

## テトラピロール研究の最新動向 ICTPPO2009参加報告

京都大学大学院人間・環境学研究科  
土屋 徹

## 1. はじめに

平成21年7月26日から7月31日にかけて、アメリカのカリフォルニア州にあるアシロマで International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors of Photosynthetic Organisms (ICTPPO) 2009 が開催されました。会場であるアシロマ会議場は、サンフランシスコからリムジンバスに乗って3時間ほど南に下ったモントレイの海岸沿いに位置しています。アシロマといえば、1975年に開催されたアシロマ会議があまりにも有名ですので、筆者は今回彼の地を訪れることを楽しみにしていました。蒸し暑い日本から行ったせいか、現地の気候は大変心地よく感じられました。最高気温は20℃ほどで日中は半袖でも十分くらいでしたが、朝と夜には上着が必要なほど冷え込みました。参加者は敷地内に点在するロッジに宿泊しましたが、基本的にインターネットに繋がらない環境でしたので、無線LANに接続できる受付の建物には常に人々が集まっており、難しい顔をしてノートパソコンに向かっている光景が見られました。

話は本題に戻りますが、本国際会議はその名のとおりテトラピロール研究に焦点を絞ったもので、一年おきにクロロフィルとヘムおよびビリリンに関する研究



アシロマ会議場の入口

者が集い、代謝から立体構造解析まで幅広い分野の発表が行われます。筆者は、前回京都で開催された際には、運営のお手伝いをしながら参加していましたが、今回は最近開発したアカリオクロリスでの遺伝子導入法を基にした研究成果を発表するために参加しました。参加者リストをながめると、地元アメリカからの参加者が一番多かったのですが、全参加者79人の中で日本人は15人であり、日本からの積極的な参加がうかがえます。会議は Robert Blankenship 博士の講演に始まり、Thomas Moore 博士の講演で幕を閉じました。筆者は本稿で、会議全体での発表・講演から見えてきた、最近のテトラピロール研究の動向について簡潔にまとめたいと思います。なお、項目によって筆者の理解度に差がありますので、予めご了承下さい。

## 2. クロロフィル関連

テトラピロール研究の中でもクロロフィルは重要な研究対象の1つであり、多くの発表がありました。まず、日本人ではテトラピロールの分解とその制御についてのセッションで田中歩先生(北大)が講演されました。田中先生の講演を聴く機会は比較的多いのですが、毎回新しい話題が追加されています。今回の講演での3つのトピックのうち、櫻庭康仁さん(北大)がポスターで発表したクロロフィルドaオキシゲナーゼ(CAO)を過剰発現させたシロイヌナズナが“stay green”の表現型を示すという話題が初めて聴く内容でした。結果の解釈は非常に難しいのですが、高等植物ではクロロフィルbがクロロフィルaを介さずに直接分解されることはないので、クロロフィル分解の制御機構を解明する端緒となるかも知れないと思いました。また、民秋研究室の岡本千寛さん(立命館大)が、クロロフィル分解産物についての発表を行っていました。ただでさえ研究者人口の少ない分野で、今回バナ

\* 連絡先 E-mail: ttsuchi@bio.mbox.media.kyoto-u.ac.jp



敷地内の様子

ナシの皮のクロロフィル分解産物について発表した Bernhard Kräutler 博士のグループなど海外での研究が盛んなように感じていましたが、日本でも研究が進んでいることを心強く思いました。Bernhard Grimm 博士はシロイヌナズナで、グルタミル tRNA 還元酵素 (GluTR) と結合するタンパク質 (GluTRBP) を同定・解析した結果を発表していました。GluTRBP の過剰発現株はプロトポルフィリンIXの蓄積を増加させ、逆にMg-プロトポルフィリンIXモノメチルエステルの蓄積を減少させるとのことです。クロロフィル代謝に関わる酵素のほぼ全てが判明した現在では、このように、酵素と相互作用して代謝の制御に関与するであろうタンパク質が、今後の標的となるのではないかと考えられます。一方、分子遺伝学的な解析も有効な手法の1つと思われれます。クラミドモナスでは、半世紀ほど前から暗黒下で黄色くなる $\gamma$ 変異体の存在が知られていましたが、いくつかの $\gamma$ 変異体ではプロトクロロフィリド還元酵素のLサブユニットの蓄積に影響があることがこれまでに判明しています。Krishna Niyogi 博士は新たな $\gamma$ 変異体を単離し、その解析結果について発表していました。このような解析もクロロフィル代謝の制御機構の解明に繋がってゆくのではないかと思います。その他の発表で筆者が感じたのは、クロロフィル生合成の中間体に結合するタンパク質について注目が高まっているということです。Mg-プロトポルフィリンIXなどに結合するGUN4についての発表もいくつかありましたが、クロロフィル分解に関与するとされるRCC還元酵素がミトコンドリア内でプロトポルフィリンIXと結合することで一重項酸素の発生を抑制して植物を細胞死から防御する役割があるのではないかと発表もありました。増田建先生 (東

大) が進めているヘム結合タンパク質も含めて、ポルフィリン結合タンパク質の解析が、今後の重要なテーマの1つとなりつつあるように思います。

### 3. 光受容体

Clark Lagarias博士が主催者ということもあり、今回はフィトクロムなどの光受容体を含めてピリン関連の発表が例年よりも多くありました。フィトクロムについては、日本人では稲垣言要博士 (農業生物資源研) が、イネの*phyB*変異体の解析をクロロフィル代謝と関連付けて発表されていました。光受容体とクロロフィル代謝という、本会議の2つの大きなテーマの交点となるものです。また、近年発見されたシアノバクテリアのフィトクロム様光受容体であるシアノバクテリオクロムについては、色素を結合するGAFドメインをピリン合成遺伝子と共発現させて得た産物の解析が多く見受けられました。池内昌彦先生 (東大) の研究室からは、成川礼先生 (東大) が *Anabaena* sp. PCC 7120 の AnPixJ の立体構造の解析を、石塚量見さん (東大) は *Thermosynechococcus elongatus* の TePixJ の機能解析を、広瀬侑さん (東大) は *Nostoc punctiforme* での *ccaS* 遺伝子の機能解析を発表していました。また、徳富哲先生 (大阪府大) は *Synechocystis* の PixJ1 の低温分光解析の結果を発表されていました。シアノバクテリオクロムについては、Clark Lagarias 博士のグループもいくつか発表しており、蛍光タンパク質としての応用面も含めて、現在ホットな研究対象であることがわかります。

### 4. ピリン関連

最近、研究が進展しているピリンのリアーゼについては、今回の参加者では Donald Bryant 博士のグループが *Synechococcus* sp. PCC 7002 のリアーゼについて全て同定したと発表していました。しかし、個人的には導入する遺伝子の組み合わせにより、フィコシアニンのアポタンパク質である CpcA に 6 種類のピリンを結合させたフィコピリンタンパク質を大腸菌で合成させた研究にも興味を抱きました。天然に存在するピリンの他にも、フィトクロモピリン合成酵素と PecEF との組み合わせにより新奇なピリンが合成され CpcA に取り込まれることも示していましたが、とにかくそれぞれのフィコピリンタンパク質の色が鮮やかで、並べた写真を見ているだけでも楽しく飽きませんでし

た。また、ビリンの合成酵素としてフェレドキシン依存性ビリン還元酵素のファミリーが存在していますが、それらの立体構造の解析についても発表がありました。2006年に初めてビリン還元酵素の立体構造の報告を行った、福山恵一先生（阪大）の研究室の萩原義徳さん（阪大）がそのフィコシアノビリン合成酵素について発表し、杉島正一先生（久留米大）がフェレドキシン依存性ビリン還元酵素と有意な相同性を示す、RCC還元酵素についての成果を発表されました。フィコシアノビリン合成酵素については他にもいくつかの発表があり、精力的に解析が進んでいるように感じました。

### 5. プラスチドシグナル

1990年代に入って、プラスチドから核への情報伝達について解析が進み、多くの興味を持たれてきました。その結果、レトログレードシグナルの一つとして、クロロフィル合成の中間体であるMg-プロトポルフィリンIXがシグナル分子ではないかと考えられてきました。*gun*変異体を単離し解析を行っている Joanne Chory 博士の講演では、これまでの*gun*変異体に加えて、アクチベーションタギングによって得た変異体の解析結果についても発表していました。その結果をポルフィリン代謝に注目してまとめると、Mg-キ

ラターゼのHサブユニットおよびDサブユニット、ヘムオキシゲナーゼ、フィトクロモビリン合成酵素、ポルフィリン結合タンパク質であるGUN4の変異とFe-キラターゼ1の過剰発現が*gun*の表現型を示すということで、これらはプロトヘムの蓄積量の変動にも影響を与える可能性のある変異のようにも解釈できます。昨年、望月伸悦先生（京大）や Alison Smith 博士が、定常状態でのMg-プロトポルフィリンIXのレベルが、*Lhcb*の発現に見られるプラスチド-核シグナルとは関連がないことを示したことを考慮すると、シグナル分子の実体を解明するためには、これまで見過ごされていたプロトヘムについても精査する必要があるように考えられました。また、参加者の中にも遊離のプロトヘムの量を気にしている人達がいるように感じました。今回は高橋重一さん（東大）が発表していましたが、近年プロトヘムの高感度定量系を開発し続けている増田先生の成果が今後の解析において重要な手法となるのではないかと思います。

### 6. 蛍光タンパク質

昨年、GFPの研究でノーベル化学賞を受賞した Roger Tsien 博士が参加していたことからわかりますが、色素タンパク質を蛍光タンパク質として応用することを目的とした研究の発表も多く見られたのが特徴



集合写真

的でした。植物のフィトクロムの応用を試みる研究は以前からありましたが、近年発見された*Deinococcus radiodurans*由来のバクテリオフィトクロムは発色団としてピリベルジンを利用するため、より広い生物種での応用が可能で、さらに改変により蛍光極大波長を長波長側にシフトさせることで、新奇な性質の蛍光タンパク質として期待されているようです。また、上述したシアノバクテリオクロムについても、応用面での研究が進んでいるようです。Roger Tsien 博士の講演では興味深いGFPの誘導体が紹介されていました。sosGFPと名付けられた一重項酸素特異的に応答する誘導体で、タンパク質間の相互作用の解析に利用することを考えているようです。標的タンパク質にバクテリオフィトクロム由来のプロトポルフィリンIX結合領域を融合させ、光の照射により一重項酸素を発生させると、寿命の間に拡散する範囲内 (~100 nm) にsosGFPを融合させたタンパク質が存在していれば検出できるというもので、FRETでの有効な範囲 (6-8 nm) よりも広く色素の配向にも依存しないことが特徴のようです。光合成生物でもこのような手法が利用可能なのかについてはわかりませんが、逆にsosGFP自体を光合

成研究に応用することが出来ないものかと思いました。

## 7. おわりに

筆者のわかる範囲で最近の動向をまとめてみましたが、テトラピロール研究といっても、上記のとおり研究対象から手法までかなり多岐に渡っています。今回ICTPPO2009に参加して、日本人研究者が切り開いてきたオリジナルな研究も多いということを改めて感じました。競争の激しい分野もありますが、さまざまな生理現象との関連や応用面での利用も含めて、テトラピロール研究はこれからも重要な研究領域であり続けるだろうと確信しました。次回は、Alfred Holzwarth 博士とNicol Frankenberg-Dinkel 博士が主催してドイツで開催されるということです。

*Received November 10, 2009, Accepted November 11, 2009, Published December 31, 2009*

## Trends in Tetrapyrrole Research: Report on ICTPPO2009

Tohru Tsuchiya\*

Graduate School of Human and Environmental Studies, Kyoto University