺の詳しいことは覚えていないので、今後どこかで榎本さんが記事を書いてくれることを期待しています。)その時すでに子どももおり、2年も離れて暮らすことは考えられなかったので、みんなで移住することに決めました。幸い、私も夫とはそう遠くない研究分野なので、同じ研究室に海外学振 RRAを出すことができました。準備期間は短かったのですが、なんとか無事に採択され、私もドイツで研究を続けることができました。私の場合は、成り行きで留学することになりましたが、海外で研究してみたいという思いも持っていたし、ドイツには博士課程の時に1ヶ月ほど研究をしに行った経験があり好印象を持っていたので、すんなりと夫の留学を受け入れられました。

## 留学した理由

私の留学の一番の目的は、研究者友達をつくることでした。困ったときに気軽に質問できる人、助け てもらえる人をいろいろなところに作るのは、この先研究者として生きていく上でとても助けになり ます。これまで、色々な先生方を見てきて、これに関してはあの人に聞けばいいんだという、信頼でき る友達(知り合い)を持っているのはとても心強いことだなと思っていたので、自分もそんな友達を作 りたいというのが大きな目的でした。留学したことで、これまでは国際会議などでしか会うことのな かった先生と仲間として接してもらうことができ、その繋がりでさらに共同研究や研究の相談をでき る人を紹介してもらったりと、人脈を広げることができました。ドイツでもポストが少なくて、博士を 取得してもアカデミアに残る人が少ないという問題があり、同年代の研究者仲間を見つけるのは難し かったのですが、何人かの友達はできました。フライブルク大学のポスドクたちが集まって交流を深 める会が、私が帰国する少し前にでき、それを通して少し違う分野の人とも交流できるといいなと思っ たのですが、残念ながら参加することはできませんでした。でも、Slackを通してまだ繋がれているの で、困った時には相談してみようと思います。

## 言語の問題

私は語学が苦手で、英語もままならない状態での留学でした。しかし、英語の環境に飛び込んで仕舞 えば、なんとかしなければいけないので、苦手意識もだんだんと薄れていきました。いまだに英語は上 手くありませんが、日本にいたときよりは聞き取れるようになったし、発言するハードルもかなり下 がりました。毎日英語を聞ける、話せる環境にいることは、日本では少し難しいかと思うので、その点 でも留学したのはよかったと思います。

# 妊娠7ヶ月での渡独

留学が決まってから半年の間に、第二子を妊娠しました。年が明けたらドイツへ行くことが決まっていたので、出産はドイツで行うことにしました。ところが、大きな問題が発生しました。ドイツの健康保険ではすでに妊娠している人の妊婦検診、出産費用はカバーされないことが渡航の少し前にわかったのです。これは、我々がどちらも大学との雇用関係にない自費留学生であったために、入れる保険がプライベート保険だけだったことが一番の問題でした。

日本にいる間も、ドイツに渡った後も、なんとかならないかと頑張ったのですが、なんともならず、 日本に帰るという選択肢もあったのですが、色々と考慮して自費で出産することを決めました。出産 費用などは日本とあまり変わらず、そこまで高額ではなかったのが幸いでした。それでも高い出費だっ たので、これからドイツ留学を考えている人は、自分がどのような保険に入れるのか、その保険が何を どれくらいカバーしてくれるのかをよく調べることが大事だと思います。また、なんとかして大学な どと一時的にでも雇用関係を結べるように頼んで、公的保険に入れるように試みることをお勧めしま す。大抵のプライベート保険は加入後8ヶ月以内の出産はカバーしてくれないので、要注意です。

妊婦検診のための病院探しも少し大変でした。なんとか病院は見つけられても、ドイツ語は全くで きないのに加え、英語もままならなかった私は、電話で予約を取ることができないので、直接病院に出 向いていました。検診は、英語を話してくれる先生だったので、拙い英語でなんとかなりました。出産 する病院はまた別なので、そちらにも出向いて予約を取らなければいけませんでした。一番大変だろ うと思っていた出産時ですが、火事場の馬鹿力なのか、大変な状況でもなんとか英語は聞き取れるし、 話すこともできたのは驚きでした。

出産後も色々と日本との違いはありますが、一番大きかったのはご飯が少ないことでした。中でも 夜ご飯は、ドイツのカルトエッセン(冷たい食事)そのもので、食パンとハムとチーズのみが毎日だっ たのには大きなショックを受けました。こんな食事で授乳できるかー!と思ったものです。

#### 保育園問題

子どもを連れて海外に行くときに必要なのが、保育園もしくは学校の問題だと思います。学校は誰 もが入れるので、手続きなどは難しいかもしれませんが探す必要はあまりありません。保育園はドイ ツでも足りていないようで、空いている場所を探すのが大変でした。ドイツの保育園は基本的に縦割 り保育(いろいろな年齢の子がひとつのクラスで過ごす)ですが、3歳以下までの保育園と3歳以上の 保育園(幼稚園)に分かれているところが多いです。3歳以上になると、全ての子供が保育園に入るこ とができますが、3歳以下の子供の入園は保証されていません。うちの子は2歳半の時にドイツに渡っ たので、まずは3歳以下のクラスがある保育園を探さなければいけませんでした。幸いにも、大学に付 随している保育園が多くあったため、その中のひとつに入ることができました。しかし、3歳以上のク ラスのない保育園だったため、半年間の間に3歳から入れる保育園をまた探さなければいけませんで した。子どもにとっても、全く言葉のわからないドイツ語の保育園に入れられ、ようやく慣れてきたと ころで保育園を変わらなければいけないのは大変だったと思います。私はドイツ語が全くわからな かったのですが、最初の保育園の先生は英語を話してくれたので、なんとかコミュニケーションをと ることができました。彼女には本当に感謝しています。うちの子は2歳半だったので、ようやく日本語 で話すことで自分の訴えを伝えることができるようになった頃で、そんな時に全くわからない言葉を 話し、自分のいうことをわかってもらえない環境に放り込まれ、とても大変だったと思います。それで もなんとか自力でドイツ語を学び、最初の保育園を卒園する頃にはネイティブと変わらないレベルに まで習得できていたのには、本当に感動しました。

最初の保育園は大学に付随するものだったこともあり、子どもたちも多国籍でドイツ語が母国語で ない子も多くいました。そんな子どもたちが共通言語のドイツ語を学び、コミュニケーションをとっ ているのはとてもいい経験だなと思いました。

2つ目の保育園では、日本人のお母さんを持つ子がおり、その子の家族とも仲良くなり色々と助けて もらえたのは本当によかったです。私がいたフライブルク大学には日本人の研究者はほとんどいな かったので、日本人コミュニティーは子どもを通して知り合った人ばかりでした。その点でも、家族で 留学したのは本当によかったと思います。

#### 家族で留学してよかったこと

子どもの保育園を通して、研究以外の知り合いができたし、ドイツならではの行事や子どもの習慣 などを通してドイツの生活を経験でき、満喫できました。また、子どもの保育園や友達付き合いなど、 ドイツ語ができなければやっていけない場面も多かったので、ドイツ語を学ぶ機会ができたのはよ かったです。子どもがいなければ、研究中心の生活になり、あまりドイツの生活が充実しなかっただろ うと思うので、家族で行ったことでいい経験ができたと思います。

#### ドイツでの研究について

研究の話を少しすると、私は海外学振で留学したので、研究室の PI である Annegret の研究とは少し離れていました。ですが、彼女は私に学生をつけてくれたり、他の研究室との共同研究に参加させて
くれたりと、とてもいい経験をたくさんさせてくれました。また偶然にも、私が Annegret Wilde Lab にこの時期にいたからこそ始まった共同研究があります。まだ論文にできていないので、詳しくは書 きませんが、私がいなければ進められなかったかもしれないと思うと、ラボに少しは貢献できたのか なと思います。

#### 最後に

子どもの保育園の時間や休み、コロナ禍での保育園の完全閉鎖などで、研究を強く推し進められた 留学ではなかったですが、ドイツでしかできない経験をラボでも、私生活でもたくさんでき、充実した 留学生活だったと思います。子どもがいたり、この先子どもを持ちたいと思っていて、留学することを 躊躇っている人がいるとしたら、いけばなんとかなると背中を押したいと思います。自分のやりたい ことで子どもに負担をかけるかもしれないけれど、少なくともうちの子たちはドイツでたくさんのい い経験をすることができ、ドイツが大好きです。日本に住んでいるだけではできなかった多国籍、他民 族の環境を経験できたのは本当に良かったなと思います。一人で行くよりも、家族で行くのは大変か もしれませんが、一緒に乗り越えてくれる仲間がいるのはとても心強いことだと思うので、ぜひ経験 してみて欲しいと思います。



大学の前にて

大学裏の植物園。我が家は植 物園の反対側にあった。



ラボの人たちと行った、バイクツアー フライブルクは環境都市なので、自転車で移動する人が多 ジャムを間に挟んだ、伝統的なクッキー い。



クリスマス前恒例のクッキーパーティー をラボの皆で作る。コロナ禍でしばらく やれなかったのが残念。

## 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 (sonoike@waseda.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

#### 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、\_\_\_\_\_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非承諾項目に×印をつけてください

振り仮名 氏名**(必須)** 漢字表記 ローマ字表記

- [] 所属
- [] 所属住所(学生の方は、なるべく研究室名までお願いします)
   〒

会誌送付先住所(**必須**) □ 所属先住所と同じ □ 以下の住所に送付

- [] 〒
- [ ] 連絡先電話番号
- [ ] E-mail (必須)

□ 会費納入済み(振り込み年月日)
 □ 会費振り込み予定(振り込み予定年月日)
 年 月 日

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)

(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

〒226-8503 横浜市緑区長津田町 4259 番地 R1-8 東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所 久堀徹 研究室内 日本光合成学会

TEL : 045-924-5234, FAX : 045-924-5268, 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 名称及び所在地

本会は日本光合成学会(The Japanese Society of Photosynthesis Research)と称する。会の住所を会長の所属所在地とする。

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、学術誌の発行などの事業を行う。

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

本会の運営のため、幹事をおく。幹事の任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

3. 編集委員会

本会の発行する学術誌の編集のため編集委員会を置く。編集委員会については別に定める。

4. 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。

5. 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。

6. 事務局

事務局をおき、本会の会計事務、サーバー管理および名簿管理を行う。

7. 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。

8. 選挙管理委員会

本会の選挙を公正に実施するため、選挙管理委員会を置く。選挙管理委員会については別に定める。

9. 関連組織

学会に、光合成に密接にかかわる関連組織を置くことができる。関連組織については別に定める。

第6条 総会

1. 招集・構成・議長

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. 報告事項

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. 承認事項

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。
- 第5 本会則の改正を平成 30 年 5 月 27 日から施行する。

第6 本会則の改正を令和3年5月29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宰者である等、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。

#### 日本光合成学会役員選出に関する申し合わせ

平成 27 年 5 月 27 日 幹事会 平成 30 年 5 月 26 日 幹事会

1. 選挙管理委員会

本会の選挙を公正に実施するため、選挙管理委員会を置く。選挙管理委員 2 名は常任幹事会が幹事 会に推薦し、決定する。選挙管理委員の任期は 2 年とし、再任を妨げない。選挙管理委員の互選によ り委員長を選出する。

2. 会長 [会則第5条第6項]

(1) 幹事および常任幹事による若干名の候補者の推薦方法

幹事は、会長選挙に推薦する候補者としてふさわしい会員を3名連記で投票する。投票結果が上位の会員について、常任幹事会は、本人の意向を確認した上で、若干名を推薦候補者として決定する。選挙事務は事務局長が執り行う。

(2) 会長選挙

会長選挙の実施に当たっては、会員に推薦候補者を提示し、全会員による単記無記名投票を実施す る。最高得票者を、次期会長とする。得票数が同数の場合は、抽選により決定する。選挙事務は選挙管 理委員会が執り行う。

# 「光合成研究」

#### 総則

- 1. 「光合成研究」(本報) は光合成に関連する諸 分野における記事を掲載する。投稿論文とし て下記の3つのタイプを受け付ける。
- 「解説」:国際学術誌などに発表された該当分 野の研究に関して近年の動向をより網羅的に 広い視点で紹介する総説
- 「トピックス」:国際学術誌などに発表された 研究内容で「解説」より狭い範囲の研究に焦 点を当て紹介する総説
- 「研究紹介」:国際学術誌などの専門誌に掲載 された原著論文の研究内容を原著論文の筆者 が紹介する記事
- 2.1年に3回(4月、8月、12月号)冊子体と して発行し、電子版を光合成学会のホーム ページ上に公開する。
- 3. 原稿が E-mail において受付処理をされた日 を以て受付日とし、編集委員が掲載可と判断 した日を採択日とする。ただし原稿が本規定 に合わない場合受け付けないことがある。
- 4. 投稿された原稿について、編集委員会は査読の可否を判断する。査読可と判断された原稿については、編集委員が適切な査読者を選んで査読を依頼し、査読結果に基づいて編集委員が掲載の可否を判断する。編集委員会が不適切と判断した場合には、査読なしで投稿された原稿を却下することがある。
- 5. 過去に査読を受けて掲載不可と判断された 原稿を改訂して再投稿する場合には、編集委 員と査読者宛に、各査読コメントを改訂稿に どのように反映したか、また反映しなかった 場合はその理由を明確に記載し、投稿する原 稿に添付する必要がある。
- 6. 掲載論文の著作権(冊子体および電子版)は 日本光合成学会に属する。
- 7. 図やそこで使われる写真が過去論文として 発表したものもしくは発表されたものであっ た場合は、それらの著作権問題を著者ら自身 でクリアする必要がある。
- 8. 投稿に当たっては、全ての著者が投稿に同意 し、かつ原稿の内容について責任を持たなけ ればならない。また、全ての著者は代表著者 が全著者を代表して原稿の掲載に関する事項 を執り行うことに同意するものとする。

#### 一般的事項

 Microsoft Word ファイルを基本とする。字 数制限は設けないが、「解説」は A4 サイズ 6~8ページ、「トピックス」、「研究紹介」は

# 投稿規定

4ページ程度を目安にする。1ページ当りの 文字数は、図表を含めて 1800 字程度。日本 語は MS 明朝、英数字は Times New Roman とする。

- (2) 本文の最初に、日本語および英語での論文 題名、著者所属機関名、氏名を記載する。
- (3) 句読点は「 、 」「 。 」に統一する。
- (4) 300 字程度の日本語要旨を作成すること。
- (5) 参考文献、表、図のキャプションは、本文 の後ろにつける。
- (6) 本文中に図の大体の位置を指示する。(図を 貼り付けてもよい。)

#### 参考文献

- (1) 参考文献は、本文中の該当箇所に、右上付 きで、1、1,2、1-3のように示す。
- (2) 参考文献の表記は下記のとおりとする。著 者が5名を超える際は、筆頭著者を記載し それ以降の著者は et al.とすること。

雑誌例

- Berthold, D. A., Babcock, G. T. & Yocum, C. F. A highly resolved, oxygen-evolving photosystem II preparation from spinach thylakoid membranes. EPR and electrontransport properties. *FEBS Lett.* **134**, 231-234 (1981).
- Nanba, O. & Satoh, K. Isolation of a photosystem II reaction center consisting of D-1 and D-2 polypeptides and cytochrome b 559. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 109-112 (1987).

書籍例

3. Diner, B.A. & Babcock, G.T. In *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions* (eds Ort, D.R. and Yocum, C.F.) 213-247 (Kluwer, 1996)

#### 図/写真

- (1) 図、写真はグレースケールでも良い場合に は、グレースケールで作成する。カラーの図 や写真を希望する場合には、カラーの図や 写真を送付すること。図や写真の枚数に よっては、編集委員会との相談により、PDF 版ではカラーになるが、冊子体ではグレー になる場合がある。
- (2) jpg あるいは tiff 形式等で本文とは別ファイ ルとして送付すること。解像度は 300 dpi 程 度とする。

日本光合成学会「光合成研究」編集委員会 2021 年 7 月 22 日改訂

# 幹事会名簿

秋本 誠志	神戸大学大学院理学研究科	高林 厚史	北海道大学低温科学研究所
粟井 光一郎	静岡大学学術院理学領域	田中 歩	北海道大学低温科学研究所
池内 昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	田中 寛	東京工業大学化学生命科学研究所
石北 央	東京大学大学院工学研究科	田中 亮一	北海道大学低温科学研究所
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	谷口 光隆	名古屋大学大学院生命農学研究科
伊藤 繁	名古屋大学	民秋 均	立命館大学総合理工学院
井上 和仁	神奈川大学理学部	田茂井 政宏	近畿大学農学部生物機能科学科
伊福 健太郎	京都大学大学院農学研究科	都筑 幹夫	東京薬科大学生命科学部
梅名 泰史	名古屋大学シンクロトロン光研究セン	出羽 毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
	ター	寺内 一姫	立命館大学生命科学部
得平 茂樹	東京都立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
大岡 宏造	大阪大学大学院理学研究科	鞆 達也	東京理科大学理学部
太田 啓之	東京工業大学生命理工学院	仲本 準	埼玉大学大学院理工学研究科
大友 征宇	茨城大学理学部	永島 賢治	神奈川大学
大政 謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科	成川 礼	東京都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生物科学研	南後 守	大阪市立大学大学院理学研究科
	究所	西田 生郎	埼玉大学大学院理工学研究科
小俣 達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	西山 佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
垣谷 俊昭	名古屋大学	野口 航	東京薬科大学生命科学部
菓子野 康浩	兵庫県立大学理工学部	野口 巧	名古屋大学理学研究科
柏山 祐一郎	福井工業大学環境情報学部	長谷 俊治	大阪大学蛋白質研究所
金井 龍二	埼玉大学	林 秀則	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
神谷 信夫	大阪市立大学複合先端研究機構	華岡 光正	千葉大学大学院園芸学研究科
木下 俊則	名古屋大学トランスフォーマティブ生命	原 登志彦	北海道大学低温科学研究所
	分子研究所	彦坂 幸毅	東北大学大学院生命科学研究科
熊崎 茂一	京都大学大学院理学研究科	久堀 徹	東京工業大学研究院化学生命科学研究所
栗栖 源嗣	大阪大学蛋白質研究所	日原 由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
小池 裕幸	中央大学理工学部	福澤 秀哉	京都大学大学院生命科学研究科
小林 康一	大阪府立大学高等教育推進機構	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 亘	岡山大学資源植物科学研究所	牧野 周	東北大学大学院農学研究科
佐賀 佳央	近畿大学理工学理学科	増田 真二	東京工業大学生命理工学院
櫻井 英博	早稲田大学	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
佐藤 公行	岡山大学	松浦 克美	東京都立大学都市教養学部
佐藤 直樹	東京大学大学院総合文化研究科	松田 祐介	関西学院大学理工学部
鹿内 利治	京都大学大学院理学研究科	真野 純一	山口大学農学部
篠崎 一雄	理化学研究所植物科学研究センター	皆川 純	基礎生物学研究所
嶋田 敬三	東京都立大学	宮尾 光恵	東北大学大学院農学研究科
沈 建仁	岡山大学異分野基礎科学研究所	宮下 英明	京都大学大学院地球環境学堂
杉浦 美羽	愛媛大学プロテオサイエンスセンター	宗景 (中島) ゆり	関西学院大学生命環境学部
杉田 護	名古屋大学大学院情報学研究科	村田 紀夫	基礎生物学研究所
鈴木 祥弘	神奈川大学理学部	本橋 健	京都産業大学総合生命科学部
園池 公毅	早稲田大学教育学部	本橋 令子	静岡大学学術院農学領域
高市 真一	東京農業大学生命科学部	山本 善治	岐阜大学応用生物科学部
高橋 俊一	琉球大学熱帯生物圏研究センター	矢守 航	東京大学大学院農学生命科学研究科
高橋 裕一郎	岡山大学異分野基礎科学研究所	和田 元	東京大学大学院総合文化研究科

光合成研究 32 (2) 2022

#### 編集後記

今号の表紙は葉緑体を人工的に凝集させるオルガネラグルーの写真を宇都宮大学の児玉さんと市川 さんに提供いただきました。本編では、前回の表紙を飾った「シアワセモ」が属するボルボックス目緑 藻の光行動に関するトピックス記事、第11回日本光合成学会年会の学会賞受賞の研究紹介とシンポジ ウム「光合成の誕生・進化・退化」の5報の解説特集を掲載しています。

成川さんから引き継いだ編集委員と編集長はこの号が最後となり、次期編集長の古本さんにバトン タッチします。表紙を担当した2年間と編集を担当した2年間、日本光合成学会年会の学会誌「光合 成研究」が長く皆様の手元に置いてもらえるものになるよう願って仕事させていただきました。編集 を通じて光合成研究の領域の広さと面白さを再認識し、この領域の研究者と常につながっていること を改めて感じることができました。いろいろと助けていただいた編集員や事務局の方々、素晴らしい 原稿を提供してくださった執筆者の方々、快く査読を引き受けてくださった研究者の皆さまに感謝し ています。

来年度から「光合成研究」は年 2 回の発行となります。研究紹介や解説記事を随時受け付けており ますので、奮ってご投稿ください。また表紙の写真や絵も募集していますので是非ご投稿ください。

編集長・宗景 ゆり (関西学院大学)

#### 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。

O 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、編集長の宗景 (munekage@kwansei.ac.jp) までご連絡ください。

#### 「光合成研究」編集委員会

編集長	宗景	ゆり(関西学院大学)
編集委員	高林	厚史(北海道大学)
編集委員	古本	強(龍谷大学)
編集委員	高橋	俊一(琉球大学)

#### 日本光合成学会 2022年度役員

会長	久堀 徹(東京工業大学)	
事務局長	園池 公毅(早稲田大学)	
事務局	高林 厚史(北海道大学)	IT担当
常任幹事	菓子野 康浩 (兵庫県立大学)	
常任幹事	矢守 航 (東京大学)	
常任幹事	藤田 祐一(名古屋大学)	
常任幹事	沈 建仁(岡山大学)	
常任幹事	彦坂 幸毅(東北大学)	
常任幹事	野口 航(東京薬科大学)	
常任幹事	増田 真二(東京工業大学)	年会 2022年,光生物学協会
常任幹事	粟井 光一郎(静岡大学)	年会 2021年, WEB担当
常任幹事	成川 礼(東京都立大学)	年会 2021年, 前編集長
常任幹事	宗景 ゆり (関西学院大学)	編集長

会計監査 小俣達男(名古屋大学)選挙管理委員 和田 元(東京大学)・増田 建(東京大学)

光合成研究 第32巻 第3号 (通巻95号) 2022年12月31日発行

### 日本光合成学会

〒226-8503 横浜市緑区長津田町 4259 番地 R1-8
東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所 久堀徹 研究室内
TEL: 045-924-5234
FAX: 045-924-5268
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



# 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。





- ・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
- ・高い光強度

励起光:最高光強度、3,000 µ mol/m<sup>2</sup>.s. 飽和光:最高光強度、7,500 µ mol/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

# JTS-150 光合成電子伝達反応解析装置 🔨 💴 🗠

JTS-150 Photosynthesis Spectrometer

スマートランプかマルチLEDを使用すると、1回の実験実行中にリアルタイムで最大8つの 波長の制御を提供します。複数波長制御により、単一の実験セットアップで複数の同時ま たは多段階反応を表示できます。どちらのモジュールでも、マイクロ秒単位で波長を切り 替えることができます。







450nm,517nm,546nm,554nm,563nm,574nm,705nm,740nm Fluorescence(NPQ,OJIP,Fv/Fm),ECS, Cyt b6f, Plastocyanin, P700 applications

# 長年の植物育成研究のハード&ソフトの成果を新たな発展の基盤に





....

......

# LED光による植物育成・研究支援機器



光量や波長だけではなく、パルス発光など様々な 面で光合成研究に最適な光環境を実現します。 また、高光量モデルの充実化に伴い、ストレス実 験などのニーズにもお応えいたします。

### 赤色パネルの光量を従来比約3倍に大幅アップ!



### 赤色光(660nm) ------- 最大 1,000 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 青色光(470nm) ------- 最大 800 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>

参考PPFD:光源パネルより100mm下にて測定

シーシーエス株式会社 施設園芸課 〒602-8019 京都市上京区室町通出水上ル近衛町33番地 TEL:075-415-2101 FAX:075-432-0101 URL: http://www.ccs-inc.co.jp / E-mail:agri-biotech@ccs-inc.co.jp



- •野外でも屋内でも安定制御環境下で植物の光合成測定。
- ガス交換とクロロフィル蛍光の同時測定により、わかることがあります。
- 葉温度と湿度、CO₂濃度、光強度を広範囲で自在コントロールし光合成測定。
- 高速での安定環境制御を実現した革新設計。
- シンプルな操作で、どなたでも簡単測定。

従来装置(LI-6400シリーズ)からの 改良点 チャンバー内湿度自動制御: 相対湿度0~90℃ 葉温度での広域温度制御: 外気温±10℃ 直感的操作が可能な、大型カラータッチスクリーン



