

光合成研究

第20巻 第2号 (通巻58号) 2010年8月

NEWS LETTER Vol. 20 NO. 2 August 2010
THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

トピックス	ゲノム世代のタンパク質複合体解析		
		高林 厚史 (北大)	60
トピックス	光合成微生物は資源・エネルギー分野で人類に貢献できるか？ —生産性を規定する諸要因の分析—		
		小俣 達男、藤田 祐一、前田 真一 (名大)	65
研究紹介	炭素安定同位体法を用いた葉内CO ₂ コンダクタンスの測定	田副 雄士 (京大)	72
解説特集「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」			77
序文			
		永島 賢治 (首都大東京)	78
解説	光合成細菌を利用する研究の今後を考える	嶋田 敬三 (首都大東京)	79
解説	光栄養細菌の多様性 —ゲノムおよびメタゲノム解析から見えてきたもの—		
		平石 明 (豊橋技術科学大)	84
解説	巨大アンテナ系クロロソームを構成するバクテリオクロロフィル分子： その生合成の解明と今後の展開		
		原田 二郎 (久留米大)、大岡 宏造 (阪大)、民秋 均 (立命館大)	93
解説	緑色硫黄細菌の非循環型の光合成電子伝達系		
		塚谷 祐介 (ペンシルバニア州立大)、浅井 智広、大岡 宏造 (阪大)	100
解説	紅色光合成細菌における光捕集タンパク質の多様性		
		大友 征宇 (茨城大)	109
報告記事	第1回日本光合成学会年会およびシンポジウム開催報告		
		小林 正美 (筑波大)、西田 生郎 (埼玉大)	118
報告記事	第1回日本光合成学会シンポジウムポスター賞受賞者		120
報告記事	日本光合成学会「若手の会」活動報告ならびに第3回セミナー開催のお知らせ		
		成川 礼 (東大)	121
報告記事	第2回光合成学会若手の会セミナーに参加して		
		渡部 和幸 (京大)	122
集会案内	第2回日本光合成学会年会およびシンポジウム開催予告		123
集会案内	第70回分子科学国際研究会「光合成によるエネルギー変換機構の分子レベルでの 解明と将来の展望」の案内および演題募集・事前参加登録のお知らせ		
			124
事務局からのお知らせ			124
日本光合成学会会員入会申込書			125
日本光合成学会会則			126
幹事会名簿			128
編集後記			129
記事募集			129
日本光合成学会 会員名簿			130
賛助法人会員広告			

ゲノム世代のタンパク質複合体解析

北海道大学 低温科学研究所
高林 厚史*

1. はじめに

筆者は4回生として研究室に所属して以来、タンパク質複合体の解析に携わってきた。振り返ってみると、LC-MS/MS解析がこの分野に及ぼした影響は大きいと改めて感じている。

LC-MS/MS解析の大きな利点としては、1)サンプルが微量であってもタンパク質が同定できること、2)複数のタンパク質が混ざっているサンプルを解析に用いても、そのタンパク質群の網羅的な同定が可能であること、の2点が挙げられる。

一般にモデル植物は、ゲノムサイズが小さい、ライフサイクルが短い、サイズが小さく栽培が容易、形質転換が容易、近縁種に重要な作物がある、などの利点を持っている。その一方で、生化学的な精製材料には適していないと考えられていた。しかしLC-MS/MS解析が利用できればその欠点は克服可能であるため、タンパク質の複合体解析の分野でも、モデル植物の利点を生かした多角的なアプローチが、より強力なものとなってきた。

タンパク質は1つ1つに個性があり解析のマニュアル化が難しいことから、筆者の世代は諸先輩方と比べると生化学が苦手な印象がある。その一方で、変異株を利用した遺伝学的な解析や分子生物学的な手法/ツール、データベース解析等の利用には積極的である。

本稿の前半では筆者自身の研究を振り返りながら、「ゲノム世代的な」タンパク質複合体解析について考えてみたい。また本稿の後半では、タンパク質複合体解析にとって有用な技術であるBlue Native PAGE (BN-PAGE)の実践的なTipsを紹介する。

2. ゲノム世代のタンパク質複合体解析とは？

ここでは、葉緑体NAD(P)H Dehydrogenase (NDH)複

合体のサブユニット組成を明らかにするための筆者自身の2つのプロジェクトの結果を踏まえて、「ゲノム世代的な」タンパク質複合体解析について考察する。

NDH複合体について

筆者のこれまでの主な研究対象は葉緑体のNDH複合体である。これは葉緑体ゲノムコードの11のサブユニット(ndhA-ndhK)と核ゲノムコードのサブユニット群から構成される巨大な複合体であるが、研究を始めた当時(1997年)には核ゲノムコードのサブユニット群は見つかっておらず、その同定は大きな懸案であった。

C₄植物のアマランサスを用いたNDH複合体の分離・精製(1999年~2003年)

まず葉緑体単離と材料の入手が容易なホウレンソウを材料として、NDH複合体を精製しようと試みた。しかし、予備実験の結果、N末端解析に十分な量を確保するのが難しいと判断した。そこで、実験材料を変えることにした。

NDH複合体の蓄積量はC₄植物で多いことが知られている¹⁾。筆者はC₄植物の中でも葉肉細胞でNDHが高蓄積するNAD-ME型植物¹⁾がNDH精製の材料としては理想的ではないかと考えた。そこで目を付けたのがアマランサスである。アマランサスはNAD-ME型のC₄植物であり、葉野菜として市場に出回っているため、精製材料として優れていると判断した。

まず、指導して頂いていた京都大学大学院・遠藤剛先生の車で農協に行き、毎回12kgのアマランサスの葉を購入した。そして研究室に戻るとすぐに葉緑体を単離し、タンパク質精製を試みた。

様々な試行錯誤を行ったが、最終的な実験条件は以下の通りである。まず、マイルドな界面活性剤である

* 連絡先 E-mail: takabayashi@pop.lowtem.hokudai.ac.jp

n-Dodecyl-beta-D-maltoside (DM)でNDH複合体を可溶化し、カラムクロマトグラフィで粗精製した。次に、複合体を Blue-Native PAGE で分離し、nitroblue tetrazolium chloride (NBT)で活性染色を行った。最後に、染色されたバンドを切り出してSDS-PAGEを行った。しかし、銀染色で検出できる程度の量のバンドしか得られず、N末端解析に十分な量を確保できなかった。

もしLC-MS/MS解析が使える環境であれば、同じC₄植物であってもアマランサスではなく、(NADP-ME型であるとはいえ)ゲノム解読が進んでいるトウモロコシを選択しただろう。実際、コーネル大学の研究グループはトウモロコシのプロテオーム解析により、NDH複合体の新規サブユニット群の網羅的な選抜に成功している²⁾。

シロイヌナズナを用いたバイオインフォマティクスによる探索 (2003年~2006年)

この研究を始めたのは博士後期課程3年の秋頃であった。

この頃NDH複合体の未同定サブユニット群を見つけ出すためにバイオインフォマティクスが利用できないかと、論文や本を読んだり、セミナーに出たりしていた。そこで覚えた様々な手法を試してみた結果、1) 系統プロファイル法と2) 共発現プロファイル法が有望であると判断し、その2つの手法で候補遺伝子を絞り込んだ。

系統プロファイル法は、あるタンパク質のオーソログがどの生物種のゲノムで保存され、どの生物種のゲノムで保存されていないかを調べることで、そのタンパク質の機能を推測しようとする手法である。NDH複合体であれば、モデル植物のシロイヌナズナやイネには存在するが、モデル藻類のクラミドモナスやシズンでは失われている。そのため、相同性検索をして、そのような分布になるタンパク質群を探せば良いことになる。

一方、共発現プロファイル法は、発現プロファイルが類似した遺伝子同士はその生理的な機能も関連している可能性が高いことを利用して、未知遺伝子の機能を推測しようとする手法である。特に光合成遺伝子については発現プロファイルと機能の相関が高く、この手法は効果的であった。また候補遺伝子の選抜には、大林武先生(現:東北大)によって作られたATTED-

IIデータベース(<http://atted.jp/>)を利用させて頂いた。

2つの手法で選抜した候補遺伝子群について、T-DNA挿入変異株ラインを入手しNDH活性を測定した結果、幸運にも高確率でNDH活性を失った変異株ラインが存在した。さらに、それらNDH活性を失った変異株を個別に解析した結果、それら変異株の原因遺伝子は、新規なサブユニット群 (NDF1, NDF2, NDF4, NDF5, NDF6, PPL2)をコードしていることが明らかになった³⁻⁶⁾。

この研究はシロイヌナズナのゲノムが完全解読されていること、また公開マイクロアレイデータが蓄積していること、T-DNA挿入変異株が容易に入手できることなど、モデル植物ならではのインフラに大いに助けられた。筆者自身も何らかの形でコミュニティに恩返しをしたいと強く感じている。

ゲノム世代のタンパク質複合体解析とは

ゲノムリソースが充実した植物種においては、LC-MS/MS解析を利用することで、高感度でのタンパク質同定が可能である。N末端解析とLC-MS/MS解析の感度の差は非常に大きく、また、複数のタンパク質を含む粗標品サンプルを用いても網羅的にそのタンパク質群を検出できるため、シロイヌナズナのようなサイズの小さなモデル植物で生化学的な解析を行うことも現実的になった。

事実、筆者は、LC-MS/MS解析の専門家である北海道大学低温科学研究所共同研究推進部の桑野晶喜さん、低温研微生物生態学グループの笠原康裕先生と共同で、シロイヌナズナのチラコイド膜プロテオーム解析を行い、既知のNDHサブユニットの相当数を同定できた。複雑な心境である。

MS解析技術の発展により、モデル植物の利点、例えばゲノムリソースや変異株リソース、遺伝子組み換え技術等、を活かしたタンパク質複合体解析が非常に有効なアプローチになった。バイオインフォマティクスを利用したアプローチはその一例であるといえる。

近い将来、DNAシーケンサーの能力がさらに向上しゲノム解読や大量のEST配列の入手が容易になれば、非モデル植物でもこのようなアプローチが有効となるだろう。

3. BN-PAGEのTipsの紹介

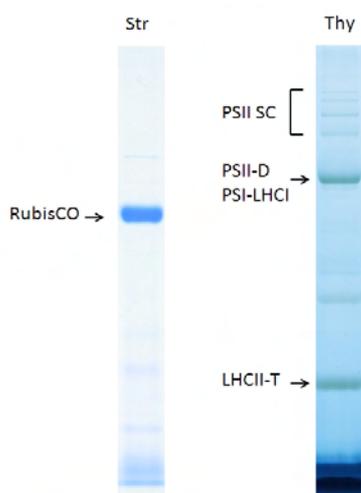


図1 BN-PAGEによりストロマトタンパク質を泳動し、CBB染色したゲル (Str)およびチラコイド膜タンパク質を泳動したゲル (Thy)

Strにおいて、最も量の多いバンドはRubisCOの8量体。Thyにおけるバンドは、上から、光化学系IIの超複合体 (PSII SC)、光化学系IIの二量体 (PSII-D)と光化学系I-LHCI超複合体(PSI-LHCI)の両方を含むバンド、LHCIIの3量体 (LHCII-T)。

BN-PAGEとは

Blue Native PAGE (BN-PAGE) はNativeな構造を保ったままタンパク質複合体を高解像で分離する手法である。CBB G-250をタンパク質に結合させてから泳動するため、通常のNative PAGEと違い、泳動度は分子量にはほぼ比例する。最初はミトコンドリアの呼吸鎖複合体の解析によく用いられたが、最近では光合成研究でもよく用いられる。筆者は10年ほど前から利用しており (図1)、本稿ではその過程で蓄積したTipsを紹介したい。

BN-PAGEのTips

基本的なプロトコル

著者はBN-PAGEの創始者である Schagger のプロトコルを基本的に踏襲している⁷⁾。特に、Nature Protocolsに掲載されたプロトコル⁸⁾は非常に丁寧に書かれた実践的なプロトコルで、初めてBN-PAGEを行う人にもお勧めできる。

Buffer作成

使用するbufferのpHは4°CでpH 7.0になるように調製している。

泳動bufferやゲルbufferでは従来使われていたBis-Trisの代わりにImidazoleが利用可能である⁸⁾。後者の方が安価なので、筆者はそちらを利用している。

また、Cathode bufferにCBBを添加したbufferを作成する際には、CBBを溶液に添加後、室温で2時間以上攪拌し、さらに0.45 μmのフィルターでろ過した後、泳動に用いている。

グラジエントゲルの作成法

筆者は長い針 (テルモスパイラル針 SN-2090)をミニゲル (ATTO AE-6530M) のゲル板の下の方まで差し込み、アクリルアミド濃度が薄い溶液から入れ始め、少しずつ濃くすることでグラジエントゲルを作成している (図2A, B)。アクリルアミド濃度の高い溶液の方が、よりGlycerol濃度が高く比重が重いこともあり、濃度が薄い方の溶液が少しずつ上に浮いていく。濃い溶液から入れ始めて軽い溶液を上に乗せていく手法と比べると、こちらの方が綺麗なグラジエントを形成しやすく、是非お勧めしたい。

なお、グラジエントゲルの作成中にゲルが固まらないためには、ゲル溶液をよく冷やす必要がある。筆者はそれに加えて、低温室でゲルを作成するか、もしくはゲルの作成中はシステム全体、特にグラジエント



図2 BN-PAGEのグラジエントゲルの作成装置

(A) ペリスタポンプの片側のチューブの先をグラジエントメーカーと接続し、ペリスタポンプのもう一方のチューブの先をスパイラル針に接続し、その針の先をゲル板の底に固定している。グラジエントメーカーの中にスターラーバーを入れ、マグネティックスターラーを用いて攪拌している。攪拌時に熱が出るため、グラジエントメーカーは水で冷やしている。

(B) ゲル板に差し込んだスパイラル針の拡大図。針先端のカット面をゲル板の内側に向けている。

メーカーを（マグネティックスターラーが熱源になるため）氷などでよく冷やしている（図2A）。過硫酸アンモニウムの添加量を減らすことで、室温でグラジエントゲルを作成することもおそらく可能と思われるが、筆者自身は試していない。

また、BN-PAGEの後でMS解析を行う場合には、市販の高純度のアクリルアミド溶液を利用してゲルを作成し、室温で一晩以上固めている。

サンプル調整

筆者は、シアノバクテリア、葉緑体、ストロマ、チラコイド膜などのサンプルを泳動している。比較的クルードなサンプルでも泳動可能だが、経験上精製度が高いサンプルの方がトラブルは少ない。クルードなサンプルの場合には特に塩濃度に気をつける（低くする）必要があるが、例えば核酸なども泳動の妨害になる。

膜タンパク質の可溶化にはDMを利用している。典型的には、10 μ g~40 μ g程度のタンパク質サンプル（チラコイド膜であれば、おおよそ 4 μ g~8 μ g chl 相当量）に対して、2% (w/v) のストックを等量加えて5分程度氷上に静置した後、遠心分離し、その上清にCBBストック溶液を加えて泳動に用いている。添加するCBBストック溶液はあらかじめフィルターを過し、4°Cに保存している。なお、可溶性タンパク質（ストロマ画分など）の場合には必ずしもCBBをサンプルに加える必要はない。

サンプルの保存

チラコイド膜についてはよく泳動に用いるため、単離後、小分けして保存している。具体的には、まず遠心して上清を除き、そのペレットを液体窒素で凍らせた後、-80°Cで保存している（~1ヶ月）。その後解凍した後にDMで可溶化し、その後泳動に用いているが、少なくとも光化学系超複合体やNDH複合体などの泳動パターンについては凍結前後での変化は見られない。

電気泳動条件

泳動条件は基本的にはプロトコルに従っているが、サンプル調整に時間がかかる場合にはovernight 泳動も行っている。例えば、50Vの定電圧で10時間程度、低温室で泳動している。個人的には、overnight泳動の

方が、泳動像が綺麗であるように感じている。ただし、この条件では泳動中に電流が 1 mA を下回るため、パワーサプライによってはエラーが出るので注意が必要である。

ゲルをウエスタン解析に用いる場合には、1/3~1/2ほど泳動が進んだ段階でCBB-freeのCathode bufferに交換している。これはCBBがブロッキングを妨害するためである。

泳動後のゲルの保存

泳動後のBN-PAGEのゲルは 50% glycerol 液で平衡化した後、適当量の 50% glycerol 液と一緒にハイブリバッグに入れることで、-80°Cで保存することが可能である。この後で、例えば二次元SDS-PAGEを行っても、凍結保存に伴うバンドの変化は（CBB染色でも銀染色でも）見られない。さらに、このように保存したゲルはMS解析にも利用可能である。

泳動後の実験について

著者は、泳動後のゲルをCBB染色、ウエスタン解析、LC-MS/MS解析、活性染色、二次元SDS-PAGEなどに用いている。BN-PAGE後のタンパク質複合体は構造のみならず、活性を保っていることが多く、これ以外にも様々な利用法が可能であると思われる。

4. おわりに

LC-MS/MSについては機種依存性が大きいため、本稿ではあまり取り上げませんでした。興味を持たれた方は、例えば「明日を拓く新次元プロテオミクス-医学生物学を変える次世代技術の威力（細胞工学別冊）」が参考になると思います。

BN-PAGEに関して、また、この記事の内容全般に関して、ご意見やご質問がありましたら、どうぞお気軽にお問い合わせください。わかる範囲で、お答えさせていただきます。

謝辞

京都大学の遠藤剛先生、低温科学研究所の桑野晶喜さん、そして現在所属している研究室の田中亮一先生、田中歩先生には、研究面のみならず、この原稿の内容についても貴重なアドバイスを頂きました。この紙面を借りて厚く御礼申し上げます。

Received July 7, 2010, Accepted July 22, 2010, Published August 31, 2010

参考文献

1. Takabayashi, A., Kishine, M., Asada, K., Endo, T., and Sato, F. (2005) Differential use of two cyclic electron flows around photosystem I for driving CO₂-concentration mechanism in C₄ photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 16898-16903.
2. Majeran, W., Zybailov, B., Ytterberg, A.J., Dunsmore, J., Sun, Q., and van Wijk, K.J. (2008) Consequences of C₄ differentiation for chloroplast membrane proteomes in maize mesophyll and bundle sheath cells. *Mol. Cell. Proteomics* 7, 1609-1638.
3. Ishihara, S., Takabayashi, A., Ido, K., Endo, T., Ifuku, K., and Sato, F. (2007) Distinct functions for the two PsbP-like proteins PPL1 and PPL2 in the chloroplast thylakoid lumen of Arabidopsis. *Plant Physiol.* 145, 668-679.
4. Ishikawa, N., Takabayashi, A., Ishida, S., Hano, Y., Endo, T., and Sato, F. (2008) NDF6: a thylakoid protein specific to terrestrial plants is essential for activity of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* 49, 1066-1073.
5. Takabayashi, A., Ishikawa, N., Obayashi, T., Ishida, S., Obokata, J., Endo, T., and Sato, F. (2009) Three novel subunits of Arabidopsis chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase identified by bioinformatic and reverse genetic approaches. *Plant J.* 57, 207-219.
6. Ishida, S., Takabayashi, A., Ishikawa, N., Hano, Y., Endo, T., and Sato, F. (2009) A novel nuclear-encoded protein, NDH-dependent cyclic electron flow 5, is essential for the accumulation of chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complexes. *Plant Cell Physiol.* 50, 383-393.
7. Schägger, H. and von Jagow, G. (1991) Blue native electrophoresis for isolation of membrane protein complexes in enzymatically active form. *Anal. Biochem.* 199, 223-231.
8. Wittig, I., Braun, H.P., and Schägger, H. (2006) Blue native PAGE. *Nat. Protoc.* 1, 418-428.

The Strategies for Analyzing Protein Complexes Suitable for Genome Generation

Atsushi Takabayashi*

The Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University

光合成微生物は資源・エネルギー分野で人類に貢献できるか？ —生産性を規定する諸要因の分析—

名古屋大学大学院 生命農学研究科

小俣 達男*、藤田 祐一、前田 真一

1. はじめに

化石燃料の大量消費による大気CO₂濃度の上昇を軽減するため、再生可能エネルギーの導入が進められている。微細藻類やラン藻（シアノバクテリア）を用いたバイオ燃料やバイオマスの生産も、その一翼を担うものとして注目されており、ベンチャー企業の活動や大型研究費の配分などの情報を耳にする機会も増えている。しかし、主に基礎研究の世界で活動している大半の光合成研究者にとって、エネルギー関連の応用研究と自分たちの研究の接点を見つけることは容易ではない。一部で喧伝されているように「数年以内に実用化できる見通し」なら「今更自分たちの出番でもなかろう」と感じるのも無理はない。それでいて、バイオ燃料が近い将来に燃料の主役になると信じる研究者は少ない。社会の要請・期待と基礎研究の間のギャップを知るがため、応用研究をどう位置づけるべきか、あるいは応用研究に対して自分がどのように貢献できるのか把握できない、というのが偽らざる感想であろう。本稿はこのような状況を改善するため、光合成微生物の資源・エネルギー源としての利用をめぐる問題点を整理し、各研究者が自分の研究と応用研究との距離を把握し、自ら貢献可能な領域を見定めることを助けるべく執筆したものである。

2. バイオエネルギー研究の歴史の変遷

微細藻類やラン藻が高い光合成活性を示すことから、食糧あるいはエネルギー源としての活用の可能性が古くから検討されてきた。光合成微生物由来のバイオマスあるいはバイオエネルギーへの期待は石油資源の枯渇の不安の増減とともに変動し、研究も盛衰を繰り返してきた。1980年代から1990年代にかけては「年平均で1日1 m²あたり乾物生産量 50 g」(50 gDW m⁻²

day⁻¹)が採算ラインとされていた。この数値を達成可能とする報告もあったが、それらは最適条件下での実験に基づく推計であったため、野外では実現困難な数値と判断されることとなり、研究は衰退した。その後のバイオエネルギー研究は植物バイオエタノールへと中心が移り、バイオエタノールの実用化と穀物市場への影響が話題になったのはつい先日のことである。その後、バイオエタノールと食糧資源との競合の問題から再び光合成微生物に注目が戻ることになった。以前に比べて、原油価格が上昇していることが追い風となって、15~20 gDW m⁻² day⁻¹ 程度を数値目標として研究が行われている。藻体の90%が水であると仮定し、深さ20cmの培養池を用いるとすると、20 gDW m⁻² day⁻¹ は1日1畝あたり0.1 gDW (湿重量で約1 g) の藻体生産に相当する。ラン藻や微細藻類の光合成速度から考えると、現実的なところに採算ラインが下がってきたと言えよう。

3. 培養技術上の基本的問題

石油との価格比較によって論じられることの多い「採算性」であるが、より本質的な指標として、「獲得されるエネルギー量」を「投入エネルギー」で割った比を考慮する必要がある。上述の条件で20 gDW m⁻² day⁻¹ という数値が達成できた場合、この乾燥重量がすべてデンプンであったと仮定しよう。デンプンの燃焼熱が17.4 kJ/gなので獲得されるエネルギー量は1日1リットル当たり1.74 kJである。一方、培養槽のような施設・装置類を除外すると、投入エネルギーの中で大きな割合を占めるのは、培地調製と藻体の回収にかかるエネルギーコストである。実験室では遠心分離によって細胞を回収することが多いが、この過程にはどのくらいのエネルギーが必要だろうか。電流計を見な

* 連絡先 E-mail: omata@agr.nagoya-u.ac.jp

がら操作した昔の遠心分離機と異なり、現在の遠心分離機では消費エネルギーを実測できないので、簡単な概算を試みよう。1 kg の質点が半径 10 cm で 3000 rpm の速度で回転している時、その質点の線速度から運動エネルギーを概算すると 0.49 kJ となる。ローターの重さを考慮すれば最低でもこの2倍、モーターの効率等を考慮すれば、折角獲得したエネルギーの大半は使われてしまうことになる。さらに実験室では無菌培養を維持するため、オートクレーブ（高圧蒸気滅菌）によって培地の滅菌処理を行うのが普通であるが、室温にある1リットルの培地の温度を100°C上昇させるのに必要なエネルギーは100 kcalすなわち418 kJにもなる。このことから、光合成微生物をエネルギー資源として活用するためには、無菌操作と遠心分離操作を避けることが必須であることがわかる。

4. エネルギー収支から見た商業的な藻類培養の位置づけ

我々が実験室で行っている小規模な培養とは比較にならないほどの大規模な藻類の商業的生産が実際に行われている。主なものはスピルリナ、クロレラ、ドナリエラ、ヘマトコッカスの4種類であり、スピルリナがラン藻であるのを除けば他はすべて緑藻である。これらの大量培養の技術的詳細は不明の点も多いが、メッシュで集菌できるスピルリナ以外は細胞の回収のために遠心操作を必要とする。次に無菌性については、高pH条件で増殖するスピルリナや高塩濃度条件で増殖するドナリエラの場合には、他の生物が増殖しにくいいため、無菌操作は必須ではない。しかし、他の2種では解放系で高純度の培養を維持することは困難で、無菌培養した細胞を屋外の培養槽に接種して大量培養を行っている。以上のことから、商業的な大量培養系の中でエネルギー収支の点で最も優れているのがスピルリナであることがわかる。

しかし、実際にはスピルリナですら獲得エネルギーが投入エネルギーを上回っているかどうかは疑問である。それは、培養に必要な培地成分のコストを計算してみるとわかる。特に炭素の次に必要量の多い窒素のコストが問題である。ラン藻の窒素含有量は炭素の数分の1程度と高い。ラン藻の中には空気中の N_2 を窒素源として用いる能力をもつものもあるが、スピルリナは N_2 固定能力をもたないので、アンモニアのような窒素化合物を与えねばならない。アンモニアはハー

バー・ボッシュ法によって N_2 から生産されるが、これは化石燃料を用いる工業的生産法であり、約40 kJ/gNのエネルギーが消費される^{1,2)}。上述の計算例で乾燥重量の10%が窒素だと仮定すれば、1.74 kJのエネルギーを獲得するために窒素肥料として0.4 kJのエネルギーを投入していることになる。窒素肥料は金銭的にも高コストである（後述）。現状では投入エネルギーを獲得エネルギーを上回るような大量培養系は存在しないと考えて良い。

エネルギー収支が赤字であっても、上述4種の藻類の大量培養は産業として成立している。4種の藻類のうち、スピルリナとクロレラは細胞破砕物や抽出物が錠剤の形で販売されている。ドナリエラとヘマトコッカスはカロテノイドが有用成分として抽出、利用されている。これらは健康食品としての利用であり、高付加価値商品として高価で販売される。経済的収支が赤字であれば、資源・エネルギーとしての収支が赤字であっても問題はない。窒素のコストが高いことを生産コスト上の問題として指摘したが、実は、窒素を多く含むことが健康食品としてのスピルリナやクロレラの商品価値を高めている。資源・エネルギー的価値と経済的価値の違いを理解しておくことが重要である。

5. 光合成微生物の弱点は何か？

光合成微生物は光合成能力が高く、増殖が速いのは事実である。最短では2時間の世代時間で増殖するものもあり、世代時間4時間、日照時間が12時間としても、1日当たりで数倍程度のバイオマス増加を期待できる。我々はこの事実を根拠にして藻類の高等植物に対する優位性を論じてきた。しかしそれならば、植物性バイオエタノールが既に実用化されたのに、藻類を材料とするエネルギー資源が実用化されていないのはなぜか？アメリカのように農業への化石エネルギー投入の大きい国でさえ、トウモロコシを原料としたバイオエタノール生産では、獲得エネルギーと投資エネルギーの比は1.3であり、エネルギー収支上は赤字とされている³⁾。藻類由来のバイオ燃料はこのレベルに達していない。この事実の陰には高等植物の微細藻類やラン藻に対する優位性、見方を変えれば「光合成微生物の弱点」が隠されている。これらの弱点を理解し、ひとつずつ問題を解決してゆくことが、光合成微生物から資源・エネルギー的価値を引き出すために重要であるので、以下に順次検討したい。

5-1. 他生物の影響

植物は病原菌の侵入や繁殖を妨げたり、ウイルスの拡散を抑止する機構をもっており、種子を殺菌することはあっても生育期間を通じて無菌性を気にする必要はない。病害や虫害を防ぐための措置をとることはあるが、遺伝子組換えによる省エネルギー的な防除法も実用化されている。さらに除草剤耐性の遺伝子組換え植物を利用することによって、雑草の影響を効果的に排除することに成功しており、生産過程への投入エネルギーの削減が確実に進みつつある。これに対して藻類やラン藻の培養では無菌操作が重要であることは上記3.で述べたとおりである。長い歴史の中で病原菌やウイルスの挙動が研究され、対策が講じられてきた植物とは異なり、光合成微生物に及ぼす「コンタミ」の本質的影響についての情報は少なく、効果的対策も立てにくい。幸いなことに、既に述べた好アルカリ性の *Spirulina (Arthrospira)* 属のラン藻や好塩性緑藻 *Dunaliella salina* 以外にも酸性pH領域で増殖する軽油産生緑藻 *Pseudochoricystis ellipsoidea* や好熱性のラン藻など、他の生物の増殖しにくい環境で優先的に増殖する種があるので、これらの性質を利用して無菌操作を避けることが重要である。

5-2. バイオマスあるいは有用生産物の回収コスト

次にバイオマスや有用産物の回収について考えてみよう。耕作地からの植物の収穫は比較的容易である。果実、種子、塊茎、塊根のように有用物質が濃縮・集積されている部位のみを簡便に集められることも多い。植物には、光合成の場である葉から貯蔵器官へと光合成産物を輸送して集積する性質があり、この性質が大いに役立っているのである。これに対して光合成微生物は光合成の産物をまず細胞分裂のために用いる。増殖した細胞の回収には3.でも述べたように遠心操作を必要とする場合が多い。この点について、唯一実用的な回収方法があるのがスピルリナである。スピルリナは細胞が大きく、螺旋状の形態をもっている。この2点が細胞の回収の容易さと関係があることは間違いないが、この性質を他の光合成微生物に賦与するにはどのようにしたらよいかは、未解明である。最近 *Spirulina (Arthrospira) platensis* のゲノム配列が決定されたが、この中から関連情報が得られるかどうか注目したい⁴⁾。

バイオマスの回収の困難さを回避する有効な方法は、有用生産物を細胞から放出させ、バイオマスから分離して回収することである。有用生産物として水素ガス⁵⁻⁷⁾やエチレン^{8,9)}のような気体の生産を目指す研究はその典型的なものである。油脂生産を目的とする研究においても、細胞から生産物を分離させる方向で研究が進められている¹⁰⁾。さらに光合成の生産力をなるべく有用物質の生産に振り向け、細胞数の増加を抑えることができれば、バイオマス回収のコストだけでなく、窒素源のコストも低減できるであろう(5-3参照)。N₂固定能力をもつラン藻を用いれば、窒素源のコストを考える必要もなくなる。窒素固定ラン藻を用い、窒素固定酵素の反応を利用して水素ガス生産を行う構想^{6,7)}はエネルギー的に理にかなったものである。窒素固定ラン藻に遺伝子操作を施して他の有用物質の生産能力を賦与すれば、同様の原理で窒素源のコストの問題を解決することが可能である。

5-3. 高い窒素含有量

動物と植物を比べた場合、動物のC/N比は約6で草本植物の20~40に比べて顕著に低い^{11,12)}。これは植物が炭水化物を主成分とするのに対して動物はタンパク質が主成分で窒素含有量が高いためである。前述のように、微細藻類やラン藻も窒素含有量が高く「動物的」である。研究に広く用いられるラン藻 *Synechococcus elongatus* や *Synechocystis* sp. PCC 6803 ではC/N比は5~6程度である。海産性微細藻類のC/N比は一様に約7であることが知られている¹³⁾。淡水性緑藻のC/N比の幅は広く、5から15くらいに分布している^{14,15)}。植物と同じように光合成微生物の培養には窒素肥料が必要である。窒素肥料は化石燃料を用いて生産されるため、その価格は原油価格の上昇に伴って上昇し、農業のコスト増大の原因となっている¹⁶⁾。窒素含量の高い光合成微生物では問題はさらに深刻である。現在のバイオ燃料の目標は石油系燃料と競合できる生産コストを実現することなので、仮にC/N = 15のバイオマスを得て、Cの50%を炭化水素として回収し、その生産コストが軽油と同等だったとしよう。2009年10月の軽油の卸売価格(軽油引取税を含まない)は約54円/ℓであった¹⁷⁾。軽油の炭素含有量は0.72 kgC/ℓなので、炭素当たり価格は75円/kgCとなる。同年同月の尿素(窒素含有量46%)の輸入価格は30円/kgで、窒素あたりにすると65円/kgNであった¹⁸⁾。そこ

で、1kgC分の油の生産にはその重さの7.5分の1に相当する8.7円分の窒素が必要と概算される。この場合には生産コストの12%が窒素肥料代となる。ちなみに、同年同月における尿素の農家への販売価格は81.2円/kgだったので¹⁸⁾、この価格で尿素を購入していたら1kg分のバイオ燃料の生産に必要な尿素代は23.5円、すなわち目標とする生産コストの30%にも達する。少ない窒素で多くのCO₂を固定する高等植物の方が有利であると言わざるを得ない。

窒素源の負担を減らす第一の方策は、工業的窒素固定以外の方法で窒素を獲得することである。これには前述の窒素(N₂)固定ラン藻の利用以外に廃棄物中の窒素を利用する方法がある。廃棄物としては、排水中の窒素と排煙中のNO_x¹⁹⁾とがある。火力発電所等から放出されるNO_x量はCO₂量に比べれば少ないが、絶対的には大きな数量である。排煙を用いた藻類大量培養に成功している企業もあり²⁰⁾、有望なアプローチと言える。窒素源の負担を減らす第二の方策は、有用生産物を細胞から放出させることにより、有用物質の生産過程を多量の窒素を必要とする細胞分裂から切り離すことである。細胞分裂を抑制した状態で生産物を培養系から回収しつつ生産を継続できれば、窒素コストを大幅に低減することができる。

5-4. 光の利用効率

エネルギー源である光の効率的な利用は、光合成生物の生産性に決定的な影響を及ぼす。植物は光環境の違いや変動に対して多様な適応機構を編み出してきた。一つの植物個体を見ても、光吸収効率を最適化するような葉序を形成し、陽葉と陰葉を造り分け、必要なら葉を動かし(調位運動)、細胞内の葉緑体を移動させて(光定位運動)光の有効活用を行っている。このような空間的な秩序の形成と活用は微生物には不可能である。光合成微生物は細菌と同じように対数増殖期をもち、その間は急速に増殖するが、その期間は短い。細菌の場合には栄養物資の欠乏によって対数増殖期が終わるが、光合成微生物の場合には自身による光吸収のために培養液内の光強度が低下するために対数増殖期が終わる。この時、個々の細胞は十分な光を獲得しようとして光合成色素の合成量を増やす。その結果、培養液内部にはますます光が入りにくくなり増殖率が低下する。全体としての秩序を持たず、個々の細胞が利己的にふるまう藻類の弱点がここに現れてい

る。これを防ぐため、光エネルギーの吸収に関わる色素の量を減らすことが試みられている。細胞当たりの色素量の減少により、全体としての生産性が向上したという報告²¹⁻²³⁾と、効果がなかったとする報告²⁴⁾があるが、この点はさらに実験的検証を進めるべき点だと私達は考えている。

5-5. 微細藻類の弱点の原因は「空間的秩序の欠如」

以上のような光合成微生物の弱点の原因を一言で言えば「空間的秩序の欠如」である。植物個体は外界と内部を区別する境界をつくって病原菌の侵入に抵抗し、光合成器官である葉から貯蔵器官へと光合成産物を輸送・集積する。そのためには相応のエネルギーが必要であり、養水分を吸収・配分し、生産物を輸送するための経路もつくらなければならない。そのため、植物の生長は細胞分裂のみに専念する微細藻類やラン藻の場合に比べて遅くならざるを得ない。しかし、植物が形成する空間的構造は、植物の栽培と有用成分の回収を容易なものとして大きなエネルギー上のメリットを与える。これにより、「高い光合成能力と速い増殖」という微細光合成生物のメリットが相殺されていると考えることができる。

6.2つの異なるアプローチ

光合成微生物を資源あるいはエネルギー源として利用しようとする研究は、特定の有用物質の生産を目的とするものとバイオマス生産を目的とするものに大別して考えるべきである。いずれの場合も、目的達成のためには前項で取り上げた諸問題を解決することが重要であるが、目的に応じて問題の優先順位は異なっているからである。無菌操作の回避は何にも増して重要な共通課題ではあるが、他の諸点については目的に応じて異なるアプローチを考えるべきであろう。特定の有用物質の生産を目指す場合には生産物の細胞外への放出が重要課題である。有用物質の生産とバイオマス増加を切り離すことにより、バイオマスあたりの生産物量を飛躍的に増加できる可能性がある。結果としてバイオマスの回収コストや窒素のコストを相対的に小さくすることも期待できる。一方、バイオマス全体を利用しようとする場合には、細胞の回収コストと窒素コストの低減が重要である。ただし、肥料、飼料、あるいは食糧としての利用では、窒素含有量の低下を目指すのではなく、窒素固定能力の利用を図ることが有望

である。さらに肥料や飼料の場合には細胞の回収そのものを不要とするアプローチもあり得る。これはアカウキクサ (*Azolla*属の水生シダ植物と窒素固定ラン藻 *Anabaena azollae*の共生体)の水田への緑肥としての導入やアイガモ農法における利用において実績が証明されている方法である^{25,26)}。

今後、遺伝子操作技術をはじめとする最先端技術が藻類やラン藻の「品種改良」のために用いられるであろう。しかし、実際の藻類利用の現場ではアカウキクサの例のようにむしろ「ローテク」の利用形態が有効である場合もあることを覚えておくべきである。

7. 希望と困難を象徴する研究例

最近、ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC6803を用いた脂肪酸の大量合成法の論文が発表されて注目された¹⁰⁾。これは、脂肪酸合成中間体であるアシルACPを分解する大腸菌や植物由来の複数のチオエステラーゼの遺伝子を導入して発現させ、生じた脂肪酸を細胞外に放出させることに成功したという報告である。上記の遺伝子操作に加えてアシルACP合成酵素の遺伝子を破壊し、アセチルCoAカルボキシラーゼの遺伝子を過剰発現させ、細胞表層のS層とペプチドグリカンの生合成に関わる遺伝子を破壊することによって、脂肪酸の放出量を増やし、その生産量は1日当たり最大0.13 g 脂肪酸/湿にも達したという¹⁰⁾。この値は2項で述べた採算ラインをクリアしており、さらに細胞外に放出された脂肪酸が培地表面に浮遊して容易に回収できるという点で画期的であった。ところが、この論文は、7月初めに取り下げられてしまった。4名の著者のうち2名が実験結果に同意しなかったことが理由であるが、どうやら生産量に再現性がなかったらしい。研究者の勇み足の感がある事例であるが、それでも、代謝工学的手法によってラン藻に遊離の脂肪酸を合成させている点、脂肪酸を細胞外に排出させて回収しやすい状態を実現している点、誰でも入手できる一般的な藻種を利用している点で、重要な研究例であると私達は考える。また、もし再現性に問題があったとすると、脂肪酸生産のために導入した遺伝子が安定に保持されなかった可能性がある。外部から導入した有用遺伝子の不安定性は、*Synechococcus elongatus* PCC7942にバクテリアの遺伝子を導入したエチレン生産の系で既に報告されている⁹⁾。光合成産物を有用物質の生産へと振り向けるタイプの「品種改良」は、光合成微生物に

としては増殖を妨げる「有害な変異」であり、導入した遺伝子が二次的変異によって不活性化した場合、そのような不活性型遺伝子をもつ株の優先的増殖が起こるのであろう。この点も微生物ならではの問題である。この問題を解決するためには、一定の細胞密度に到達するまでの「増殖モード」では導入した遺伝子の発現をオフに保ち、その後、増殖を停止させた「生産モード」においてはじめて発現を誘導して有用物質の生産を促すなどの工夫が必要である。

8. 光合成微生物の強みを生かすための方策 — 研究の統合の道筋 —

さて光合成微生物の弱点については十分考察したので、次に光合成微生物の強みについて考えてみたい。高い光合成能力に加え、光合成微生物はその種類においても特性においてもきわめて多様であり、総体として大きな可能性を秘めている点が強みである。今日でも特に海洋からは意外な特性をもった種が続々と発見されている。これらの中から資源あるいはエネルギーの生産に有用な新形質が見つかる可能性もある。問題は、このような性質のすべてを1つの種が合わせ持っているわけではない、ということである。有用物質の生産能力を持ちながら5項に掲げた問題点の1つをクリアしている種はあっても（例えば無菌操作を必要としない軽油産生緑藻 *Pseudochoricystis ellipsoidea*）、それ以上のものは今のところ知られていない。反対に無菌性の維持と細胞の回収が容易なスピルリナは、遺伝子操作が困難なため、現時点ではエネルギー的に価値のある物質の生産は期待薄である。望ましい性質をすべて備えた種を作り出すことが肝要であり、そのためには遺伝子操作技術の活用が不可欠である。光合成微生物の中でも原核生物であるラン藻類には遺伝子操作が容易な種もあり、この点で有利である。アミノ酸生産に用いられているバクテリアでは、ゲノム情報に基づく品種改良である「ゲノム育種」が既に行われている²⁷⁾、このような手法を拡張しつつ光合成微生物に適用することにより、異なる藻種の有用形質の「いいとこ取り」をしなければならない。これは多くの手間と時間がかかる作業である。しかし、かつて「育種」の概念すら明確でなかった時代、我々の先祖が我々の目には雑草としか見えないテオシントからトウモロコシを作り出したこと²⁸⁾を思えば、はるかに確実性の高い道である。ただし、ここで「現存のどの

種を出発材料として実用化に向けた改良を行うべきか」が大きな問題とならざるを得ない。実用化に必要な優れた特性が異なる種に散見されるため、研究もそれぞれの種に分散してしまっているのが現状である。早期に共通のプラットフォームとなるべき「原種」を選定し、各研究者の成果を直接統合して有用な光合成微生物を作出する体制を構築することが必要であろう。

9. おわりに

エネルギー・資源としての光合成微生物に対する期待は高まっており、特にバイオ燃料の研究が注目を集めているが、本稿では「何をつくるか」ではなく「どのようにつくるか」を問題にした。ここに光合成微生物の本質的な弱点と困難があり、それらの解決なくして光合成微生物のもつ能力を活用することはできないと考えるからである。既存技術の洗練や改善だけでなく、基礎的レベルの科学的進歩とそれに基づく技術的なブレイクスルーが必要とされている。ここには光合成微生物の研究者、さらには広範な光合成の研究者の貢献できる領域が開けていることを強調して本稿を終えたい。

Received July 12, 2010, Accepted August 6, 2010,
Published August 31, 2010

引用文献

1. Qiu, Q., and Hlavacek, V. (2010) Energy estimation on CRN process of fly ash as a slow-release nitrogen fertilizer, *Ind. Eng. Chem. Res.* 49, 5939–5944.
2. Maurer, M., Schwegler, P., and Larsen, T. A. (2003) Nutrients in urine: energetic aspects of removal and recovery, *Water Sci. Technol.* 48, 37-46.
3. von Blottnitz, H., and Curran, M. A. (2007) A review of assessments conducted on bio-ethanol as a transportation fuel from a net energy, greenhouse gas, and environmental life cycle perspective, *J. Clean. Prod.* 15, 607-619.
4. Fujisawa, T., Narikawa, R., Okamoto, S., Ehira, S., Yoshimura, H., Suzuki, I., Masuda, T., Mochimaru, M., Takaichi, S., Awai, K., Sekine, M., Horikawa, H., Yashiro, I., Omata, S., Takarada, H., Katano, Y., Kosugi, H., Tanikawa, S., Ohmori, K., Sato, N., Ikeuchi, M., Fujita, N., and Ohmori, M. (2010) Genomic structure of an economically important cyanobacterium, *Arthrospira (Spirulina) platensis* NIES-39, *DNA Res.* 17, 85–103.
5. Hemschemeier A., Melis A., and Happe T. (2009) Analytical approaches to photobiological hydrogen production in unicellular green algae, *Photosynth. Res.* 102, 523-540.
6. 櫻井英博、増川一(2006)シアノバクテリアによる光生物的水素生産, 燃料電池 6, 46-52.
7. Sakurai, H., and Masukawa H. (2007) Promoting R & D in photobiological hydrogen production utilizing mariculture-raised cyanobacteria, *Mar. Biotechnol.* 9, 128-145.
8. Sakai, M., Ogawa, T., Matsuoka, M., and Fukuda, H. (1997) Photosynthetic conversion of carbon dioxide to ethylene by the recombinant cyanobacterium, *Synechococcus* sp. PCC 7942, which harbors a gene for the ethylene-forming enzyme of *Pseudomonas syringae*, *J. Ferment. Bioeng.* 84, 434-443.
9. Takahama K., Matsuoka, M., Nagahama, K., and Ogawa, T. (2003) Construction and analysis of a recombinant cyanobacterium expressing a chromosomally inserted gene for an ethylene-forming enzyme at the *psbAI* locus, *J. Biosci. Bioeng.* 95, 302-305.
10. Liu, X., Brune, D., Vermaas, W., and Curtiss, R. III (2010) Production and secretion of fatty acids in genetically engineered cyanobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, published online before print, doi: 10.1073/pnas.1001946107.
11. Anderson, J. W., and Beardall, J. (1991) *Molecular Activities of Plant Cells*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, U.K.
12. 福島県農林水産部 (2006) 福島県施肥基準, 土壤肥料技術指針, 4. 緑肥植物の使い方, <http://www.maff.go.jp/sehikijun/02toughoku/0207fukusima/020601sehikijun/020601contentnts.html>
13. Redfield, A.C., Ketchum, B.H., and Richards, F.A. (1963) The influence of organisms on the composition of sea-water, in *the Sea*, 2nd edition (Hill, N., Ed.), pp. 26-77, Wiley, New York, USA
14. Langner, U., Jakob, T., Stehfest, K., and Wilhelm, C. (2009) An energy balance from absorbed photons to new biomass for *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlamydomonas acidophila* under neutral and extremely acidic growth conditions, *Plant Cell Environ.* 32, 250–258.
15. Yoshida, T., Hairston, N.G., and Ellner, S.P. (2004) Evolutionary trade-off between defence against grazing and competitive ability in a simple unicellular alga, *Chlorella vulgaris*, *Proc. R. Soc. B* 271, 1947-1953
16. 農林水産省「肥料高騰に対応した施肥改善等に関する検討会」(2009) 第1回資料2 (肥料をめぐる情勢について), http://www.maff.go.jp/j/seisan/kankyokenyu_koutou/n_kento/pdf/siryoy2.pdf
17. 財団法人日本エネルギー経済研究所石油情報センター(2010)価格情報, <http://oil-info.ieej.or.jp/price/price.html>

18. 農林水産省「肥料原料安定確保戦略会議」(2010) 肥料原料の安定確保に関する論点整理 (参考資料), http://www.maff.go.jp/j/seisan/sien/sizai/s_hiryo/senryaku_kaigi/pdf/siryo.pdf
19. 永瀬裕康, 廣岡孝志, 江原良枝, 山下梨沙子, 谷本聡子, 平田收正, 宮本和久(2005) 淡水性微細藻類を用いた排ガス中のNO_x処理システム, 環境バイオテクノロジー学会誌 5, 37-41.
20. Seambiotic Ltd., <http://www.seambiotic.com/>
21. Nakajima, Y., and Ueda, R. (1997) Improvement of photosynthesis in dense microalgal suspension by reduction of light harvesting pigments, *J. Appl. Phycol.* 9, 503-510
22. Nakajima, Y., and Ueda, R. (2000). The effect of reducing light-harvesting pigment on marine microalgal productivity, *J. Appl. Phycol.* 12, 285-290.
23. Nakajima, Y., Tsuzuki, M., and Ueda, R. (2001). Improved productivity by reduction of the content of light-harvesting pigment in *Chlamydomonas perigranulata*, *J. Appl. Phycol.* 13, 95-101.
24. Huesemann, M. H., Hausmann, T. S., Bartha, R., Aksoy, M., Weissman, J. C., and Benemann, J. R. (2009) Biomass productivities in wild type and pigment mutant of *Cyclotella* sp. (diatom), *Appl. Biochem. Biotechnol.* 157, 507-526.
25. 渡辺巖 (2006) 日本でのアゾラ利用の現状と将来, 雑草研究 51, 178-184.
26. 渡辺巖 (2008)アゾラについて, <http://www.asahinet.or.jp/~it6i-wtnb/azolla.html>
27. Ohnishi, J., Hayashi, M., Mitsuhashi, S., and Ikeda, M. (2003) Efficient 40°C fermentation of L-lysine by a new *Corynebacterium glutamicum* mutant developed by genome breeding, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 62, 69-75.
28. Doebley, J.F., Gaut, B.S., and Smith, B.D. (2006) The molecular genetics of crop domestication, *Cell* 127, 1309-1321.

Can Photosynthetic Microorganisms Solve the World's Energy Problem?

Tatsuo Omata*, Yuichi Fujita, Shinichi Maeda
Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University

研究紹介

炭素安定同位体法を用いた葉内CO₂コンダクタンスの測定

京都大学大学院 生命科学研究所 統合生命科学専攻

田副 雄士*

1. はじめに

現在の気中CO₂環境は植物の光合成にとって最適であるとは言い難く、CO₂濃度は光合成の律速要因の一つである。したがって、植物が光合成に必要な基質であるCO₂を多く取り込むことが出来れば、光合成能の向上に繋がる可能性がある。CO₂の取り込みと聞いて、多くの人は気孔による制御を真っ先に思い浮かべるかも知れない。確かに、気孔は細胞間隙のCO₂濃度を制御しているが、細胞間隙からRubiscoまでの物理抵抗が、葉緑体内のCO₂濃度を制御していることは、あまり知られていない。本稿では、光合成能の向上に繋がるかもしれない、葉内CO₂コンダクタンスについて解説すると共に、最新の研究結果についても紹介する。

2. 葉内CO₂コンダクタンスとは？

光合成において、気孔から取り込まれたCO₂は、細胞間隙を拡散によって移動し、葉肉細胞の細胞壁、細胞膜、細胞質を通過して葉緑体に入り、最終的にRubiscoによって固定される(図1)。このような葉内におけるCO₂の拡散移動には、大きな物理抵抗が生じている。特に、細胞壁から葉緑体内のストロマに達するまでの液相の抵抗は、同じ距離の気相の抵抗の10⁴倍にもなる¹⁾。葉内におけるCO₂の拡散抵抗は、一般的には逆数をとって、葉内CO₂コンダクタンス(注: 英語では、mesophyll conductance もしくはinternal conductanceと表記され、それぞれ g_m または g_i と簡略化されるが、本稿においては g_m で統一する。なお、日本語では、葉肉コンダクタンスと呼ぶこともある)として表され、g_m が大きければ、葉内においてCO₂が通りやすいことを意味している。

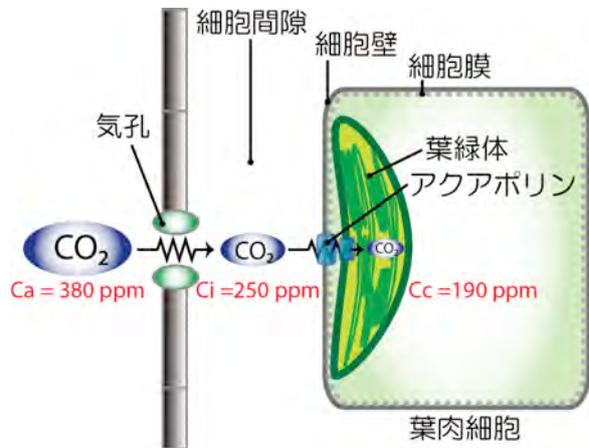


図1 葉内におけるCO₂の拡散経路

C_a:大気CO₂濃度、C_i:細胞間隙CO₂濃度、C_c:葉緑体内CO₂濃度

実際に、飽和光下 (1500 μmol photon m⁻² s⁻¹)、大気CO₂条件下 (380 ppm) で高い光合成をしているタバコの成熟葉における g_m を測定すると、およそ0.35 mol m⁻² s⁻¹ の値が得られる。この g_m がどの程度CO₂の低下に寄与しているかを計算すると、葉緑体内のCO₂濃度 (C_c) は 190 ppm になり、大気CO₂の半分にまで低下した(図1)。このように、g_m は葉内におけるCO₂拡散を大きく律速しており、近年、気孔に次ぐ第二の光合成律速要因として、注目されている。

g_m は1980年から90年代にかけて、様々な植物種を使って盛んに調べられてきた。その当時、g_m は葉肉細胞の細胞壁の厚さや、細胞間隙に接する葉緑体の面積といった、葉の形態的特徴によって決定されると考えられていた。実際に、細胞壁が厚くてしっかりとした構造を持つ木本種の葉の g_m は、草本種と比べて小さくなることが報告されている²⁾。しかし、近年、動物細胞において、細胞膜に局在するアクアポリンがCO₂も透過させていることが報告され³⁾、植物細胞におい

* 連絡先 E-mail: utazoe@lif.kyoto-u.ac.jp

ても同様に、細胞膜や葉緑体の包膜に局在しているアクアポリンがCO₂も透過させている可能性が議論されるようになった²⁾。この仮説を裏付けるように、アクアポリンを過剰発現させたイネやタバコの葉では、アクアポリン量の増加に伴い g_m も大きくなったという報告がある^{4,5)}。もし、アクアポリンが、g_mに影響を及ぼしているのであれば、g_mも気孔と同様に、環境に応じて臨機応変に変化する可能性があり、従来までの、g_mが葉の形態的特徴によってのみ決定されるという考えを改める必要がある。

3. 葉内CO₂コンダクタンスの求め方

g_mは、Fickの拡散方程式により、次のように表される。

$$A = g_m (C_i - C_c) \dots (1)$$

式 (1) より、細胞間隙のCO₂濃度 (C_i) と、葉緑体内のCO₂濃度 (C_c) の差に、細胞間隙から葉緑体までの葉内CO₂コンダクタンス (g_m) をかけると、光合成速度 (A) が導かれる。この式 (1) において、CO₂ガス交換測定により得られる値は、AとC_iだけなので、g_mとC_cを求めるためには、もう一つ別の式が必要となる。この式を導くためには、いくつかの方法があるが、現在最も信頼度が高いと言われている方法が、炭素安定同位体法である。

炭素安定同位体法とは、自然大気中に存在する炭素安定同位体である¹³CO₂と、¹²CO₂の比 (炭素安定同位体比) を測定する方法である。質量の軽い¹²CO₂の方が、拡散しやすく、Rubiscoによって固定されやすい。この性質を利用し、ガス交換測定装置のリーフチャンバー (同化箱) に入るCO₂と出てくるCO₂をサンプリングし、それぞれの炭素安定同位体比を調べることで、光合成においてCO₂の拡散による抵抗がどの程度生じているかを見積もることができる。具体的には、以下のモデル式を用いる⁶⁾。

$$\Delta = a \frac{c_a - c_i}{c_a} + a_i \frac{c_i - c_c}{c_a} + b \frac{c_c}{c_a} - \frac{eR_d/k + f\Gamma^*}{c_a} \dots (2)$$

左辺のΔは光合成における葉全体の炭素安定同位体分別を示しており、右辺のC_a、C_i、C_cはそれぞれ、大気、細胞間隙、葉緑体内のCO₂濃度を示している。ま

た、a、a_i、bは、気孔を通るときのCO₂拡散、葉内におけるCO₂拡散、RubiscoによるCO₂固定、の炭素安定同位体分別係数で、それぞれある定数が仮定されている。最後のfとeは、光呼吸と、呼吸によって生じる炭素安定同位体分別係数を示しており、R_dは光照射下における呼吸速度、kはRubiscoのCO₂固定効率、Γ*はCO₂補償点を示している。式 (2) を要約すると、葉全体の炭素安定同位体分別Δは、CO₂の拡散と固定によって生じる同位体分別から、呼吸により発生するCO₂の同位体分別を引いたものと等しい、というモデル式である。呼吸の同位体分別の部分は、筆者らにより改良されたモデル式⁷⁾が発表されているが、基本的概念は式 (2) と同じである。g_mは、この式 (2) と式 (1) から計算する。

g_mの計算に必要なΔは、光合成測定時に、ガス交換装置のリーフチャンバーから出てくるガスをサンプリングし、液体窒素で濃縮してガラス管に封入し、それを質量分析装置で測定することにより求めることが出来る。しかし、ガスのサンプリングに30分程度の時間がかかるため、瞬間的なg_mの変化を調べるのは困難である。最近、Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy (TDLAS) といった高性能のレーザー分光装置の普及のお陰で、リーフチャンバーから出てくるガスのΔをオンラインで検出できるようになり、瞬間的なg_mの挙動を追うことが可能となった。

4. 急激なCO₂変化に対するg_mの挙動

TDLASとガス交換装置から成るオンラインシステムの開発により、瞬間的な環境の変化に対応して、g_mがどのような挙動を示すかについて、少しずつ明らかになりつつある。環境要因の一つであるCO₂濃度は、光合成速度を大きく左右し、気孔の制御にも影響を与えるが、g_mに与える影響については、長い間議論的とされてきた。そこで筆者らは、TDLASのオンラインシステムを用いて、瞬間的にCO₂濃度を変えた時のg_mの挙動について、タバコの成熟葉を用いて調べた。

図2は、低CO₂ (200 ppm)から高CO₂ (1000 ppm:■)、または高CO₂から低CO₂ (△) へと、瞬間的にCO₂濃度を切り換えたときの、光合成速度 (A)、気孔コンダクタンス (g_s)、g_mの変化を示す。CO₂濃度を200 ppmから1000 ppmに瞬間的に上げると、Aは急激に増加した (図2a)。気孔は、低CO₂下で開き、高CO₂下で閉じる傾向があるため、g_sの挙

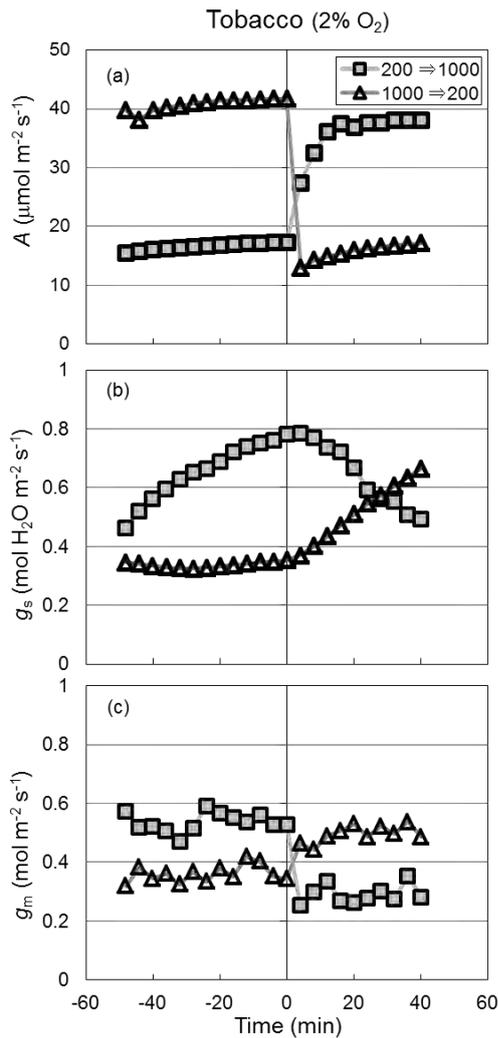


図2 瞬間的なCO₂濃度の変化に対する、光合成速度 (A)、気孔コンダクタンス (g_s)、葉内CO₂コンダクタンス (g_m) の時間変化

CO₂濃度を200 ppmから1000 ppmに瞬間的に変えたとき(■)と、1000 ppmから200 ppmに変えたとき(△)の、タバコの成熟葉のA、g_s、g_mの時間変化を、光強度1500 µmol photon m⁻² s⁻¹、2% O₂、葉温25°Cで測定した。CO₂濃度を変えたときを、Time = 0で表す。(Tazoe, Y., von Caemmerer, S. & Evans, J.R. 未発表)

動はそれを反映していたが、Aとは異なり、g_sはゆっくりと変化した(図2b)。g_mは、200 ppm CO₂でおよそ0.6 mol m⁻² s⁻¹と、g_sと変わらない値を示したが、CO₂濃度を1000 ppmに切り換えると、g_mは瞬時に0.3 mol m⁻² s⁻¹にまで減少した(図2c)。逆に、CO₂濃度を1000 ppmから200 ppmに下げたときには、瞬間的なg_mの増加の程度は小さかった。同様の結果は、シロイヌナズナやコムギでも確認された。このような、瞬間的なCO₂濃度の変化に対応してg_mも変わるという結果は、環境に応じてg_mが臨機応変に変化するという

仮説を支持するものであり、アクアポリンのCO₂応答の変化が、今回のg_mの変化に影響を与えている可能性も考えられる。しかし、CO₂濃度の変化が、植物のアクアポリンにどのように作用するのかについては、まだ不明な点が多く、現段階において、そのメカニズムについて明確に説明することは難しい。アクアポリンとg_mとの関係については、今後の研究成果に期待したい。

5. 異なるO₂条件下におけるg_m

低CO₂下においてg_mが増加することにより、葉緑体内におけるCO₂濃度と光合成に、どのような影響を与えているのだろうか?この疑問について考察するために、異なるO₂条件下でg_mを測定した結果を紹介する。

表1は、異なるO₂条件(2、21%)、CO₂条件下(200、1000 ppm)における、A、g_m、細胞間隙と葉緑体内のCO₂濃度差(C_i - C_c)の結果を示す。2% O₂下では光呼吸が抑えられるので、その分CO₂固定効率が上がる。そのため、200 ppmの低CO₂下では、Aは2% O₂下の方が大きくなった(表1)。しかし、1000 ppmの高CO₂下では、光呼吸の影響は小さくなるので、Aの最大値はO₂濃度によって、あまり変わらなかった。

2% O₂下におけるg_mは、図2と同様に、200 ppm CO₂で大きく、1000 ppm CO₂で小さくなった。しかし、21% O₂下において、g_mはCO₂濃度により変化しなかつ

表1 異なるO₂、CO₂条件下における、光合成速度(A)、葉内CO₂コンダクタンス(g_m)、細胞間隙と葉緑体内のCO₂濃度差(C_i - C_c)

異なるO₂(2、21%)、CO₂(200、1000 ppm)条件下における、タバコの成熟葉のA、g_m、C_i - C_cを、光強度1500 µmol photon m⁻² s⁻¹、葉温25°Cの条件で測定した。値は、平均値 ± 標準誤差(n = 3)を示す。(Tazoe, Y., von Caemmerer, S. & Evans, J.R. 未発表)

O ₂ (%)	CO ₂ (ppm)	A (µmol m ⁻² s ⁻¹)	g _m (mol m ⁻² s ⁻¹)	C _i - C _c (ppm)
2	200	16.8 ± 0.8	0.54 ± 0.01	31 ± 1
	1000	37.3 ± 1.7	0.29 ± 0.04	135 ± 17
21	200	10.6 ± 0.4	0.32 ± 0.03	34 ± 4
	1000	40.5 ± 1.2	0.33 ± 0.05	128 ± 22

た。得られたA、 g_m と式(1)を用いて、 $C_i - C_c$ を計算すると、200 ppm CO_2 において、2% O_2 下で31 ppm、21% O_2 下で34 ppmと、 O_2 濃度によらずほぼ一定であった。したがって、式(1)より、2% O_2 、200 ppm CO_2 における g_m の増加は、Aの増加を伴っていたといえる。

以上の結果をもとに、低 CO_2 条件下における g_m の増加が、光合成に与える影響について考察する。低 CO_2 、21% O_2 下では、光呼吸によるRubiscoの CO_2 固定効率の低下が、光合成速度の低下に影響していると考えられる。一方で、2% O_2 下では、光呼吸が抑えられるので、 C_c が光合成を律速している可能性が高い。このような条件下では、 g_m の増加によって C_c が大きくなることで、光合成速度の増加に繋がったと考えることもできる。しかし、低 CO_2 下における g_m の増加は、 O_2 条件に依存しないと主張する論文⁸⁾もあり、 g_m の増加の意義については、まだはっきりとした結論は出ていない。

O_2 濃度により、低 CO_2 下における g_m が異なる理由として、光呼吸が Δ に影響を与えている可能性も考えられる。式(2)において、光呼吸の炭素安定同位体分別係数 f は、一定であると仮定されており、本研究においても、過去の知見⁹⁾より $f = 11.6‰$ という値を用いている。しかし、実際に、光呼吸が光合成の Δ に、どの程度影響を与えているかについては様々な説があり、まだ決着がついていない。試しに、係数 f の値を変えて、 g_m の CO_2 依存性を計算した結果を図3に示す。ご覧の通り、21% O_2 下では、仮定する f の値に

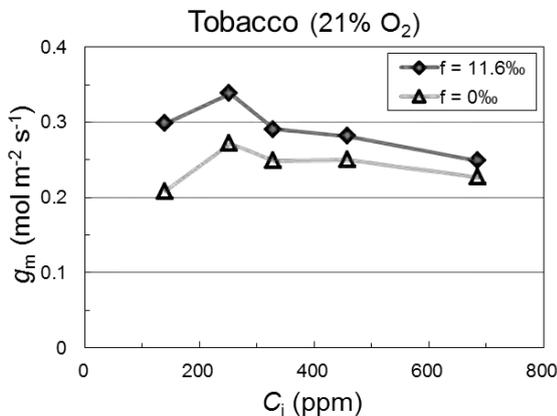


図3 光呼吸の炭素安定同位体分別係数 (f) が g_m の CO_2 依存性に与える影響

タバコの成熟葉を用いて、光強度 $1500 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、21% O_2 、葉温 25°C 、様々な CO_2 条件下で測定を行った。 g_m は $f = 11.6‰$ (◆)、または $f = 0‰$ (△)と仮定して計算した。(Tazoe, Y., von Caemmerer, S. & Evans, J.R. 未発表)

よって、低 CO_2 下における g_m は大きく変化した。ちなみに、2% O_2 下では、 f の値を変えても、 g_m はほとんど変わらなかった。このように、光呼吸が g_m の計算に与える影響についても、注意する必要がある。

6. おわりに

本稿では、炭素安定同位体法による g_m の求め方に始まり、最新の研究の現状について解説してきた。今後、TDLASの普及により、誰でも簡単に g_m を見積もれる時代が来ると予想される。しかし、 g_m はあくまでも推測値であるため、 g_m の解釈には、十分な注意が必要であることを、心に留めておいてもらいたい。例えば、光合成速度が低い原因を考察するのに、気孔やRubiscoでうまく説明できないものを、 g_m のせいにしてしまい、間違った結論を導いてしまうこともある。今の技術では g_m を直接測定することは出来ないため、モデルを使って g_m を推定している限りは、このような間違いを避けることは難しい。しかし、 CO_2 を透過させるアクアポリン (aquaporin) ²⁾の解析や、TDLASを用いた詳細な測定、炭素安定同位体モデルの改良⁷⁾により、 g_m の性質、そして g_m の正体が、次第に明らかになりつつある。 g_m が CO_2 固定効率の向上に繋がるかどうか?この質問の答えを出すのは、そう遠い未来の話ではない。

なお、4月号の会報の研究紹介記事において、寺島が、約2ページにわたって葉内 CO_2 コンダクタンスに関して解説している¹⁰⁾。興味のある方は、そちらも併せて読んで頂きたい。

謝辞

本稿で紹介した研究は、筆者がオーストラリア国立大学に在籍中に、John R. Evans 博士とSusanne von Caemmerer 教授の指導の下、おこなったものであり、両氏に深く感謝したい。また、適切なコメントを下さった寺島一郎教授、本稿作成の機会を与えて下さった野口航准教授には、この場を借りて厚く御礼を述べたい。

Received July 9, 2010, Accepted August 5, 2010, Published August 31, 2010

参考文献

1. Heldt, H.W. (金井 龍二 訳). (2000) 植物生化学 (原著 Pflanzenbiochemie 第2版. 1999). シュプリンガー・フェアラーク東京.
2. Terashima, I., Hanba, Y.T., Tazoe, Y., Vyas, P. and Yano, S. (2006) Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO₂ diffusion. *J. Exp. Bot.* 57, 343-354.
3. Nakhoul, N.L., Davis, B.A., Romero, M.F. and Boron, W.F. (1998) Effect of expressing the water channel aquaporin-1 on the CO₂ permeability of *Xenopus* oocytes. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 274, 543-548.
4. Hanba, Y.T., Shibasaki, M., Hayashi, Y., Hayakawa, T., Kasamo, K., Terashima, I. and Katsuhara, M. (2004) Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants. *Plant Cell Physiol.* 45, 521-529.
5. Flexas, J., Miquel, R.-C., Hanson, D.T., Bota, J., Otto, B., Cifre, J., McDowell, N., Medrano, H. and Kaldenhoff, R. (2006) Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to CO₂ *in vivo*. *Plant J.* 48, 427-439.
6. Evans, J.R., Sharkey, T.D., Berry, J.A. and Farquhar, G.D. (1986) Carbon isotope discrimination measured concurrently with gas exchange to investigate CO₂ diffusion in leaves of higher plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 13, 281-292.
7. Tazoe, Y., von Caemmerer, S., Badger, M.R. and Evans, J.R. (2009) Light and CO₂ do not affect the mesophyll conductance to CO₂ diffusion in wheat leaves. *J. Exp. Bot.* 60, 2291-2301.
8. Flexas, J., Diaz-Espejo, A., Galmés, J., Kaldenhoff, R., Medrano, H. & Ribas-Carbo, M. (2007) Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves. *Plant, Cell Environ.*, 30, 1284-1298.
9. Lanigan, G.J., Betson, N., Griffiths, H. and Seibt, U. (2008) Carbon isotope fractionation during photorespiration and carboxylation in *Senecio*. *Plant Physiol.* 148, 2013-2020.
10. 寺島 一郎 (2010) 葉が緑色なのは緑色光を効率よく利用するためである, 光合成研究 20, 15-20

Measurement of the Mesophyll Conductance with Carbon Isotope Method

Youshi Tazoe*

Graduate School of Biostudies, Department of Plant Gene and Totipotency, Kyoto University

解説特集

「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」

Editor

永島 賢治

(首都大学東京 理工学研究科 生命科学専攻)

序文

永島 賢治

(首都大学東京 理工学研究科 生命科学専攻)

P. 78

光合成細菌を利用する研究の今後を考える

嶋田 敬三

(首都大学東京 名誉教授)

P. 79 ~ 83

光栄養細菌の多様性

—ゲノムおよびメタゲノム解析から見てきたもの—

平石 明

(豊橋技術科学大学 環境・生命工学系)

P. 84 ~ 92

巨大アンテナ系クロロソームを構成するバクテリオクロロフィル分子：
その生合成の解明と今後の展開

原田 二郎¹、大岡 宏造²、民秋 均³

(¹久留米大学医学部医化学講座、²大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻、³立命館大学総合理工学院)

P. 93 ~ 99

緑色硫黄細菌の非循環型の光合成電子伝達系

塚谷 祐介¹、浅井 智広²、大岡 宏造²

(¹ペンシルバニア州立大学 生化学分子生物学科、²大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻)

P. 100 ~ 108

紅色光合成細菌における光捕集タンパク質の多様性

大友 征宇

(茨城大学 理学部)

P. 109 ~ 117

序文[‡]

首都大学東京 理工学研究科 生命科学専攻

永島 賢治^{*}

光合成のメカニズムや環境応答あるいは進化を研究する上で、光合成細菌はそのシンプルな体制や遺伝子操作の自由度の高さから、きわめて優れた材料であると言える。今日、光合成で働く様々な色素タンパクや電子伝達タンパクなど比較的大きな膜タンパク質複合体の詳細な立体構造が広く研究に活用されているが、その端緒を付けたのは紅色光合成細菌の反応中心複合体のX線結晶構造解析であった。クロロフィルやカロテノイドなど色素合成の酵素遺伝子の同定や、その発現を調節する様々なセンサータンパクの発見も、1980年初頭の紅色光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus* における光合成遺伝子クラスターのクローニングに端を発している。本特集ではこうした光合成細菌の魅力に惹かれ、国内で精力的に研究を続ける方々に執筆をお願いした。シンプルで扱いやすいとは言え、一方で多様性に富む光合成細菌の分類と、近年急速に蓄積してきたゲノム解析に関するトピックスの紹介を平石明氏にお願ひし、紅色光合成細菌の光捕集タンパクを題材とした色素タンパクの機能・構造の相関関係を大友征宇氏に、ご自身の研究も含め解説していただいた。また、若手研究者である原田二郎、塚谷祐介の両氏を中心に、緑色細菌の新しい色素合成経路の同定と光合成電子伝達経路の解析について、それぞれ執筆していただいた。両氏の記事からは研究現場の試行錯誤とその先にある“夢”が感じ取れるのではないかと思う。本特集は同年3月に行われた嶋田敬三氏の退職記念シンポジウム「光合成細菌：色素タンパク質からの広がり」をきっかけに企画されている。その嶋田敬三氏からは長年に渡る光合成細菌の研究において未だ解明されていない事象や、氏の経験に基づいた研究のヒントなどを寄稿していただいた。

本特集のように光合成細菌の研究解説記事が日本語で書かれているという例は珍しい。それだけ国内での光合成細菌研究のポピュレーションが小さいということでもあるのだが、本特集が光合成の研究を志す国内の若い人たちに魅力的なものとして写ってくれば幸いである。また、光合成の研究を進めるうえで技術的な困難に突き当たったとしても、多様な光合成細菌を使い分けることで案外簡単にクリアできるかもしれないという感触を持っていただければ、これも幸いである。光合成細菌には研究のブレークスルーに繋がる秘密がまだまだ隠されていると筆者は思っている。

[‡] 解説特集「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」^{*} 連絡先 E-mail: nagashima-kenji@tmu.ac.jp

光合成細菌を利用する研究の今後を考える[‡]

首都大学東京 名誉教授
嶋田 敬三*

1. はじめに

光合成研究において光合成細菌は C.B. van Niel が光合成の一般式 $\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{A} \rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{H}_2\text{O} + 2\text{A}$ を示すきっかけとなった実験をはじめとして、L. M. N. Duysens の光合成初発反応におけるクロロフィルの光酸化を示した実験、そして酸素発生型光合成生物よりかなり先じた反応中心タンパクの単離、構造決定というように、要所要所で光合成研究材料として重要な役割を果たしてきた。その後の酸素発生型光合成生物の反応中心構造決定により、すべての（狭義の）光合成生物の反応中心の基本的構造の共通性が示され、生物の行う光合成の際立った特徴である高効率の電荷分離反応の原理はすべての光合成生物に共通であろうという認識を与えた。すなわち、いまだ解決されたとは言いがたい電荷分離反応の効率の高さの理由を研究する材料として光合成細菌は依然有力な材料であると言える。さらに、やはり十分に解決されたとは言いがたい光捕集系における励起エネルギー転移機構の研究材料としても色素の存在状態が酸素発生型光合成生物ほど多様でない光合成細菌の利用は有効であるに違いない。

本稿ではこれらの光合成に関わる未解決問題への手がかりとなり得るような光合成細菌を材料とする研究課題を二つばかり紹介したいと思う。

2. 反応中心結合型チトクロム

光合成細菌を使った光合成機構の研究は、最初に反応中心結晶構造が決められた *Bastochloris viridis* を除いては、おおむね形質転換系の確立した *Rhodobacter* 属 (*Rba. sphaeroides*, *Rba. capsulatus*) を用いて研究が進められてきた。しかし近年、光合成細菌の光合成電子伝達系はかなり多様であり *Rhodobacter* 属のみを研

究材料とするのはやや問題があることが認識されてきた。そのひとつの例として反応中心結合型チトクロムの問題がある。ゲノム情報を含めて多くの光合成細菌の反応中心に関する情報が増えつつあるが、それによれば *Rhodobacter* 属のように反応中心結合型チトクロムを持たない種はむしろ少数派で、多くの種が反応中心複合体のサブユニットとしてヘム *c* を4つ持つチトクロムを持つことが解ってきた¹⁾。反応中心結合型チトクロムを持たない種は紅色光合成細菌のうち通性嫌気性のものとプロテオバクテリア α -4 サブクラスの好気性光合成細菌の中のみ見出されており、ほぼすべての嫌気性光合成細菌は反応中心に結合した4ヘム型チトクロムサブユニットを持ち、通性嫌気性や好気性の光合成細菌でも反応中心にチトクロムサブユニットを持つ種は少なくない（表1）。反応中心チトクロムサブユニットを持たない種が系統的にまとまっていないことから、少なくとも紅色光合成細菌反応中心の原型はチトクロムサブユニットを持ち、その中から酸素に適応したいくつかの種がそれぞれ独立にチトクロムサブユニットを欠失させたと考えられている。

このように、4ヘム型チトクロムサブユニットは光合成細菌に一般的に見られるものであるが、その存在意義は未だに判然としていない。すなわち、電荷分離後の反応中心スペシャルペアカチオンへの電子供与体としてスペシャルペアの近傍に高電位（中点電位 +250~400 mV 程度）のヘム *c* が存在すること自体は電荷再結合反応防止という意味で合理的であるが、なぜ4つもヘムが必要なのか、さらにこの4ヘムの中に必ず中点電位 -100~+100 mV 程度の低電位のヘムが含まれている意味が不明なのである。多くの場合これら4つのヘム *c* はスペシャルペア側から高電位、低電

[‡] 解説特集「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」

* 連絡先 E-mail: shimada-keizo@tmu.ac.jp

表1 代表的な光合成細菌の電子伝達タンパク

分類群	種名	酸素依存性	チトクロムサブユニット	電子供与体 (候補)
プロテオバクテリア				
α-1	<i>Pheospirillum molischianum</i>	嫌気性	4ヘム型	cyt c ₂
	<i>Rhodospirillum rubrum</i>	通性	なし	cyt c ₂
	<i>Acidiphilium rubrum</i>	好気性	4ヘム型	?
α-2	<i>Rhodobium marinum</i>	通性	4ヘム型	HiPIP*, cyt c ₂
	<i>Blastochloris viridis</i>	嫌気性	4ヘム型	cyt c ₂
	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	通性	なし	cyt c ₂
α-3	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	通性	なし	cyt c ₂
	<i>Rhodovulum sulfidophilum</i>	通性	3ヘム型	cyt c _{2m} , cyt c ₂
	<i>Roseobacter denitrificans</i>	好気性	4ヘム型	cyt c ₂
α-4	<i>Erythrobacter longus</i>	好気性	なし	cyt c ₅₄₉ /cyt c ₅₅₀
β	<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	通性	4ヘム型	HiPIP, cyt c ₈
	<i>Rhodocyclus tenuis</i>	嫌気性	4ヘム型	HiPIP, cyt c ₈
γ	<i>Allochrochromatium vinosum</i>	嫌気性	4ヘム型	HiPIP, cyt c ₈
	<i>Thermochromatium tepidum</i>	嫌気性	4ヘム型	HiPIP, cyt c ₈
	<i>Ectothiorhodospira shaposinikovii</i>	嫌気性	4ヘム型	HiPIP
<i>Chloroflexi</i>	<i>Chloroflexus aurantiacus</i>	通性	4ヘム型	auracyanin

*High Potential Iron-Sulfur Protein

位、高電位、低電位の順で配置されており (図1)、表面荷電アミノ酸残基の置換実験よりスペシャルペアから最も遠い低電位のヘムに可溶性C型チトクロムや高電位鉄イオウタンパク (HiPIP) などの電子伝達体からの電子が渡されることが示されている。したがって、電子は高電位可溶性電子伝達体 → 低電位ヘム → 高電位ヘム → 低電位ヘム → 高電位ヘム → スペシャルペアと移動すると考えられるが、この流れの中には2ヶ所も最大 300 mV 以上の電位に逆らう up-hill の過程が含まれることになる¹⁾。

我々はこの4ヘムサブユニットの存在と構成の意義を明らかにすることは、光合成を含めた電子伝達システムの原理にも迫ることになると考え、好気培養が可能な *Rubrivivax gelatinosus* をプラットフォームとして、構造が解明されている *Blastochloris viridis* 反応中心結合型チトクロムの4つのヘムそれぞれの酸化還元中点電位を周辺アミノ酸残基の置換により変動させ、電子伝達速度に対する影響を見ているが、まだ低電位ヘムの存在意義は十分説明できるには至っていない²⁾。ひとつの手がかりとして、*Rhodobacter* 属に近縁で海洋性の *Rhodovulum* 属ではこの反応中心チトクロムサブユニットが4ヘム型ではなく、3ヘム型であるという事実がある。*Rhodovulum* 属の反応中心チトクロムサブユニットではスペシャルペア側から高電位、低電位というところまでは4ヘム型と同じである

が、3番目は高電位ではなく極端な低電位のヘムcで、さらに4ヘム型で可溶性電子伝達体からの電子の直接の受容体である4番目のヘムは欠失している。この3ヘム型反応中心は *Rhodovulum* 属に共通であるが、これが電子伝達体からどのように電子を受容しているか興味のあるところである。*Rhodovulum* 属の代表種である *Rhodovulum sulfidophilum* ではチトクロムc₂も反応中心チトクロムサブユニットへの電子供与体として機能しうるが、むしろ我々がチトクロムc_{2m}と呼んでいる膜結合型のチトクロムが主な電子供与体と思われる³⁾。このチトクロムc_{2m}はN末端に膜貫通ヘリックスを一本持ちC末端側にチトクロムc₂に相同なチトクロムドメインを持つが、特徴的なのはこの間のプロリン-グルタミン酸-アラニンに富むかなり長いスパーサー部分で、その長さの意味はまだ解っていない。

以上のように反応中心結合型チトクロムとその周辺の電子伝達系に関わる研究分野は電子伝達系そのものの本質的理解に対して多くのヒントを与える興味ある分野であると我々は考えている。

3. 細胞内膜の形態と構造

光合成細菌は光合成条件下で特徴的な細胞内膜 (intracytoplasmic membrane) を形成する種が多い。*Rhodobacter* 属や多くのγ-プロテオバクテリア光合成細菌 (紅色イオウ細菌) の持つ小胞状のクロマトフォア

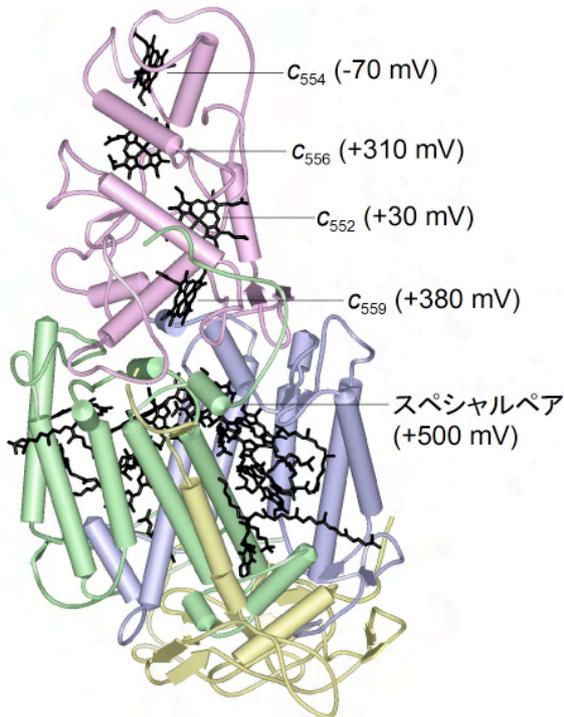


図1 紅色光合成細菌 *Blastochloris viridis* の反応中心複合体。チトクロムサブユニットに含まれる4つのヘムとバクテリオクロフィルの二量体（スペシャルペア）を酸化還元中点電位 (E_m) と共に指し示した。ポリペプチド鎖の色は赤がチトクロム、青がL、緑がM、黄がHの各サブユニットをそれぞれ示している。構造データは Deisenhofer et al (1995) J. Mol. Biol. 246, 429-457 に基づいている。

と呼ばれる細胞内膜が有名であるが、*Rhodospseudomonas palustris* などプロテオバクテリア α -2サブクラスの光合成細菌のようにラメラ状の細胞内膜を持つものも少なくない⁴⁾。プロテオバクテリア α -1サブクラスのように近縁種でも内膜形態が小胞状 (*Rhodospirillum rubrum*)、あるいは重層ラメラ状 (*Rhodospirillum photometricum*) というように系統分類と対応しない場合もある。 α -プロテオバクテリアの通性嫌気性紅色細菌では好気条件から嫌気条件への変化に伴う光合成タンパクの合成と内膜合成がほぼ平行して起こることから、反応中心(RC)-LH1複合体やLH2が細胞内膜の主構成成分であることは確かと思われるが、膜脂質の合成も同時に起こっていることは忘れてはならない。内膜形成機構については1960から70年代にかけて盛んに研究されたが、材料とされた種がほとんど小胞状内膜を持つ種であったため膜形態に関する情報は得られていない。いくつかの光合成タンパクの変異体が異常な形態の細胞内膜を形成したことから、たとえばRC-LH1複合体やLH2の比といった

ようなものが形態に関係するとも考えられたが、たとえばLH2を合成しない種でも小胞状のもの (*Rhodospirillum rubrum*) もラメラ状のもの (*Rhodobium marinum*, *Blastochloris viridis*) もあるように、小胞状かラメラ状かの違いの原因については結局未だに明らかになっていない。さらに、*Rubrivivax* や *Rhodocycclus* などの β -プロテオバクテリアでは光合成条件下でもあまり細胞内膜を作らないことが知られており、光合成タンパク自体は α -プロテオバクテリアの紅色細菌とほぼ同じであることを考えると、細胞内膜の合成および形態には光合成タンパク以外の要因を考えねばならないことになるだろう。たとえば膜脂質の種類や脂肪酸組成、さらに脂質の合成制御機構にも目を向ける必要がありそうであるが、いずれにせよ異なる内膜形態を持ついくつかの種を使う必要があると思われる。

光合成細菌の光合成膜（主に細胞内膜）の構成に関しては他にも未解決と思われる問題がある。それは、他の一般的生体膜にも共通する問題でもあるが各機能タンパクの膜内あるいは膜上における配置の問題である。

紅色細菌では光捕集系はLH2、RC-LH1から構成されるがLH2に吸収された光エネルギーはほぼロスなくRC-LH1に移動する⁵⁾。すなわちLH2を励起しても定常測定系ではLH2からの蛍光はほとんど観測されずLH1からの蛍光のみが観測される。時間分解測定ではLH2の励起後 3 ps 程度で励起エネルギーはRC-LH1に移動していることが知られている⁶⁾。このことはLH2は直接ないしは他のLH2を介して常にどれかのRC-LH1に機能的に繋がっていることを示している。つまりLH2は一瞬たりともRC-LH1あるいは隣のLH2から離れることがないことになり、それぞれの位置関係はかなり固定化されていることを意味すると考えざるを得ない。すなわち、細胞内膜などのいわゆる光合成膜では膜の流動性はほとんどなく、主要膜タンパクであるLH2、RC-LH1は固定化した光捕集ネットワークを形成していると考えられる。近年AFMなどの観察でRC-LH1、LH2とおぼしき粒子は観察されるが、 b/c_1 複合体やATP合成酵素と思われる粒子が同じ領域にあまり見られないことが問題となっているが⁷⁾、これは上記の固定的アンテナ系の配置と無関係ではないと思われる。いずれにせよ膜タンパク間の相互作用がかなり強いものとするれば、その要因は明らかにすべきもの

であり、他の光合成生物のアンテナ系や一般的な膜におけるタンパク間の相互作用に対しても有用な情報となると考えられる。

これまで調べられた限りでは、通性嫌気性紅色細菌におけるRC-LH1とLH2の合成制御機構は異なっていることが知られており、RC-LH1のみが合成される条件はあるが、野性株でLH2のみが合成されることはない。しかし、我々は両者が合成される条件では相互の合成量は無関係ではないことを示しており⁸⁾、この相互の合成調節がタンパク合成レベルのものか、あるいは上記のような膜上でのアンテナネットワーク形成あるいはパッキングというような物理的要因であるかを確かめることも必要であると考えている。

葉緑体のチラコイド膜を含めて膜の形態や膜内でのタンパクの配置、相互作用を決めている要因については光合成に関わる研究課題のひとつかと思われるが、光合成細菌はやはりその有力な研究材料であろう。

4. おわりに

筆者の光合成細菌との出会いは、実は光合成生物というよりも生体膜材料としてであった。しかし、生体膜材料としても色で存在が見やすいことは研究をずいぶん楽にしてくれたし、その後やや必然的に色素タンパクを扱うようになって、色が指標になるのは当初無色のタンパクを扱っていた身にとって大変ありがたいことだった。光合成そのものの研究でも光合成生物の持つ色素の存在は存分に利用されているが、上記のような膜タンパクの相互作用や構築過程を見る研究においても色のあること、色素の吸収や蛍光を指標とできることは他の材料よりかなり有利な点であると考えている。光合成生物の中で光合成細菌は水の酸化能力こそないものの、上述のように反応中心や電子伝達系、光合成膜構造の基本原則の解明のほかに、たとえば色素タンパクの構築過程の研究材料としても、クロロフィルのフォーム（存在状態）が少なく見分けやすいことや、カロテノイドも共役系の長さの異なるものが使われていて分子種の見分けが容易と思われる点で酸素発生型光合成生物より有利な材料と思われる点があり、変異体作成の容易さも考慮すれば、今後も多くの研究課題にも活用できると信じている。

Received July 23, 2010, Accepted July 24, 2010, Published August 31, 2010

謝辞

本稿で紹介した研究のうち、反応中心結合型チトクロムの研究に関しては永島賢治氏が中心となって行われているものであり、多くのご教示をいただいた。

引用文献

1. Nitschke, W. and Dracheva, S. M. (1995) Reaction center associated Cytochromes, In *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria* (Blankenship, R. E., Madigan, M. T. and Bauer, C. E., Eds), pp231-257. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
2. Alric, J., Lavergne, J., Rappaport, F., Vermeglio, A., Matsuura, K., Shimada, K. and Nagashima, K. V. P. (2006) Kinetic performance and energy profile in a roller coaster electron transfer chain: a study of modified tetraheme-reaction center constructs. *J. Am. Chem. Soc.* 128, 4136-45.
3. Kimura, Y., Alric, J., Vermeglio, A., Masuda, S., Hagiwara, Y., Matsuura, K., Shimada, K., Nagashima, K. V. P. (2007) A new membrane-bound cytochrome c works as an electron donor to the photosynthetic reaction center complex in the purple bacterium, *Rhodovulum sulfidophilum*. *J. Biol. Chem.* 282, 6463-6472.
4. Drews, G. and Golecki, J. R. (1995) Structure, molecular organization and biosynthesis of membranes of purple bacteria. In *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria* (Blankenship, R. E., Madigan, M. T. and Bauer, C. E., Eds), pp231-257. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
5. Shimada, K., Mimuro, M., Tamai, N. and Yamazaki, I. (1989) Excitation energy transfer in *Rhodobacter sphaeroides* analysed by the time-resolved fluorescence spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 975, 72-79.
6. Robert, B., Cogdell, R. J. and van Grondelle, R. (2003) The light-harvesting system of purple bacteria, in *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis* (Green, B. R. and Parson, W. W., Eds), pp169-194. Kluwer Academic Publishers.
7. Sturgis, J. N. and Niederman, R. A. (2009) Organization and assembly of light-harvesting complexes in the purple bacterial membrane, in *The Purple Phototrophic Bacteria* (Hunter, C. N., Daldal, F., Thurnauer, M. C. and Beatty, J. T., Eds.), pp. 253-273. Springer Science + Business Media BV.
8. Itoh, M., Matsuura, K., Shimada, K. and Satoh, T. (1988) Changes in the content of pigment-protein complexes in *Rhodobacter sphaeroides* f. sp. *dentrificans* grown under photosynthetic and photo-

denitrifying conditions. *Biochim. Biophys. Acta* 936, 332-338.

Prospect of Future Work Using Photosynthetic Bacteria

Keizo Shimada*

Department of Biological Sciences, Tokyo Metropolitan University

光栄養細菌の多様性 —ゲノムおよびメタゲノム解析から見えてきたもの—[‡]

豊橋技術科学大学 環境・生命工学系
平石 明

1. はじめに

光栄養細菌 (phototrophic bacteria) は、光エネルギーを利用して生体膜を介したプロトンの電気化学ポテンシャル差を形成し、化学エネルギーに変換する細菌の総称である。光栄養細菌の中で炭素源として二酸化炭素を利用するものは、特に光合成細菌 (photosynthetic bacteria) と呼ばれる。実際は、多くの光栄養細菌が CO₂ 固定能をもつので、光合成細菌と光栄養細菌は同義語として使われている場合が多い。これらは、一般に細菌ドメイン (domain *Bacteria*) に属する、クロロフィル (Chl) あるいはバクテリオクロロフィル (BChl) を含有する光栄養原核生物を指す。狭義には、藍色細菌 (シアノバクテリア) を除いた光栄養細菌、すなわち、酸素非発生源型光合成を行う細菌群を指す場合もある。とはいえ、藍色細菌の分類は国際光栄養細菌分類委員会 (The Subcommittee on the taxonomy of phototrophic bacteria of the International Committee on Systematics of Prokaryotes) の管理下にあり、光栄養細菌の括りの中で分類体系が構築されている。

光エネルギーを利用する原核生物は、葉緑素型の光栄養細菌だけではない。ある種の好塩アーキアは光駆動のプロトンポンプであるバクテリオロドプシン (bacteriorhodopsin, BR) を有し、光従属栄養的に増殖する。さらに、BR 類似のプロテオロドプシン (proteorhodopsin, PR) を有する細菌も存在する。現在、これらの BR 含有アーキアや PR 含有細菌も光栄養微生物として取り扱われている。

本稿では、光栄養細菌の多様性に関してその基礎となる系統・分類体系についての現状を述べるとともに、ゲノミクス・メタゲノミクスの適用によって得られてきた多様性や生態に関する最近の知見につい

て紹介する。なお、ここでは混乱を避けるために、特記しない限り、葉緑素をもつ細菌ドメインの原核生物のみを光栄養細菌と呼ぶことにし、その他の光栄養原核生物については、適宜 BR 含有微生物、PR 含有細菌といった表現を用いる。

2. 系統・分類およびゲノミクスの現状

光栄養細菌の記載は古く19世紀後半にまでさかのぼる。それ以来、もっぱら細胞形態、酸素発生の有無、硫黄粒子の形成、培養液の色、光合成色素の型などの表現型に基づいて分類が行われてきた。糸状性酸素非発生源型光栄養細菌 (filamentous anoxygenic phototrophic bacteria、以下糸状性光栄養細菌と呼ぶ)、緑色硫黄細菌 (green sulfur bacteria)、藍色細菌 (cyanobacteria)、紅色硫黄細菌 (purple sulfur bacteria)、紅色非硫黄細菌 (purple nonsulfur bacteria) という呼称は、このような性状に基づく慣用名である。1980年代から本格化した16S rRNA の塩基配列に基づく系統・分類法は光栄養細菌にもいち早く適用され、高次分類体系の大幅な改善・再編が行われてきた。そして、2005年のバージェイズ・マニュアル第2版の出版によって、完全ではないにしろ階層分類体系がひとまず完成した。現在、糸状性光栄養細菌、緑色硫黄細菌、藍色細菌、ヘリオバクテリア、紅色細菌の各光栄養細菌は、それぞれ対応する門として分類されるに至っている (表1)。また2007年に、温泉試料のメタゲノム解析によって、アシドバクテリア門 *Acidobacteria* 内に酸素非発生源型好気性光栄養細菌 (aerobic anoxygenic phototrophic [AAP] bacteria) としての光栄養原核生物が初めて見つかった¹⁾。しかし、緑色硫黄細菌や藍色細菌の属・種については、古くから行われてきた形態や光合成色素などの

[‡] 解説特集「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」

* 連絡先 E-mail: hiraishi@ens.tut.ac.jp

表1 光栄養細菌の系統群

和名/慣用名	門 (phylum)	光化学系		酸素 発生	光栄養性	
		I	II		嫌気	好気
糸状性光栄養細菌	クロロフレクサス (<i>Chloroflexi</i>)	-	+	-	+	-
緑色硫黄細菌	緑色細菌 (<i>Chlorobi</i>)	+	-	-	+	-
藍色細菌	藍色細菌 (<i>Cyanobacteria</i>)	+	+	+	-*	-*
クロラシドバクテリア	アシドバクテリア (<i>Acidobacteria</i>)	+	-	-	-	+
ヘリオバクテリア	ファーミキューテス (<i>Firmicutes</i>)	+	-	-	+	-
紅色細菌	プロテオバクテリア (<i>Proteobacteria</i>)	-	+	-	+	+

* 藍色細菌は嫌気、好気に関係なく光合成を行うが、副産物として酸素を発生するので自動的に好気条件になる。

表現型分類と分子系統との不一致が解消されておらず、特に藍色細菌においては目(order)以下の分類体系については混乱している(後述)。

1996年、藍色細菌 *Synechocystis* sp. PCC6803 株の全ゲノム解析データが報告された²⁾。これが光栄養細菌を対象とする全ゲノム解析の最初の例であり、全生物種の中では3番目にあたる。それ以来、藍色細菌を中心として多数の光栄養細菌株について全ゲノムデータが報告・公開されており、本稿の執筆時点で100例近くになっている。これまで報告された光栄養細菌株のゲノムサイズは1.7~9 Mbの範囲にあるが、最小、最大のゲノムとも藍色細菌の種で報告されている³⁻⁵⁾。また、メタゲノム解析からは1.44 Mbの藍色細菌のゲノムが得られている(後述)。全ゲノム解析が完了している主な酸素非発生型光栄養細菌を表2に示す。系統的には紅色非硫黄細菌および緑色硫黄細菌が多く報告されており、ヘリオバクテリアや紅色硫黄細菌の解析例はまだ少ない。

全ゲノム情報は光栄養細菌のみならず、原核生物全体の分類体系の構築に貢献するものとして大きな期待があったが、いざ蓋を開けてみると、機能不明なORFが多数存在することや系統間を越える遺伝子の水平伝播の事実が多数見いだされ、分類体系の構築に新たな課題を突き付ける形となっている。そもそも原核生物の種概念は確立されておらず、ゲノムDNAの雑種交雑形成率の70%を便宜的な遺伝的同一種の境界としている。また、この遺伝的境界に相当する16S rRNA 遺伝子の配列は平均で98.7~99.0%であるが⁶⁾、100%の配列の相同性をもつ菌株同士であっても、70%以下のDNA-DNA交雑形成率を示す例が少なくない。過去、特に緑色硫黄細菌や藍色細菌の種は、多くが形態・培養生理学的特徴のみ、あるいは16S rRNA 遺伝子の配列のみに基づいて記載されており、分子遺伝的根拠が

希薄なまま種名が付けられた菌株を用いて全ゲノム解析が行われているものも多い。

3. 糸状性光栄養細菌

クロロフレクサス門は糸状性光栄養細菌と化学栄養細菌(chemotrophic bacteria)が混在する系統群であり、下位分類群としていくつかの綱が設定されている。光栄養細菌はすべてクロロフレクサス綱 *Chloroflexi*、クロロフレクサス目 *Chloroflexales* に集中しており、近縁の化学栄養細菌群として同綱内にヘルペトシフォン目 *Herpetosiphonales* がある。糸状性光栄養細菌は通性嫌気性の光従属栄養細菌である。光・嫌気条件下では光化学系II型のBChl *a*-結合反応中心を形成して酸素非発生型光合成を行うが、光捕集系としてクロロソームを形成するもの(*Chloroflexus*、*Chloronema*、および *Oscillochloris*)としないもの(*Heliothrix*および *Roseiflexus*)とに分けられる。クロロソームには補助色素として BChl *c* あるいは BChl *d* およびカロテノイドが含まれている。しかし、同じくクロロソームをもつ緑色硫黄細菌とは異なり、Fenna-Matthews-Olson (FMO) タンパク質を欠く。

全ゲノム解析は *Chloroflexus* および *Roseiflexus* の既知種で完了しており、硫化物酸化能がある *Chlorothrix*、*Chloronema*、*Oscillochloris* の各属菌種でも進行中である。これらの細菌のゲノムサイズは4~6 Mbであり、クロロフレクサス綱内の化学栄養細菌 *Herpetosiphon*のそれよりもやや小さい。ゲノム解析データはまだほとんど誌上発表されていないが、米国イエローストーン国立公園の温泉微生物被膜から分離された *Roseiflexus* sp. のゲノム解析では、独立栄養性を示唆するヒドロゲナーゼや3-ヒドロキシプロピオン酸回路が存在することが確認されている⁷⁾。一方、硫化物酸化活性をもつ菌 (*Oscillochloris*など)には3-ヒ

表2 全ゲノム解析が完了した主な酸素非発生型光栄養細菌^{*1}

菌種・菌株 ^{*2}	門	ゲノムサイズ (Mb)	GC 含量(mol%)	ORFの数
嫌気性光栄養細菌				
<i>Chloroflexus aurantiacus</i> J-10-fl ^T	クロロフレクサス	5.26	56.6	3,966
<i>Chloroflexus aggregans</i> DSM 9485 ^T	クロロフレクサス	4.68	56.4	3,903
<i>Roseiflexus castenholzii</i> DSM 13941 ^T	クロロフレクサス	5.72	60.7	4,559
" <i>Chlorobium chlorochromatii</i> " CaD3	緑色細菌	2.57	44.3	2,096
<i>Chlorobium limicola</i> DSM 245 ^T	緑色細菌	2.76	51.3	2,576
<i>Chlorobium phaeobacteroides</i> BS1	緑色細菌	2.74	48.9	2,611
<i>Chlorobium phaeobacteroides</i> DSM 266 ^T	緑色細菌	3.13	48.4	2,848
<i>Chlorobium phaeovibrioides</i> DSM 265 ^T	緑色細菌	1.97	53	1,870
<i>Chlorobaculum parvum</i> NCIB 8327 ^T	緑色細菌	2.29	55.8	2,133
<i>Chlorobaculum tepidum</i> TLS ^T	緑色細菌	2.15	56.5	2,340
<i>Chloroherpeton thalassium</i> ATCC 35110 ^T	緑色細菌	3.29	45	2,710
<i>Pelodictyon luteolum</i> DSM 273 ^T	緑色細菌	2.36	57.3	2,187
<i>Pelodictyon phaeoclathratiforme</i> BU-1 ^T	緑色細菌	3.02	48.1	2,969
<i>Prosthecochloris aestuarii</i> DSM 271 ^T	緑色細菌	2.51	50	2,451
<i>Heliobacterium modesticaldum</i> Ice1 ^T	ファーミキューテス	3.08	57	3,269
<i>Rhodospirillum rubrum</i> ATCC 11170 ^T	プロテオバクテリア	4.35	65.4	3,987
<i>Rhodocista centenaria</i> SW ^T	プロテオバクテリア	4.36	70.0	4,002
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> TIE-1	プロテオバクテリア	5.74	64	5,377
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> CGA009	プロテオバクテリア	5.46	65	4,921
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> BisA53	プロテオバクテリア	5.51	64.4	5,026
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> BisB5	プロテオバクテリア	4.89	64	4,549
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> BisB18	プロテオバクテリア	5.51	64	5,072
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> HaA2	プロテオバクテリア	5.33	66	4,825
<i>Rhodobacter capsulatus</i> SB1003	プロテオバクテリア	3.74	66.0	3,587
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> 2.4.1 ^T	プロテオバクテリア	4.13	68.8	4,372
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17025	プロテオバクテリア	3.22	68.5	4,531
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17029	プロテオバクテリア	4.42	69.0	4,320
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KD131	プロテオバクテリア	4.45	68.7	4,325
<i>Allochlomatium vinosum</i> DSM 180 ^T	プロテオバクテリア	3.53	64	3,190
<i>Halorhodospira halophila</i> SL1 ^T	プロテオバクテリア	2.67	68.0	2,514
好気性光栄養細菌				
<i>Acidiphilium cryptum</i> JF-5	プロテオバクテリア	3.39	67.1	3,746
" <i>Citromicrobium bathyomarinum</i> " JL354	プロテオバクテリア	3.27	65.0	3,401
<i>Dinoroseobacter shibae</i> DFL-12 ^T	プロテオバクテリア	3.79	65	4,321
<i>Erythrobacter litoralis</i> HTCC 2594	プロテオバクテリア	3.01	63.1	3,102
<i>Methylobacterium extorquens</i> PA1	プロテオバクテリア	5.47	68.2	5,012
<i>Methylobacterium extorquens</i> AM1	プロテオバクテリア	5.51	68	5,075
<i>Methylobacterium radiotolerans</i> JCM 2831 ^T	プロテオバクテリア	6.08	71.5	6,588
<i>Roseobacter denitrificans</i> OCh 114 ^T	プロテオバクテリア	4.13	59	4,229

^{*1} Genomes OnLine Database (GOLD) v 3.0 (<http://www.genomesonline.org/>) による。

^{*2} 上付きTで示した菌株はその種の基準株。引用符で囲んだ種名は非正当名の種。

ドロキシプロピオン酸回路の主要酵素はなく、炭酸固定系はカルビン回路である⁸⁾。

4. 緑色硫黄細菌

緑色細菌門 *Chlorobi* は、従来緑色硫黄細菌のみで構成される系統群と思われてきたが、緑色硫黄細菌群と深い分岐を示す化学栄養細菌イグナヴィバクテリア綱 *Ignavibacteria* が提唱され、従来の緑色硫黄細菌の種はすべて緑色細菌綱 *Chlorobea* (*Chlorobia*) として分類された⁹⁾。緑色硫黄細菌は光化学系Iの反応中心、クロロソーム、および BChl *a* 結合 FMO タンパク質を有する。また、還元型硫黄化合物を電子供与体として二酸化炭素を固定し、光無機独立栄養的に生育する。

緑色硫黄細菌のゲノムサイズは2.1~3.3 Mb (ORF数は2,000~3,000) であり、他の光栄養細菌のそれに比べると小さい (表2)。ゲノミックスの比較データからは、1,400~1,500の遺伝子が共有されていることがわかっており、その中には特徴ある光合成色素の合成経路とともに、硫化物、水素、還元鉄などの酸化能、還元的TCA回路による炭酸固定系なども確認されている。カロテノイド合成系は、他の系統の酸素非発生源型光栄養細菌よりもむしろ藍色細菌のそれに近い。一方、有機物の取り込みに関わると思われる遺伝子や転写制御の遺伝子は少なく、また、2成分系シグナル伝達ではたらくヒスチジンキナーゼを大部分欠いている。緑色硫黄細菌の大部分は光混合栄養性の性質も有しているが、ゲノミックスのデータは、これらの細菌が光無機独立栄養に特化した狭い環境条件での生育様式に進化してきたことを示している^{10,11)}。

緑色硫黄細菌は、その名の通り培養液が緑色を呈する菌種と茶色になる菌種とに大別される。これらは主要葉緑素 (BChl *c, d, e*) とカロテノイド色素の化学成分組成に由来している。従来、これらの色に関する性質や細胞形態などの表現型に基づいて種が記載されて来たため、その分類体系は分子系統やゲノム構造と一致しない部分が多い。たとえば、16S rRNA と FMO 遺伝子に基づく系統関係はほぼ一致するが、培養液の色や光合成色素の組成とは対応せず、表現型の違いもふまえて属レベルで明確な輪郭を引くことが難しくなっている。この中で、中度好熱菌 *Chlorobium tepidum* は *Chlorobium chlorovibrioides*、*Chlorobium vibrioforme* subsp. *thiosulfatophilum* とともに *Chlorobaculum* 属として再分類されている¹²⁾。

5. 藍色細菌

藍色細菌は生物の進化や多様性、そして現在の生物地球化学的循環を考える上で重要な光栄養細菌である。ゲノム解析においても光栄養生物の中で最も進んでいる。しかし、多様性研究の基盤となる藍色細菌門内の分類体系は今なお混乱している。国際細菌命名規約に照らし合わせた正当な属名も *Halospirulina*、*Planktothricoides*、*Prochlorococcus*、*Prochloron*、*Prochlorothrix*、*Rubidibacter* の6属しかない (多くは、基準株を2カ国以上の culture collection に寄託するという条件を満たしていないことによる)。この混乱ぶりは、*Synechococcus* 属とされている種・株が藍色細菌を構成する3つの分岐群 (下記) にまたがって存在していることからわかる。また、現存の *Prochlorococcus marinus* 菌株も異なる属を構成すると考えられる雑多な集団である。

藍色細菌は、ゲノム構造に基づいて *Gloeobacter* などからなる分岐群 (clade) A、*Nostoc* などが含まれる分岐群B、および *Prochlorococcus* を中心とする分岐群Cの3群に分かれることが示されている¹³⁾。その中で、39個のタンパク質がほとんどすべての種に特有なものとして見られた他、それぞれの分岐群に多くの signature が存在する。たとえば、分岐群Cのフラボタンパク質には6 aa 挿入セットが、分岐群C内の *Prochlorococcus marinus* のヘムオキシゲナーゼには2 aa 挿入セットおよびプロトクロロフィリド酸化還元酵素における1 aa 欠失セットが見られる。しかし、分岐群に特有な遺伝子の多くは機能がよくわからないタンパク質をコードしている。

各門に属する酸素非発生源型光栄養細菌が比較的狭い範囲のゲノムサイズを持つのに対し、藍色細菌のゲノムサイズは範囲が広い (上述)。これは藍色細菌が非常に多様化しながら進化して来たことを示唆している。*Prochlorococcus* は海洋において最も多数を占める藍色細菌の一つであるが、同種あるいは近縁種と思われる本属細菌においてゲノムサイズが大幅に異なることが報告されている^{3, 4)}。このようなゲノム構造の違いは、生息環境の深度に応じた異なる生態型 (ecotype) として現れている¹⁴⁾。海洋中に広く分布している UCYN-A と名付けられた藍色細菌¹⁵⁻¹⁷⁾ は、メタゲノム解析でその存在が明らかにされた。この細菌はゲノムサイズが1.44 Mb、ORF の数が1,199 しかなく、カル

ピン回路やTCA回路などの代謝機能を欠いている。さらに光化学系IIがなく光化学系Iのみの反応中心をもつ。したがって、酸素発生もしないと推察される。光合成の進化や生態的意義を考える上で興味深い生物である。

地中海において最大値の葉緑素濃度を示す深度部分のメタゲノム解析では、強光適応型の*Prochlorococcus marinus*、*Synechococcus*、*Candidatus Pelagibacter* (後述) が優占していること、そして細胞サイズの画分に多数のウイルス (シアノファージ) が存在することが報告されている¹⁸⁾。*Prochlorococcus*や*Synechococcus*に感染するウイルスは、藍色細菌由来の光合成遺伝子 (*psbA*や*hli*など) をもつが、宿主感染中にそれらの遺伝子が発現してウイルスのカプシド遺伝子と同時転写されることが明らかにされている¹⁹⁾。また、感染中には宿主の光合成遺伝子の発現量が低下する一方、ウイルスゲノムの複製が光合成機能の1つとなり、宿主による光合成関連タンパク質の生産を補っているらしい。このような宿主とウイルス間での遺伝物質の移動が双方の遺伝的および機能的な多様性に影響を与えていると考えられる²⁰⁾。

6. クロラシドバクテリア

クロラシドバクテリアは、イエローストーン国立公園のアルカリ性温泉堆積物のメタゲノム解析によって見つかったAAP細菌であり、アシドバクテリア門に属する¹⁾。光栄養細菌としてAAP細菌のみを含む系統はこれまで本門以外には知られていない。"*Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*"と名付けられたこのAAP細菌は好気条件下における集積培養で光従属栄養的に生育し、BChl *a* および BChl *c* を生合成する。また、光化学系Iの反応中心およびクロロソームをもつ。本菌から分離・生成された BChl *a* 結合 FMO タンパク質は、緑色硫黄細菌のそれとは異なる特徴ある分光特性をもつことから、この違いは好気的光栄養性を示すことと関係があるのではないかと推察されている²¹⁾。

光栄養細菌を含めて原核生物の新種の発表は、その種の純粋培養株が2カ国以上の culture collection に寄託されていることが前提となる。しかし、DNAクローン解析やメタゲノム解析が進んでくると、純粋分離は困難であるがDNAの配列上では存在が確認できる新規原核生物が多数出てくる。このような微生物に対して

は、形態や生態などの特性が明確になっている場合に限って、*Candidatus* という条件付きの学名をつけることができる²²⁾。ただし、*Candidatus* は国際細菌命名規約上にはない概念なので、新属、新種として発表することはできない。クロラシドバクテリアは*Candidatus* の概念で学名が付けられた最初の光栄養細菌である。

7. ヘリオバクテリア

ヘリオバクテリアはファーミキューテス門、クロストリディア綱 *Clostridia*、クロストリディア目 *Clostridiales* に属する絶対嫌気性の光栄養細菌であり、土壤中の嫌気的環境を主な生息域とする。光化学系Iの反応中心をもち、その電子供与体およびアンテナ色素として BChl *g* を用いている。BChl *g* は、酸素存在下で光エネルギーを吸収すると Chl *a* 様物質へと異性化することが知られている。

ヘリオバクテリアのゲノム解析は他の光栄養細菌の系統に比べると遅れている。*Heliobacterium modesticaldum* Ice1^T は 3.1 Mb の環状ゲノムと 3,138 の ORF をもつ²³⁾。このゲノム上には、カルビン回路、3-ヒドロキシプロピオン酸回路などの独立栄養性に関わる遺伝子が見当たらず、本菌が有機従属栄養性という表現型とも一致する。また、紅色非硫黄細菌 *Rhodobacter capsulatus* の光合成遺伝子群に相同な遺伝子が、BChl合成酵素遺伝子を除いてほとんど見当たらない。*Heliobacterium modesticaldum* はそのゲノムサイズと合わせて、代謝機能を合理的に進化させた生物と考えられる。すなわち、光エネルギーの利用性はあるものの、他の系統の光栄養細菌とは異なり有機従属栄養性に特化した性質をもつ細菌と考えられる。厳密に言えば、本菌は光栄養細菌ではあるが光合成細菌ではないということになる。

8. 紅色細菌

嫌気的光合成を行う紅色細菌はすべてプロテオバクテリア門に属し、さらに紅色非硫黄細菌はアルファプロテオバクテリア綱 *Alphaproteobacteria* およびベータプロテオバクテリア綱 *Betaproteobacteria* に、紅色硫黄細菌はガンマプロテオバクテリア綱 *Gammaproteobacteria* に含まれる²⁴⁾。特に紅色非硫黄細菌は、光栄養細菌の中でも最も多様な生育特性をもつ菌群であり、光無機独立栄養、光無機従属栄養、光有機従属栄養、化学無機独立栄養、化学有機栄養、好気

呼吸、嫌気呼吸、発酵など、さまざまな様式で生育することができる。また、紅色細菌の一部の菌種は還元鉄^{25, 26}や亜硝酸塩を酸化する能力がある^{27, 28}。

多くの紅色細菌株において全ゲノム解析が完了しており、2.3~5.7 Mbのゲノムサイズが報告されている。ゲノムサイズは紅色非硫黄細菌よりも紅色硫黄細菌で小さい傾向があるが、解析完了株はアルファプロテオバクテリア綱の特定菌種に集中しているため、紅色細菌全体を比較するという段階までには至っていない。この中で、*Rhodospseudomonas palustris* CGA009株のゲノミクスデータは紅色非硫黄細菌の生理学的多様性を裏付けている²⁹。本菌ゲノムの15%が輸送に関する遺伝子であり、一般の細菌ゲノムにおけるそれ(5~6%)と比べると割合が高い。

Odaら³⁰は *Rps. palustris* の複数菌株(表2に示すCGA009株以下の5株)についてゲノム構造を比較した結果、同一種でありながらそれらのゲノムに多様性が見られることを報告している。しかし、この比較では本菌種の基準株が用いられておらず、そもそも解析された菌株が *Rps. palustris* であるという遺伝的根拠がない。事実、*puf* 遺伝子や16S-23S rDNA スペーサー領域を用いた比較解析では、当該の *Rps. palustris* 菌株の中で、本菌種と同定できたものはCGA009株のみであり、他の4株は *Rhodospseudomonas* 属の他菌種あるいは新種とすべき菌であった³¹。

紅色細菌の反応中心タンパク質の遺伝子 *puf* は、アルファプロテオバクテリアとベータプロテオバクテリアの間で水平伝播したことが報告されている³²。一方、紅色硫黄細菌内の菌種では、系統を反映できるマーカーとして報告されている³³。

9. AAPプロテオバクテリア

AAP細菌の研究は、1978年に好気性のメタノール酸化性細菌(現在の *Methylobacterium* 属細菌)によるBChl *a* 生産が報告されたことに端を発する。そしてほぼ同じ時期に BChl 含有の海洋性細菌 (*Erythrobacter* や現在の *Roseobacter*) が発見された。前記のクロラシドバクテリアを除けば、これまで分離されたAAP細菌はすべてプロテオバクテリア門に属している。AAP細菌の生息域を見ると貧栄養環境が多く、呼吸基質が不足しがちな生理学的状態を光エネルギーで補っていることが推察されている。たとえば、鉱山排水などの無機酸性環境に生息する亜鉛型BChl *a* をもつ *Acidiphilium*

属細菌³⁴や、外洋に広く生息する多くの海洋性AAP細菌はこの例である。

海洋性AAP細菌は、一般的な海洋の表層域に分布し、その存在量は微生物の全生物量の10%以上にまで達すると言われており、一次生産や生物地球化学的循環に重要な役割を果たしていることが指摘されている³⁵。また、AAP細菌は海底の熱水噴出孔周辺や500-2379 mの深度の高い海洋からも見ついている³⁶。深海AAP細菌である "*Citromicrobium bathyomarimum*" JF354株のゲノムは、他の海洋性AAP細菌と同様な3.3 Mbの大きさであるが、光合成遺伝子群(オペロン)を2つ持つという特徴がある³⁷。*Roseobacter denitrificans* OCh114^T株³⁸および *Dinoroseobacter shibae* DFL12^T株³⁹のゲノム解析ではカルビン回路が検出されず、光合成よりも光混合栄養あるいは光従属栄養的な代謝をもつことが示されている。

従来、海洋性AAP細菌の純粋分離株はアルファプロテオバクテリア綱に属する種しか知られていなかった。ところが、海洋表層水のメタゲノム解析の結果、ベータプロテオバクテリアやガンマプロテオバクテリアに属するものも広く生息していることが明らかとなってきた⁴⁰⁻⁴³。

9. BR含有細菌とPR含有細菌

バクテリオロドプシン(BR)は光によって活性化するプロトンポンプであり、アポタンパクであるバクテリオオプシンと発色団レチナルからなる色素タンパク質である。BR含有の高度好塩アーキアは好気性であるが、嫌気・光条件下でも生育できる。BRは当初アーキアに発見され、細菌ドメインには知られていなかった。しかし、バクテロイデス門 *Bacteroidetes* に属する *Salinibacter ruber* DSM 13855^T株の全ゲノム解析において、この細菌が4つのBR様遺伝子を含むことがわかった⁴⁴。そのうちの1つはPRと類似するが、残りの3つは好塩アーキアのBRと相同性があり、アーキアと細菌の間のドメインを越えた水平伝播が推察された。*Salinibacter ruber*のPR様構造はレチナルタンパク質とカロテノイドから成る色素タンパク複合体であり、キサントロドプシン(xanthorhodopsin)と名付けられている⁴⁵。

プロテオロドプシン(PR)は、海水由来の大量ゲノムDNA断片のメタゲノム解析からBRと似た働きをす

るタンパク質として見つかった^{46, 47)}。その後のメタゲノム解析により、海洋やその他の水域に系統的に多様なPR遺伝子が広範囲に分布していることがわかり⁴⁸⁻⁵⁰⁾、光栄養生物としてのPR含有細菌の潜在的役割が重要視されるようになった。さらに、細菌とアーキア(テルモプラズマ目 *Thermoplasmatales*) 間のPR遺伝子の水平伝播も示唆されている⁵¹⁾。

PR含有細菌として、海洋中での偏在が明らかになったSAR11群がある⁵⁰⁾。この系統群は、アルファプロテオバクテリア綱リケッチア目と系統的類縁性があり、非常に小さな細胞をもつ。"*Candidatus Pelagibacter ubique*"はSAR11群に属する細菌として初めて培養され、高圧滅菌した海水中でも、天然の海洋中でもPR遺伝子を発現することがわかった。しかし、この遺伝子は明暗のどちらの条件下で培養しても発現され、細胞の増殖速度や細胞収量には違いがなかった。PR含有細菌における光従属生育はバクテロイデス門の *Dokdonia* sp.でも観察されている⁵²⁾。

PR含有細菌の自然界での偏在性によって、光栄養生物の研究は新局面を迎えている。この点に関して課題や展望が総説されている^{53, 54)}。

10. おわりに

21世紀になって新しいDNAシーケンシングの原理に基づいたゲノムシーケンサーが登場し、低コストかつ比較的簡単にゲノム情報が得られるようになってきた。2010年の時点での原核生物の全ゲノム解析実績は、解析中のものを含めると約6,000例に達する。近い将来、光栄養細菌を含めた全ての原核生物記載種のゲノムデータが揃うことになるかもしれない。ゲノミクスおよびメタゲノミクスは、新しい藍色細菌、AAP細菌、PR含有細菌の発見とともに機能に関する様々な新情報をもたらすなど、光栄養生物に関する従来の概念や常識を塗り替えつつある。今後さらに、進化、多様性、機能、生態などを統合的に解釈できる手段としてこの分野での中心的役割を果たしていくだろう。

ゲノムベースでの解析は今後ますます加速されることは間違いないが、そのためには比較対照となる純粋分離株の分類と系統の整備が必要であり、微生物遺伝資源保存機関の役割がさらに重要になってくる。その上で、多様性の基盤となる種の問題についての科学的見解が深まって行くことを期待したい。

謝辞

本稿の内容の一部は、2010年3月に開催された嶋田敬三先生退官記念シンポジウム「光合成の研究が培ってきたもの」で紹介したものである。筆者と光栄養細菌との関わりにおいて、常に有意義なご助言とご指導をいただいた首都大学東京名誉教授嶋田敬三先生、ならびに本稿執筆の機会を与えていただいた首都大学東京准教授永島賢治先生に深謝の意を表す。

Received July 4, 2010, Accepted July 15, 2010, Published August 31, 2010

引用文献

- Bryant, D. A., Costas, A. M., Maresca, J. A., Chew, A. G., Klatt, C. G., Bateson, M. M., Tallon, L. J., Hostetler, J., Nelson, W. C., Heidelberg, J. F., Ward, D. M. (2007) *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*: An aerobic phototrophic acidobacterium. *Science* 317, 523-526.
- Kaneko, T., Sato, S., Kotani, H., Tanaka, A. *et al.* (1996) Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. *DNA Res.* 3, 109-136.
- Rocarp, G., Larimer, F. W., Lamerdin, J., Malfatti, S. *et al.* (2003) Genome divergence in two *Prochlorococcus* ecotypes reflects oceanic niche differentiation. *Nature* 424, 1042-1047.
- Dufresne, A., Salanoubat, M., Partensky, F., Artiguenave, F. *et al.* (2003) Genome sequence of the cyanobacterium *Prochlorococcus marinus* SS120, a nearly minimal oxyphototrophic genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100, 10020-10025.
- Meeks, J. C. *et al.* (2001) An overview of the genome of *Nostoc punctiforme*, a multicellular, symbiotic cyanobacterium. *Photosynth. Res.* 70, 85-106.
- Stachebrandt, E. and Ebers, J. (2006) Taxonomic parameters revised: Tarnished gold standards. *Microbiol. Today* 6, 152-155.
- van der Meer, M. T., Klatt, C. G., Wood, J., Bryant, D. A., Bateson, M. M., Lammerts, L., Schouten, S., Damsté, J. S., Madigan, M. T., and Ward, D. M. (2010) Cultivation and genomic, nutritional, and lipid biomarker characterization of *Roseiflexus* strains closely related to predominant in situ populations inhabiting Yellowstone hot spring microbial mats. *J. Bacteriol.* 192, 3033-3042.
- Turova, T. P., Spiridonova, E. M., Slobodova, N. V., Bulygina, E. S., Keppen, O. I., Kuznetsov, B. B., and

- Ivanovskii, R. N. (2006) Phylogeny of anoxygenic filamentous phototrophic bacteria of the family *Oscillochloridaceae* as inferred from comparative analyses of the *rrs*, *cbbL*, and *nifH* genes. *Mikrobiologiya*, 75, 235-244.
9. Iino, T., Mori, K., Uchino, Y., Nakagawa, T., Harayama, S., and Suzuki, K. (2010) *Ignavibacterium album* gen. nov., sp. nov., a moderately thermophilic anaerobic bacterium isolated from microbial mats at a terrestrial hot spring and proposal of *Ignavibacteria* classis nov., for a novel lineage at the periphery of green sulfur bacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60, 1376-1382.
 10. Chew, A. G., Li, H., Maresca, J. A., and Bryant, D. A. (2003) *Chlorobium tepidum*: insights into the structure, physiology, and metabolism of a green sulfur bacterium derived from the complete genome sequence. *Photosynth Res.* 78, 93-117.
 11. Frigaard, N.-U. and Bryant, D. A. (2004) Seeing green bacteria in a new light: genomics-enabled studies of the photosynthetic apparatus in green sulfur bacteria and filamentous anoxygenic phototrophic bacteria. *Arch. Microbiol.* 182, 265-276.
 12. Imhoff, J. F. (2003) Phylogenetic taxonomy of the family *Chlorobiaceae* on the basis of 16S rRNA and *fmo* (Fenna-Matthews-Olson protein) gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 941-951.
 13. Gupta, R. S. and Divya W Mathews, D. W. (2010) Signature proteins for the major clades of Cyanobacteria. *BMC Evol. Biol.* 10, 24., January 25 published online.
 14. Delong, E. Preston, C. M., Mincer, M. *et al.* (2006) Community genomics among stratified microbial assemblages in the ocean's interior. *Science* 311, 496-503.
 15. Zehr, J. P., Bench, S. R., Carter, B. J., Hewson, I., Niazi, F., Shi, T., Tripp, H. J., and Affourtit, J. P. (2008) Globally distributed uncultivated oceanic N₂-fixing cyanobacteria lack oxygenic photosystem II. *Science* 322, 1110-1112.
 16. Tripp, H. J., Bench, S. R., Turk, K. A., Foster, R. A., Desany, B. A., Niazi, F., Affourtit, J. P., and Zehr, J. P. (2010) Metabolic streamlining in an open-ocean nitrogen-fixing cyanobacterium. *Nature* 464, 90-94.
 17. Moisaner, P. H., Beinart, R. A., Hewson, I., White, A. E., Johnson, K. S., Carlson, C. A., Montoya, J. P., and Zehr, J. P. (2010) Unicellular cyanobacterial distributions broaden the oceanic N₂ fixation domain. *Science* 327, 1512-1514.
 18. Ghai, R., Martin-Cuadrado, A.-B., Molto, A. G. *et al.* (2010) Metagenome of the Mediterranean deep chlorophyll maximum studied by direct and fosmid library 454 pyrosequencing. *ISME J.* April 15 published online.
 19. Lindell, D., Jaffe, J. D., Johnson, Z. I., Church, G. M., and Chisholm, S. W. (2005) Photosynthesis genes in marine viruses yield proteins during host infection. *Nature* 438, 86-89.
 20. Coleman, M. L., Sullivan, M. B., Martiny, A. C., Steglich, C., Barry, K., Delong, E. F., and Chisholm, S. W. (2006) Genomic islands and the ecology and evolution of *Prochlorococcus*. *Science* 311, 1768-1770.
 21. Tsukatani, Y., Wen, J., Blankenship, R. E., and Bryant, D. A. (2010) Characterization of the FMO protein from the aerobic chlorophototroph, *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum*. *Photosynth. Res.* 104, 201-209.
 22. Murray, R.G.E. and Schleifer, K.H. (1994) Taxonomic notes: a proposal for recording the properties of putative taxa of procaryotes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44, 174-176.
 23. Sattley, W. M., Madigan, M. T., Swingley, W. D. *et al.* (2008) The genome of *Heliobacterium modesticaldum*, a phototrophic representative of the *Firmicutes* containing the simplest photosynthetic apparatus. *J. Bacteriol.* 190, 4687-4696.
 24. Imhoff, J. F., Hiraishi, A., and Suling (2005) Anoxygenic phototrophic purple bacteria. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition, Vol. 2, The *Proteobacteria*, Part A Introductory Essays, ed. by D. J. Brenner, N. R. Krieg, and J. T. Staley, Editor-in-Chief G. M. Garrity, Springer, pp. 119-132.
 25. Widdel, F., Schnell, S., Heising, S., Ehrenreich, A., Assmus, B., and Schink, B. (1993) Ferrous iron oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria. *Nature* 362, 834-836.
 26. Hegler, F., Posth, N. R., Jiang, J., and Kappler, A. (2008) Physiology of phototrophic iron(II)-oxidizing bacteria: implications for modern and ancient environments. *FEMS Microbiol Ecol.* 66, 250-260.
 27. Griffin, B. M., Schott, J., Schink, B. (2007) Nitrite, an electron donor for anoxygenic photosynthesis. *Science* 16, 1870.
 28. Schott, J., Griffin, B. M., Schink, B. (2010) Anaerobic phototrophic nitrite oxidation by *Thiocapsa* sp. strain KS1 and *Rhodospseudomonas* sp. strain LQ17. *Microbiology* May 6 published online.
 29. Larimer, F. W., Chain, P., Hauser, L. *et al.* (2005) Complete genome sequence of the metabolically versatile photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas palustris*. *Nat. Biotechnol.* 22, 55-61.
 30. Oda, Y., Larimer, F. W., Chain, P. S. *et al.* (2008) Multiple genome sequences reveal adaptations of a phototrophic bacterium to sediment microenvironments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 18543-18548.
 31. Okamura, K., Takata, K., and Hiraishi, A. (2009) Intrageneric relationships of members of the genus *Rhodospseudomonas*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 55, 469-478.
 32. Igarashi, N., Harada, J., Nagashima, S., Matsuura, K., Shimada, K., and Nagashima, K. V. (2001) Horizontal transfer of the photosynthesis gene cluster and operon rearrangement in purple bacteria. *J. Mol. Evol.* 52, 333-341.
 33. Tank, M., Thiel, V., and Imhoff, J. F. (2009) Phylogenetic relationship of phototrophic purple sulfur

- bacteria according to *pufL* and *pufM* genes. *Int. Microbiol.* 12, 175-185.
34. Hiraishi, A. and Shimada, K.: Aerobic anoxygenic photosynthetic bacteria with zinc bacteriochlorophyll. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 47, 161 (2001).
 35. Kolber, Z. S., Plumley, F. G., Lang, A. S., Beatty, J. T., Blankenship, R. E., VanDover, C. L., Vetriani, C., Koblizek, M., Rathgeber, C., and Falkowski, P. G. (2001) Contribution of aerobic photoheterotrophic bacteria to the carbon cycle in the ocean. *Science* 292, 2492-2495.
 36. Rathgeber, C., M. T. Lince, J. Alric, A. S. Lang, E. Humphrey, R. E. Blankenship, A. Vermeglio, F. G. Plumley, C. L. Van Dover, J. T. Beatty, and V. Yurkov, V. (2008) Vertical distribution and characterization of aerobic phototrophic bacteria at the Juan de Fuca Ridge in the Pacific Ocean. *Photosynth. Res.* 97, 235-244.
 37. Jiao, N., Zhang, R., and Zheng, Q. (2010) Coexistence of two different photosynthetic operons in *Citromicrobium bathyomarinum* JL354 as revealed by whole-genome sequencing. *J. Bacteriol.* 192, 1169-1170.
 38. Swingley, W. D., Sadekar, S., Mastrian, S. D. *et al.* (2007) The complete genome sequence of *Roseobacter denitrificans* reveals a mixotrophic rather than photosynthetic metabolism. *J. Bacteriol.* 189, 683-690.
 39. Wagner-Döbler, I., Ballhausen, B., Berger, M. *et al.* (2009) The complete genome sequence of the algal symbiont *Dinoroseobacter shibae shibae*: a hitchhiker's guide to life in the sea. *ISME J.* 4, 61-77.
 40. Béjà, O., Suzuki, M. T., Heidelberg, J. F., Nelson, W. C., Preston, C. M., Hamada, T., Eisen, J. A., Fraser, C. M., and DeLong, E. F. (2002) Unsuspected diversity among marine aerobic anoxygenic phototrophs. *Nature* 415, 630-633.
 41. Yutin, N., Suzuki, M. T., Teeling, H., Weber, M., Venter, J. C., Rusch, D. B., and Béjà, O. (2007) Assessing diversity and biogeography of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in surface waters of the Atlantic and Pacific Oceans using the Global Ocean Sampling expedition metagenomes. *Environ Microbiol.* 9, 1464-1475.
 42. Cho, J. C., Stapels, M. D., Morris, R. M., Vergin, K. L., Schwalbach, M. S., Givan, S. A., Barofsky, D. F., and Giovannoni, S. J. (2007) Polyphyletic photosynthetic reaction centre genes in oligotrophic marine Gammaproteobacteria. *Environ Microbiol.* 9, 1456-1463.
 43. Fuchs, B. M., Spring, S., Teeling, H., Quast, C., Wulf, J., Schattenhofer, M., Yan, S., Ferriera, S., Johnson, J., Glöckner, F. O., and Amann, R. (2007) Characterization of a marine gammaproteobacterium capable of aerobic anoxygenic photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104, 2891-2896.
 44. Mongodin, E. F., Nelson, K. E., Daugherty, S. *et al.* (2005) The genome of *Salinibacter ruber*: convergence and gene exchange among hyperhalophilic bacteria and archaea. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102, 18147-18152.
 45. Balashov, S. P., Imasheva, E. S., Boichenko, V. A., Antón, J., Wang, J. M., Lanyi, J. K. (2005) Xanthorhodopsin: a proton pump with a light-harvesting carotenoid antenna. *Science* 309, 2061-2064.
 46. Béjà, O., Aravind, L., Koonin, E. V. *et al.* (2000) Bacterial rhodopsin: evidence for a new type of phototrophy in the sea. *Science* 289, 1902-1906.
 47. Béjà, O., Spudich, J. L., Spudich, E. N., Leclerk, M., DeLong, E. F. : Proteorhodopsin phototrophy in the ocean. *Nature*, 411, 786-789 (2001).
 48. Venter, J. C., Remington, K., Heidelberg, J. F., Halpern, A. L. *et al.* (2004) Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science* 304, 66-74.
 49. Giovannoni, S. J., Tripp, H. J., Givan, S. *et al.* (2005) Genome streamlining in a cosmopolitan oceanic bacterium. *Science* 309, 1242-1245.
 50. Giovannoni, S. J., Bibbs, L., Cho, J. C. *et al.* (2005) Proteorhodopsin in the ubiquitous marine bacterium SAR11. *Nature* 438, 82-85.
 51. Frigaard, N.-U., Martinez, A., Mincer, T. J., and DeLong, E. F. (2006) Proteorhodopsin lateral gene transfer between marine planktonic Bacteria and Archaea. *Nature* 439, 847-850.
 52. Gómez-Consarnau, L., González, J. M., Coll-Lladó, M., Gourdon, P., Pascher, T., Neutze, R., Pedrós-Alió, C., and Pinhassi, J. (2007) Light stimulates growth of proteorhodopsin-containing marine Flavobacteria. *Nature* 445, 210-213.
 53. Bryant, D. A. and Frigaard, N.-U. (2006) Prokaryotic photosynthesis and phototrophy illuminated. *Trends Microbiol.* 14, 488-496.
 54. DeLong, E. F. and Béjà, O. (2010) The light-driven proton pump proteorhodopsin enhances bacterial survival during tough times. *PLoS Biol.* 8, e1000359.

Biodiversity of Phototrophic Bacteria as Revealed by Genomic and Metagenomic Approaches

Akira Hiraishi*

Department of Environmental and Life Sciences, Toyohashi University of Technology

解説

巨大アンテナ系クロロソームを構成するバクテリオクロロフィル分子： その生合成の解明と今後の展開[‡]

¹久留米大学医学部医化学講座

²大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻

³立命館大学総合理工学院

原田二郎^{1*}、大岡宏造²、民秋 均³

1. はじめに

緑色硫黄細菌は *Chlorobia* 綱に属し、光合成のみで生育する絶対嫌気性の光合成細菌である。硫化物などの還元硫黄化合物を電子源とし、硫黄温泉や部分循環湖の低深水部にある嫌気層などの限られた環境に生息している。そのような環境には必ずしも十分な太陽光が届くとは限らず、通常の光合成生物が生育できないほど微弱光であることも少なくない。しかし緑色硫黄細菌はクロロソーム¹⁾と呼ばれる高効率な光捕集膜外アンテナ装置をもっているため(図1)、地表に届く太陽光の0.1%以下の光環境下でも生育可能である。後述するようにクロロソームの優れた光捕集能力は、他のアンテナ系とは比べものにならないほど高密度にクロ

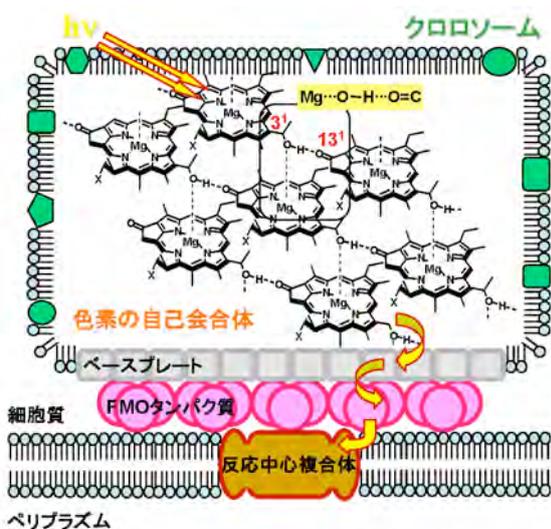


図1 緑色硫黄細菌の光合成器官の模式図
黄色い矢印は、光エネルギーの伝達経路を示す。

ロフィル分子が自己集積化されていることに起因する。吸収された光エネルギーは、クロロソームの基底部にあるベースプレートとFMOタンパクを介して、タイプ1反応中心複合体へと伝達される。もともと我々の研究の興味は、この一連の光エネルギー伝達系と、引き続き起こる電子移動反応にあるが、ここ数年は、光捕集に関わるバクテリオクロロフィル(BChl)色素の生合成に関する研究も行ってきた。その理由は、ある種の緑色硫黄細菌において、クロロソーム内の色素が環境によって変化するという興味深い現象に遭遇したからである。原因を探ると、1つの色素合成酵素にたどり着いた。その合成酵素の変異体を作製することで、まだ謎の多いクロロソームの構造研究に新たな展開の糸口が見え始めている。本稿は、まず色素の自己会合体からなるクロロソームの構造を簡単に紹介し、BChlの生合成系を研究し始めた経緯と我々の得た知見について解説する。

2. クロロソームの構造と内在するバクテリオクロロフィル分子の特徴

クロロソームは種々の膜タンパク質を含んだ脂質一重膜と基底部のベースプレートによって外枠が構成されている、20~200 nmスケールの楕円形状の小胞である(図1)。この小胞は、基底部のベースプレートとFMOタンパクを介して細胞質側の膜表面に結合しており、その近傍には反応中心複合体が存在する。内部には約 $1.4 \sim 2.15 \times 10^5$ 分子²⁾のBChl c、dま

[‡] 解説特集「光合成細菌 — 研究材料としての魅力 —」

* 連絡先 E-mail: jiro_harada@med.kurume-u.ac.jp

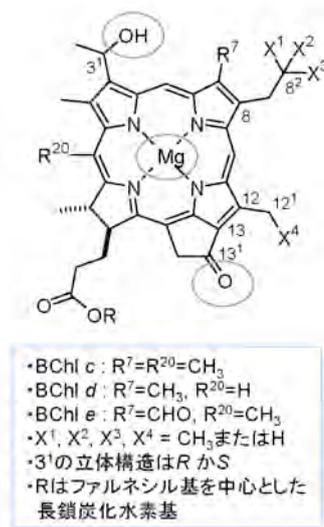


図2 BChl c, d および e の分子構造

これらの色素は、C3'位のエピマー体と、C8位およびC12位に異なる側鎖を持ったホモログ体の混合物として生体内に存在する。自己会合体の形成に必要な側鎖を、丸によって示した。

または e が存在している (図2)。これらの色素分子は、BChl c を基に構造を比較すると、C20位のメチル基が水素原子であるのが BChl d で、C7位のメチル基がホルミル基となっているのが BChl e である。これら側鎖の違いによって BChl d と e のQ_y帯の吸収極大は、BChl c と比較して、それぞれ10 nmと15 nmほど短波長シフトしている (BChl c, 660 nm; BChl d, 650 nm; BChl e, 646 nm: これらの値は有機溶媒アセトン中で測定したモノマー状態の吸収極大を示す)。またBChl cldle分子は、生体内ではC3'位におけるRとSの立体異性体(エピマー)とC8位とC12位に異なるアルキル鎖をもつ同族体(ホモログ体)の混合物として存在している。クロロソームの構造において、これらBChl色素の大きな特徴は、その内部で色素だけの自己会合体を形成している点である。これは BChl cldle の分子構造自体に由来しており、C3'位の反応性の高いヒドロキシ基が、近傍の2分子のBChlとの間でそれぞれC13位のケト基と水素結合、中心マグネシウムと配位結合することで (Mg...O—H...O=C) 超分子構造が形成されている (図1, 2)。この形成にはタンパク質が一切関与せず、他の光合成生物がもつ色素とタンパク質の複合体であるアンテナ系とは本質的に異なっている。この自己会合による超分子構造は、これまでロッドモデルで説明される円柱形状であると考えられてきたが¹⁾、近年になってラメラタイプ³⁾やシートロールタイプ⁴⁾と新しいモデル

が提唱されており、未だ明らかとなっていない。クロロソームが巨大なアンテナ複合体であるために構造解析が容易ではなく、分光学的解析および各種顕微鏡観察等によるデータの蓄積が、構造の解明に不可欠である。

3. *Chlorobaculum parvum*で観察された、クロロソーム内の色素組成の変化

我々が色素合成系の研究を行うきっかけとなったのは、緑色硫黄細菌 *Chlorobaculum (Cba.) parvum* (*Chlorobium vibrioforme* f. sp. *thiosulfatophilum* より改名⁵⁾)の継代培養を続けていると、クロロソームを構成する色素分子種の比率が変化するという現象に気づいたからである⁶⁾。クロロソーム内の色素は種によって異なり、BChl c, d および e のどれか1種類であるのが一般的である。ところが過去の文献を調べてみたところ、*Cba. parvum* NCIB 8327株は、培養条件によってクロロソーム内の色素組成が変化することが報告されていた⁷⁾。我々はこのNCIB 8327株の色素組成変化に興味をもち、BChl c のみ、あるいはBChl d のみを持つ亜株を単離した(それぞれC亜株およびD亜株とする)⁶⁾。一方、NCIB 8327株と同一株であるDSM 263株ではBChl c と d が同一細胞内に混在し、それぞれの比率は約94%と6%であった⁸⁾ (我々は16S rDNAの解析から、NCIB 8327株とDSM 263株は同一株であることを確認している。DSM 263株を263亜株とする)。前項で述べたように、2つの色素の構造上の違いはC20位のメチル基の有無である(図2)。我々は同一株から、異なる色素組成を示す亜株が発生する原因を探るため、C20位メチル基転移酵素(BchU)をコードする**bchU**遺伝子の塩基配列を解析した。その結果、D亜株では**bchU**遺伝子の1箇所(アデニン)挿入によるフレームシフトが起こったため、酵素が不活化していることが分かった(図3)。これは、Marescaらが同亜株を用いて解析した変異と一致していた⁹⁾。一方、BChl cを合成するC亜株と263亜株とでは、BchUのアミノ酸配列のうち3残基のみ異なっており、このわずかな違いが、異なる色素組成を示す原因と推察された。ここで興味深いことに、263亜株にはD亜株で確認された変異と同じ箇所にアデニン塩基が存在していた(図3)¹⁰⁾。しかしその5塩基後のアデニンが欠失しており、結果として**bchU**のフレーム自体に影響はなく、活性をもつ酵

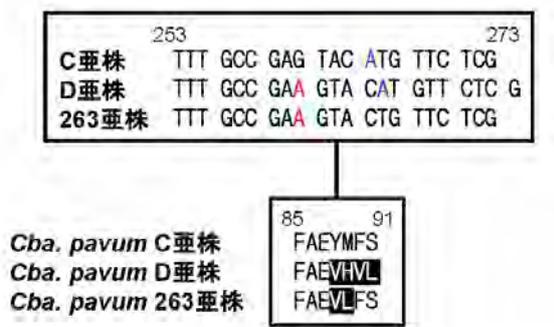


図3 *Cba. parvum*のC亜株、D亜株および263亜株の**bchU**遺伝子の部分配列と対応するアミノ酸配列の比較。塩基配列において、D亜株で挿入失活の原因となったアデニンを赤で示している。また、263亜株の塩基配列に存在しないアデニンを青で示している。アミノ酸配列では、C亜株と異なる配列を白抜きのアミノ酸で示している。

素が発現していることがわかった。これらの結果から、我々は以下の仮説を考えている。*Cba. parvum* NCIB 8327株は、自然界より BChl *d* をもつ株として単離されている⁷⁾。この時点ですでにD亜株で観察された1塩基(アデニン)の挿入変異が起こっており、*bchU*遺伝子是不活化されていたと考えられる。その後様々な機関に株分けされ継代培養を繰り返すうちに、不活化した*bchU*遺伝子にさらに変異が導入され、再びタンパクとして翻訳されるようになった。つまり263亜株では挿入塩基の5つ後のアデニンの欠失、C亜株では挿入したアデニンの欠失が起こったのであろうと考えている。また、C亜株とD亜株を用いて2つの色素の生理的機能の違いを調べた結果、BChl *c* は *d* よりも菌体の生育に有利に働き、特にD亜株はわずかな酸素の混入でも著しく生育阻害を受けることが分った¹¹⁾。また、BChl *c* をもつ株は BChl *d* をもつ株よりも微弱光での生育が速いことも報告されている^{6,9)}。これらの違いが選択圧として働き、D亜株の不活化*bchU*遺伝子に復帰突然変異を生じさせたと思われる。

この解析を行って我々が疑問を抱いているのは、自然界から BChl *d* をもつ菌株の単離の報告が頻繁にあることである。BChl *c* は BChl *d* よりも細菌にとって有利に働くのは実験室内でのことであり、自然界においては BChl *d* をもつことの優位性があるのではないかと推測している。しかしながら自然界において BChl *d* をもつ種のすべてが、不活化された*bchU*遺伝子を持っているのかは現在のところ不明である。本来、野生株として BChl *d* をもつ種は存在せず、環境に

応じて*bchU*遺伝子の発現のon/offが突然変異によって行われているとしたら面白いのだが、現在のところ想像に過ぎない。

4. C20位メチル基転移酵素BchUの基質認識と反応機構

上記のように*bchU*遺伝子の発現は、BChl *c* と *d* の合成に大きく関わっている。これらの色素の生合成経路は緑色硫黄細菌 *Cba. tepidum* (*Chlorobium tepidum* より改名⁵⁾)のゲノム解析と分子生物学的解析から明らかとなりつつある¹²⁾。クロロフィル色素の中で最初に合成経路が解明されたのは紅色細菌の BChl *a* であり、後にその功績は酸素発生型光合成生物のクロロフィル (Chl) *a* 合成経路の決定に大きく貢献した。BChl *c* 合成経路の解明はこれらの研究が基盤となり、関連酵素の殆どが (B)Chl *a* 合成経路で働く酵素遺伝子のオーソログもしくはパラログであった。しかし*bchU*遺伝子は紅色細菌のカロテノイド合成経路で働くメチル基転移酵素遺伝子*crtF*と高い相同性を持っていた⁹⁾。*bchU*欠損株の色素組成を調べると、他の部位の修飾基には全く影響を与えず、C20位のメチル基だけがない BChl *d* を合成していた。そのため BchUがC20位のメチル基転移酵素であることは明らかであるが、BchUが BChl *c* 生合成経路上のどの段階で働くかについては結論が得られないままであった。そこで我々は、精製BchUを用いて人工的に合成した数種類の色素と反応させ、BchUの基質特異性を調べることにした。その結果、BchUはS-adenosylmethionine (SAM) をメチル基供与体とし¹³⁾、C3¹位の側鎖にヒドロキシ基を持つ色素に対して最も高い反応性を示すことがわかった(原田ら未発表データ)。また、C3¹位にヒドロキシ基をもっていれば、C8²位とC12¹位のアルキル鎖の構造が異なるホモログ体にも反応することが可能であった。

BchUの基質認識と反応機構について分子レベルでの詳細な情報を得るために、この酵素の結晶構造解析も行った^{14,15)}。分解能2.27Åの構造解析には成功したが、残念ながら基質となる色素との複合体を得ることができなかった。しかしモデル計算に基づき、SAMからのメチル基転移反応はTyr246が触媒残基として働く典型的なS_N2反応であることが示唆された。さらに、基質のC3¹位ヒドロキシ基に対するBchUの高い特異性には、Asn153とAsp286の関与が予想され

た。実際、これらのアミノ酸の部位特異的変異体を作製したところ酵素活性の著しい低下が見られ、我々の推測は妥当であった。

5. BChl *c/d/e* の生合成経路

このようにBchUの基質特異性を明らかにすることができたので、BChl *c/d/e* の合成に至る経路について考えてみたい¹⁶⁾。全てのクロロフィル色素分子は、ヘムを含むテトラピロール代謝経路から分岐して合成される。プロトポルフィリンIXからクロロフィリド *a* までは、ほぼ全てのクロロフィル色素において共通であると考えられ、クロロフィリド *a* に特異的な酵素が働くことにより各色素分子の合成経路へと分岐していく。BChl *c* の合成経路もクロロフィリド *a* から分岐し、13²位のメトキシカルボニル基が脱落すること

で、C3位がビニル基である3-ビニルバクテリオクロロフィリド *d* (ピロクロロフィリド *a*)が合成される(図4)。この色素のC8²位とC12¹位には、それぞれBchQとBchRによりメチル基が付加されてホモログ体が生じる。その後、C3位のビニル基が水の付加によって1-ヒドロキシルエチル基に変換され、バクテリオクロロフィリド *d* ホモログが生成する。この反応ではC3¹位が*R*と*S*の立体構造になるエピマーが生じるが、それぞれBchFとBchVが触媒する。次にこれらC3¹位にヒドロキシ基をもつ色素に対して、BchUがC20位にメチル基を導入する。BchUはこれらC8²位とC12¹位のホモログ体、C3¹位のエピマー体の全てを修飾することが可能である。最後にBchKによってC17位上にファルネシル基が付加され、BChl *c* ホモログ・エピマーが産生される。一方、BChl *d* の合成

経路に関しては、BChl *c* の合成経路からBchUの反応段階がなくなった経路と考えられる。さらに BChl *e* においては、BChl *c* の合成経路上に、C7位メチル基のホルミル化反応が加わった経路によって合成されることが考えられる。BchUはC7位ホルミル基を有する色素に対する反応性が低いことから、C20位のメチル化よりも後でホルミル化反応が起こると推測される。しかし現在の所、このホルミル化酵素については同定されていない。

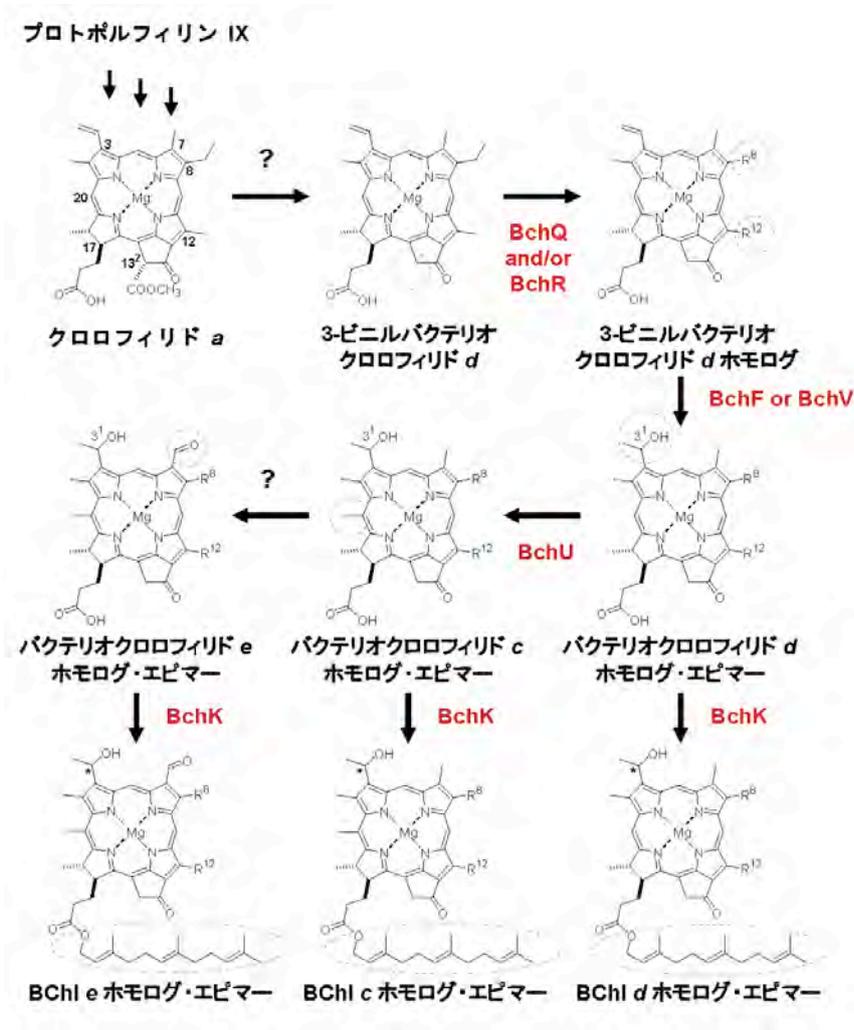


図4 緑色硫黄細菌におけるBChl *c, d* および *e* の生合成経路
 青い点線の丸は、修飾酵素が反応した後の部位を示す。R⁸はエチル基、*n*-プロピル基または*iso*-ブチル基 (BChl *e*のみネオペンチル基)。R¹²はメチル基またはエチル基。

6. BchUの変異体解析によるクロロソーム研究の新たな切り口

このように我々はBchUを中心にクロロソーム内のBChl合成に関する研究を行ってきた。最近、この酵素遺伝子の変異体を解析することにより、クロロソーム内のBChlの自己会合体形成に関する研究を新たな切り口で展開していくヒントが得られているので

紹介しておきたい。本稿の最初にも述べたが、クロロソームの詳細な構造については今でも議論が続いている。クロロソームを構成する大部分が色素の自己会合体であり、近年、色素変異体を用いた比較実験に基づいて、その構造モデルを検証しようとする研究が行われている⁴⁾。そこで我々も *Cba. parvum* DSM 263株が *bchU*の変異によって同一生体内にBChl *c* と *d* の両方の色素を持っていることに着目した。これらの色素が生体内でどのように分布しているのかが分かれば、自己会合体に関する知見が得られるのではないかと考えたのである。このような着想には、過去の同様な研究において2つの異なる見解が導き出されているという背景がある。宮武らは BChl *c* と *d* をそれぞれ生体から抽出し、*in vitro*で混合して再構成させたクロロソームを解析した結果、両方の色素は同一のクロロソーム内に存在し、混ざりあった自己会合体を形成することを報告している⁷⁾。ところがSteensgaardらは、BChl *c* と *d* が1:1で混在する *Cba. limnaeum* (*Chlorobium limicola*より改名⁹⁾) UdG 6040株を用いた解析から、両色素は同一クロロソーム内に存在するが、それぞれドメインをもっており、互いに独立した会合体を形成すると主張している¹⁸⁾。前者の結果については *in vivo*でも反映されるかという点に疑問が持たれ、また後者の解析については比較対象が少ないため、2つの色素の生体内での局在については明確な結論が得られていない。我々はこれまでの研究の中で、BchUの立体構造から予想される基質結合部位に変異を加えることにより、メチル転移活性が部分的に低下する変異酵素をいくつか見出している。このような変異BchUを *Cba. tepidum* の

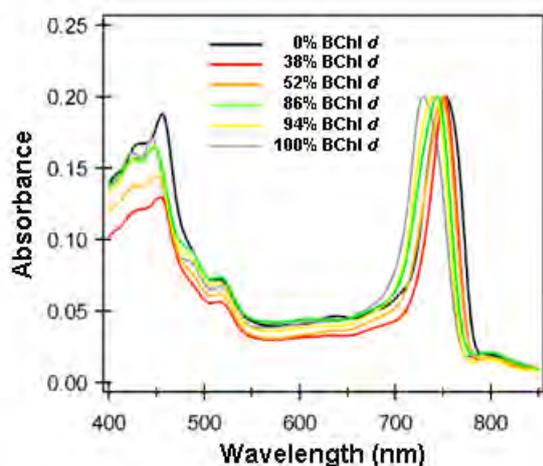


図5 *Cba. tepidum*の*bchU*変異体から単離したクロロソームの77Kにおける紫外可視吸収スペクトル測定

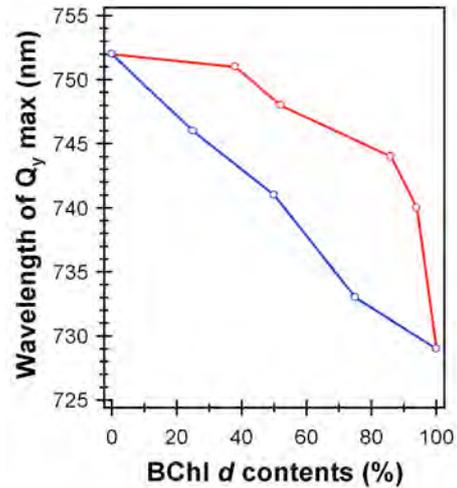


図6 BChl *d* 含量の変化に伴うクロロソームのQ_y帯ピーク波長の変化

実測値(赤丸-赤実線)とシミュレーション値(青丸-青実線)を比較した。実測値は図5の測定結果をプロットした。シミュレーションは、図5の0% BChl *d*と100% BChl *d*の値を用いて算出した。

生体内で発現させれば、同一種由来で BChl *c/d* 組成が異なる株が得られ、上記の見解のどちらが正しいかを判定することができるのではないかと考えた。そこで *Cba. tepidum* の*bchU*欠損株を作製し、これを親株として変異*bchU*遺伝子を導入した数種類の変異株を得た。単離したクロロソームの色素組成を解析したところ、BChl *c* と *d* の全量に対する BChl *d* の割合は、野生株で0%、親株 (*bchU*欠損株) で100%となるが、得られた変異株は38、52、86と94%であった。このような段階的に BChl *d* の割合が異なるクロロソームを単離し、低温紫外可視吸収スペクトルを測定したところ、クロロソームのQ_y帯における吸収極大の波長は、BChl *d* の割合が多くなるほど短波長側にシフトしているのが観察された(図5)。またQ_yピークの波長を BChl *d* の割合に対してプロットし、シミュレーションから得られた結果と比較した(図6)。このシミュレーションは BChl *d* の割合が0%と100%のクロロソームのデータを用いたものであり、上述のSteensgaardらの見解である「クロロソーム内でBChl *c* と *d* が各々別の会合体を形成」したときを想定している。実測結果はシミュレーションとは異なり、BChl *d* がある程度以上の割合で存在しない限り、Q_yピークの大きな短波長シフトは起こらないことが分かった。今回は示していないが、別の解析でもシミュレーションとは異なる結果が示されている

ことから、我々は BChl *c* と *d* は同一クロロソーム内で、混ぜ合わさった自己会合体を形成しているという、宮武らの見解を *in vivo* でも支持する結論に至った。しかしながら Steensgaardらの結果を支持しなかった理由として、自己会合体の形成方法が種によって異なっているという可能性は否定できない。

このように我々は変異株を用いて BChl *c* と *d* の色素組成が異なるクロロソームを作製することができるようになり、自己会合体色素の物理化学的性質を研究する上で良い材料を提供するものと期待している。また BChl *c/d* の組成比の違いによる励起エネルギー移動効率を評価することも可能である。これについては、今後解析予定である。

7. おわりに

クロロソームに存在するBChlの生合成経路に関する理解が10年前と比べて飛躍的に深まったのは、言うまでもなく近年のゲノムプロジェクトの成果と *C. ba. tepidum* で形質転換系が確立したことによる。まだ同定されていない合成酵素の探索も急がれるが、今後は経路全体を含めた制御、および他の代謝系との関わりに研究の興味が移っていくと考えられる。特に合成された大量の色素がクロロソームに運ばれて組織化する機構は、巨大アンテナ系のバイオジェネシスとして重要な研究課題の一つとなるであろう。このことは、未だ長い論争に決着がつかないBChlの自己会合体を含めたクロロソームの構造解明にも深く関わってくる問題である。個々の研究から全体に展開できるのは、光合成システムが複数の機構からなる大きなネットワークをもつからであり、これは現在の光合成研究の1つの流れである。我々の緑色硫黄細菌の研究も個から全への広がりを目指し、光合成研究全般に貢献したい。

謝辞

本稿で紹介した我々の研究の遂行は、共同研究者の日々の絶え間ない努力の上に成り立っている。この場を借りて感謝を申し上げる：Robert E. Blankenship教授 (ワシントン大学)、福山恵一教授、和田啓助教 (大阪大学)、佐賀佳央准教授 (近畿大学)、野口正人教授 (久留米大学)、高橋俊介、大角重明 (立命館大学)、Aaron M. Collin、Jianzhong Wen (ワシントン大学)各君。

Received June 30, 2010, Accepted July 15, 2010,
Published August 31, 2010

参考文献

- Blankenship, R. E., and Matsuura, K. (2003) Antenna complexes from green photosynthetic bacteria, in *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis* (Green, B. R., and Parson, W. W., Eds.) pp 195-217, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.
- Saga, Y., Shibata, Y., Itoh, S., and Tamiaki, H. (2007) Direct counting of submicrometer-sized photosynthetic apparatus dispersed in medium at cryogenic temperature by confocal laser fluorescence microscopy: estimation of the number of bacteriochlorophyll *c* in single light-harvesting antenna complexes chlorosomes of green photosynthetic bacteria, *J. Phys. Chem. B* **111**, 12605-12609.
- Pšencik, J., Ikonen, T. P., Laurinmaki, P., Merckel, M. C., Butcher, S. J., Serimaa, R. E., and Tuma, R. (2004) Lamellar organization of pigments in chlorosomes, the light harvesting complexes of green photosynthetic bacteria, *Biophys. J.* **87**, 1165-1172.
- Ganapathy, S., Oostergetel, G. T., Wawrzyniak, P. K., Reus, M., Gomez Maqueo Chew, A., Buda, F., Boekema, E. J., Bryant, D. A., Holzwarth, A. R., and de Groot, H. J. (2009) Alternating syn-anti bacteriochlorophylls form concentric helical nanotubes in chlorosomes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 8525-8530.
- Imhoff, J. F. (2003) Phylogenetic taxonomy of the family Chlorobiaceae on the basis of 16S rRNA and *fmo* (Fenna-Matthews-Olson protein) gene sequences, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**, 941-951.
- Saga, Y., Oh-oka, H., Hayashi, T., and Tamiaki, H. (2003) Presence of exclusively bacteriochlorophyll-*c* containing substrain in the culture of green sulfur photosynthetic bacterium *Chlorobium vibrioforme* strain NCIB 8327 producing bacteriochlorophyll-*d*, *Anal. Sci.* **19**, 1575-1579.
- Broch-Due, M., and Ormerod, J. G. (1978) Isolation of a Bchl *c* mutant from *Chlorobium* with Bchl *d* by cultivation at low light intensity, *FEMS Microbiol. Lett.* **3**, 305-308.
- Saga, Y., Osumi, S., Higuchi, H., and Tamiaki, H. (2005) Bacteriochlorophyll-*c* homolog composition in green sulfur photosynthetic bacterium *Chlorobium vibrioforme* dependent on the concentration of sodium sulfide in liquid cultures, *Photosynth. Res.* **86**, 123-130.
- Maresca, J. A., Gomez Maqueo Chew, A., Ponsati, M. R., Frigaard, N. U., Ormerod, J. G., and Bryant, D. A. (2004) The *bchU* gene of *Chlorobium tepidum* encodes the c-20 methyltransferase in bacteriochlorophyll *c* biosynthesis, *J. Bacteriol.* **186**, 2558-2566.
- Harada, J., Saga, Y., Oh-oka, H., and Tamiaki, H. (2005) Natural reverse mutations of the inactivated

- bchU* gene in *Chlorobium vibrioforme* NCIB 8327, in *Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspective* (der Est, A., and Bruce, D., Eds.) pp 199-120, Allen Press, Lawrence, KS, USA.
11. Harada, J., Saga, Y., Oh-oka, H., and Tamiaki, H. (2005) Different sensitivities to oxygen between two strains of the photosynthetic green sulfur bacterium *Chlorobium vibrioforme* NCIB 8327 with bacteriochlorophyll *c* and *d*, *Photosynth. Res.* 86, 137-143.
 12. Frigaard, N. U., Chew, A. G., Li, H., Maresca, J. A., and Bryant, D. A. (2003) *Chlorobium tepidum*: insights into the structure, physiology, and metabolism of a green sulfur bacterium derived from the complete genome sequence, *Photosynth. Res.* 78, 93-117.
 13. Harada, J., Saga, Y., Yaeda, Y., Oh-Oka, H., and Tamiaki, H. (2005) In vitro activity of C-20 methyltransferase, BchU, involved in bacteriochlorophyll *c* biosynthetic pathway in green sulfur bacteria, *FEBS Lett.* 579, 1983-1987.
 14. Harada, J., Wada, K., Yamaguchi, H., Oh-oka, H., Tamiaki, H., and Fukuyama, K. (2005) Crystallization and preliminary X-ray diffraction study of BchU, a methyltransferase from *Chlorobium tepidum* involved in bacteriochlorophyll *c* biosynthesis, *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* 61, 712-714.
 15. Wada, K., Yamaguchi, H., Harada, J., Niimi, K., Osumi, S., Saga, Y., Oh-Oka, H., Tamiaki, H., and Fukuyama, K. (2006) Crystal structures of BchU, a methyltransferase involved in bacteriochlorophyll *c* biosynthesis, and its complex with S-adenosylhomocysteine: implications for reaction mechanism, *J. Mol. Biol.* 360, 839-849.
 16. Chew, A. G., and Bryant, D. A. (2007) Chlorophyll biosynthesis in bacteria: the origins of structural and functional diversity, *Annu. Rev. Microbiol.* 61, 113-129.
 17. Miyatake, T., Oba, T., and Tamiaki, H. (2001) Pure and scrambled self-aggregates prepared with zinc analogues of bacteriochlorophylls *c* and *d*, *Chembiochem.* 2, 335-342.
 18. Steensgaard, D. B., van Walree, C. A., Permentier, H., Baneras, L., Borrego, C. M., Garcia-Gil, J., Aartsma, T. J., Amesz, J., and Holzwarth, A. R. (2000) Fast energy transfer between BChl *d* and BChl *c* in chlorosomes of the green sulfur bacterium *Chlorobium limicola*, *Biochim. Biophys. Acta.* 1457, 71-80.

Bacteriochlorophyll Molecules Assembled in a Huge Antenna Complex, Chlorosome, of Green Sulfur Bacteria: Its Biosynthesis and New Frontier

Jiro Harada^{1*}, Hirozo Oh-oka², and Hitoshi Tamiaki³

¹Department of Medical Biochemistry, Kurume University School of Medicine

²Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, Osaka University

³Institute of Science and Engineering, Ritsumeikan University

緑色硫黄細菌の非循環型の光合成電子伝達系[‡]

¹ペンシルバニア州立大学 生化学分子生物学科

²大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻

塚谷 祐介^{1*}、浅井 智広²、大岡 宏造²

1. はじめに

植物が2つの光化学反応中心（光化学系Iと光化学系II）を利用する一方で、「光合成細菌」と総称される微生物群は、どちらか1つだけの反応中心しか持たない。よりシンプルな光合成様式を持つことから、光合成細菌を研究材料として用いる意義・利点は、エネルギー変換機構の基本原則、光合成の最小ユニット、光合成器官の進化等を解明するための基礎研究に適している事が挙げられる。これらは将来の人工光合成系開発の土台となる重要な項目でもあり、基礎研究だけではなく応用研究においても光合成細菌は有用である。

本稿では、光化学系I型反応中心のみを持つ緑色硫黄細菌にスポットをあてて、反応中心を取り巻く光合成電子伝達系について紹介する。緑色硫黄細菌の電子伝達系は、未解明な副次的経路の存在が示唆されるものの、基本的には直線的な「非循環型」で、電子源である硫化物等の還元硫黄化合物を出発点として生体還元力NADPHを生成するためのものである。植物やシアノバクテリアを研究している方々には、Zスキームの非循環型電子伝達経路から光化学系IIを除いて、さらに水と水酸化系を硫黄化合物と硫黄酸化酵素群に置き換えて考えていただくと大枠が捉えられるのではないかと思います。つまり、電子源の酸化で得られた電子がどのように反応中心まで渡されるのかというのが大きな謎であり興味深いところである。まずは緑色硫黄細菌が持つ光化学系I型の反応中心複合体について触れた後に、それを取り巻く光合成電子伝達系について紹介する。

2. 光化学系I型反応中心

2.1. 緑色硫黄細菌反応中心のサブユニット構成

緑色硫黄細菌 *Chlorobaculum (Cba.) tepidum* の反応中心のサブユニット数は4つで、それぞれ $pscA\sim pscD$ 遺伝子にコードされる¹⁾。PscAがホモダイマーを形成するコアサブユニット、PscBが F_A/F_B 蛋白質であり、それぞれ光化学系IのPsaA/PsaBヘテロダイマーおよびPsaCと相同の機能を持ち、光合成初期過程の電荷分離反応に必要なコファクター（スペシャルペアP840, A_0 , A_1 , F_x , F_A/F_B)を結合している（図1）¹⁻³⁾。PscCは緑色硫黄細菌に特有のサブユニットであり、我々はこのシトクロムc蛋白質の電子伝達メカニズムに興味を持って研究を進めてきた。

PscCはヘムを1分子持つモノヘム型シトクロムcであり、反応中心1個あたり2分子結合している（図1）^{4,5)}。反応中心あたり2分子存在する生理的意義は未だ

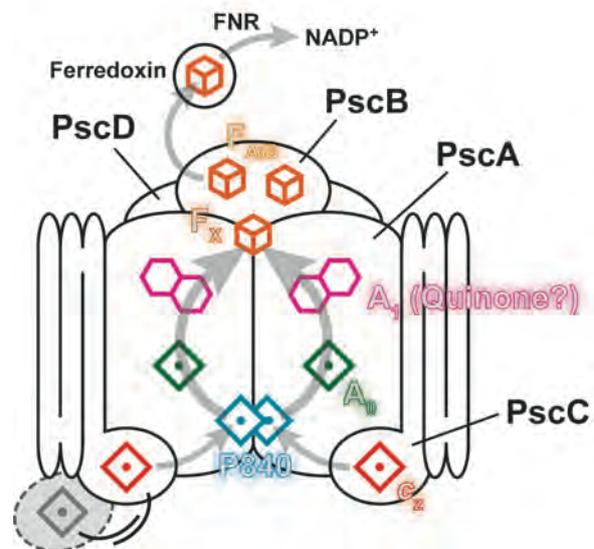


図1 緑色硫黄細菌の光化学系I型反応中心の模式図

[‡] 解説特集「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」

* 連絡先 E-mail: yut3@psu.edu

解明されていない。PscCには膜結合ドメインと可溶性ドメインがある。N末端側の膜結合ドメインに存在する3つの膜貫通 α -ヘリックスがPscAコアサブユニットと強固に結合しており、ペリプラズムに突出したC末端側の可溶性ドメイン（ヘムcを結合）が電子伝達反応を担う（図1, 2）⁹⁾。この構造と反応様式が紅色細菌のシトクロム c_y と似ており、我々はPscCのことをシトクロム c_z と呼んでいる。PscCの機能は、電荷分離反応によって酸化したスペシャルペアP840（P840⁺）を速やかに還元することである。反応中心標品を用いたP840⁺の還元反応の時定数（ $t_{1/e}$ ）は室温では約 150 μ s であるが（速度定数 $6.7 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$ ）⁹⁾、標品にグリセロールを加えて溶液の粘性を上げると、その還元速度は著しく遅くなる（60% (V/V) グリセロール存在下では $t_{1/e} = 77 \text{ ms}$ 、速度定数 $1.0 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ となる）。このことは、PscCはN末端ドメインで細胞膜にアンカーし、C末端ドメインはペリプラズム中に露出して大きく揺らいでいることを示唆している。ごく最近、PscCの可溶性ドメインの結晶構造が決定された⁷⁾。可溶性ドメインは立体構造上クラスI型シトクロムに分類され、*Starkeya novella* のSorB蛋白質や緑藻 *Monoraphidium braunii* のシトクロム c_6 と構造的に似ていることが分かった。

PscDは、植物・シアノバクテリアの光化学系IのPsaDと低い相同性があり、PsaDと同様に“F_A/F_B蛋白質からフェレドキシンへの電子伝達反応の促進⁸⁾”という機能を持つのではないかと推測されてきた⁹⁾。我々は*Cba. tepidum* を用いてPscDの欠損変異株（ Δ PscD株）を作製し、PscDの機能について興味深い知見を得ることに成功している¹⁰⁾、ここで簡単に触れておきたい。 Δ PscD株と野生株において、F_A/F_B蛋白質からフェレドキシンへの電子伝達反応の効率をNADP⁺の光還元速度として見積もったところ、 Δ PscD株ではわずかに遅くなっていた。一方、蛍光寿命の測定結果は、 Δ PscD株において集光性アンテナ・クロロソームから反応中心へのエネルギー移動効率が大きく低下していることを示していた。反応中心に対する光捕集蛋白質FMOの含量が減少しており、PscDは光捕集系と光化学系を機能的・構造的にリンクさせながら、光エネルギー移動効率を最大に維持するために働いていると考えられる（*光捕集系の構造・配置については、本号、原田博士らの解説記事中の「図1. 緑色硫黄細菌の光合成器官の模式図」を参照していただきたい）。緑

色硫黄細菌PscDが持っている“集光性アンテナからのエネルギー移動効率化”という主要な機能は、植物PsaDへの進化の過程で消失し、“フェレドキシンへの電子伝達反応の促進”という性質がより顕在化したのではないかと考えている。

2.2. 反応中心P840からNADP⁺までの電子伝達

スペシャルペアP840は光エネルギーによって励起されると電子を放出し、次のような経路で電子は細胞質側のPscB（鉄硫黄センター F_A/F_B）まで到達すると考えられている [P840→A₀→A₁→F_x→F_A/F_B]（図1）¹⁻³⁾。P840からF_xまでのコファクターはPscAホモダイマー内において対称的に配置されており、電子も両方向に移動すると推測されているが直接的な証拠はない。緑色硫黄細菌の反応中心の立体構造を解明することが、次のブレークスルーをもたらす最も重要なステップであろう。反応中心あたりクロロフィル a_{PD} （C17位に長鎖炭化水素基として Δ 2,6-phytyadienolがエステル結合したクロロフィル a ）が4~8分子存在し¹¹⁾、そのうちの2分子がA₀（一次電子受容体）として機能している。A₁（二次電子受容体）は、おそらくメナキノンである（図1）。しかし分光学的解析では、キノンの酸化還元反応に由来する過渡的なシグナルが未だに検出されていない¹²⁾。メナキノンは比較的緩く反応中心に結合し、光化学系IIのQ_B部位のように還元型キノンが遊離するという仮説もある^{1,13)}。PscBに到達した電子は水溶性フェレドキシンに渡される（図1）¹⁴⁾。還元型フェレドキシンは、ferredoxin:NADPH oxidoreductase (FNR)¹⁵⁾を介してNADP⁺をNADPHに還元する他、生体内の様々な還元反応系に利用される。緑色硫黄細菌にはカルビン回路は存在せず、二酸化炭素の固定には還元的TCA回路が働いている。

3. 反応中心への2つの電子供与経路—シトクロムc-554とシトクロムbc複合体—

前項目（2.1.）では、光酸化したスペシャルペアP840⁺を還元する事がPscCの機能だと述べた。その還元反応によって生じた酸化型PscC⁺に電子を渡すのは、シトクロムc-554とシトクロムbc複合体である（図2）。

シトクロムc-554は、分子量10,000程度の水溶性電子伝達蛋白質である¹⁶⁻¹⁹⁾。緑色硫黄細菌*Cba. tepidum*では、この蛋白質の α -吸収極大が554 nmにあることが

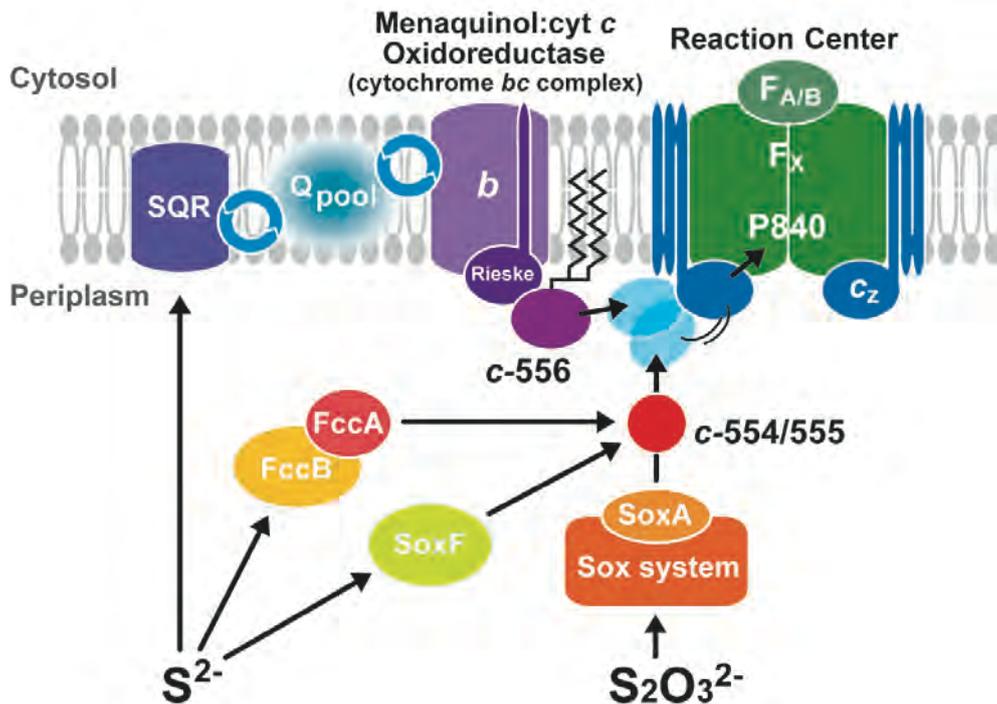


図2 緑色硫黄細菌の非循環型の光合成電子伝達経路の模式図
黒い矢印は電子伝達の方向を示す。

らシトクロム *c*-554 と呼ばれている (近縁種の *Cba. parvum* では吸収極大が 555 nm にあることからシトクロム *c*-555 と表記される)。このシトクロム *c*-554/555 の α -吸収帯は非対称で、藻類等において光化学系 I 反応中心への電子供与体として機能するシトクロム *c*₆ の α -吸収帯と似ている。そのためシトクロム *c*-554/555 は、発見当初 (1968年) から反応中心への電子供与体ではないかと推測されてきた²⁰⁾。2002年になって *Cba. tepidum* から精製したシトクロム *c*-554 および反応中心標品を試験管内で再構成した閃光照射実験が行われ、シトクロム *c*-554 は反応中心への電子供与体であることが明らかとなった (図2)¹⁹⁾。またシトクロム *c*-554 は P840 を直接還元するのではなく、電子は必ず PscC を経由してから P840 へ渡ることが示された¹⁹⁾。これは P700 を直接還元するシトクロム *c*₆ とは異なる点である。反応中心のペリプラズム側に PscC が存在するためにシトクロム *c*-554 が物理的に P840 までアクセスできないのか、それとも単純にシトクロム *c*-554 が P840 を還元できないのかは不明である。シトクロム *c*-554 の酸化還元電位は +130~150 mV と報告されており^{18,19)}、P840 は 240 mV であるので電位だけを見れば電子伝達は不可能ではない。

PscC に電子を渡すもう一つの成分はシトクロム *bc* 複合体である。過去 (1998年) に我々のグループは、

Cba. tepidum から細胞膜を調製して閃光照射実験を行うと、P840⁺ に電子を与えることにより酸化型になった PscC が再還元される様子を観測した²¹⁾。これは、PscC の可溶性ドメインがペリプラズム中を大きく揺らぎながら、直接シトクロム *bc* 複合体から電子を受け取るためと結論した。しかしながら細胞膜標品中に混在するシトクロム *c*-554 を介して、PscC が還元されたという可能性は否定できなかった。そこで最近になって、シトクロム *c*-554 の欠損変異株 (Δc -554 株) を作製して閃光照射実験を行ったところ、やはり PscC の再還元が観測された^{22,23)}。つまり水溶性シトクロム *c*-554 の他にも、PscC を還元する電子伝達成分が細胞膜中に存在するという結論には間違いなかった。この電子伝達成分がシトクロム *bc* 複合体であることは、2種類の阻害剤を用いて証明したので以下に説明しておきたい。

一般的にシトクロム *bc* 複合体には2つのキノン結合部位 (Q_0 , Q_i) があり、ペリプラズム側の Q_0 部位ではキノール (還元型キノン) が2電子酸化を受けてキノンになり、細胞質側の Q_i 部位ではキノンが還元されてキノールとなる。 Q_0 部位で放出される2電子のうち1個は Rieske 鉄硫黄センターを経てシトクロム *c* へ、もう1個は低電位ヘム b_L から高電位ヘム b_H を経て Q_i 部位へと流れる。 Q_0 部位でのキノール酸化が2回繰り返される

と、細胞質側のQ_i部位ではキノンが2電子還元を受けてキノールとなる。このキノールは再度、キノンプールを介してQ_o部位で酸化されることになる。この一連の反応で、1電子あたり2個のプロトン (H⁺) が細胞質側からペリプラズム側に流れ込む計算になり、膜を介したH⁺の電気化学ポテンシャルが形成される。これがMitchellの提唱したQサイクルメカニズムである²⁴⁾。

我々の行った実験は、それぞれのキノン結合部位に特異的に結合する阻害剤を使っている^{2, 1, 2, 3)}。stigmatellinはシトクロムbc複合体のQ_o部位に作用する。この阻害剤の存在下では、キノールの酸化が阻害されるためにシトクロムcへ電子が流れなくなり、PscCの再還元が観察されなくなった。またQ_i部位に対する阻害剤 antimycin A を用いると、Q_i部位での電子授受が起これないため、酸化型 PscC の再還元とともにへムb_Hの持続的な還元が見られた。このとき PscCの再還元当量とへムb_Hの還元当量がほぼ一致し、PscCとシトクロムbc複合体は化学量論的に1対1で反応することも示した。つまり緑色硫黄細菌ではシトクロムc-554を介さずとも、PscCは直接シトクロムbc複合体から電子を受け取ることが明らかとなった(図2)。

4. シトクロムc-554とシトクロムbc複合体の関係

シトクロムc-554とシトクロムbc複合体は、どちらもPscCへの電子供与体として機能することを述べた。当然*in vivo*ではシトクロムc-554とシトクロムbc複合体は共存している。紅色細菌の水溶性シトクロムc₂は、シトクロムbc複合体と反応中心複合体との間の電子伝達反応を担っていることはよく知られている。緑色硫黄細菌のシトクロムc-554も*in vivo*ではシトクロムbc複合体から電子を受け取り、反応中心複合体のPscCに電子を渡しているのであろうか? 微生物学の教科書にはシトクロムc-554が複合体間の電子伝達反応を担っていると記載されているが、この反応経路を実験的に確認したという報告例はこれまで無かった。

そこで我々は、Δc-554株の細胞膜と、野生株*Cba. tepidum*のシトクロムc-554 (もしくは*Cba. parvum*由来のシトクロムc-555) を用いて再構成実験を行った²³⁾。もしもシトクロムbc複合体からシトクロムc-554への電子伝達反応が進行するならば、antimycin A存在下で閃光照射実験を行ったとき、シトクロムc-554の再還元反応にともなってへムb_Hの持続的な還元が観察され

るはずである。ところが酸化されたシトクロムc-554の再還元反応が起これないにも関わらず、へムb_Hの還元が観察された。しかもへムb_Hの還元当量は、1電子当量からシトクロムc-554の酸化当量 ([シトクロムc-554→PscC⁺] の反応による) を引いた量にほぼ等しかった。このことは、(1)シトクロムbc複合体からシトクロムc-554への電子伝達は起これないこと、(2)PscC⁺の再還元反応はシトクロムc-554からとシトクロムbc複合体からの互いに独立した電子伝達により進行すること、を意味している。つまり植物・シアノバクテリアや紅色細菌で知られているような [シトクロムbc_i/bc_f 複合体 → 水溶性シトクロム/プラストシアニン → 反応中心] という電子伝達は緑色硫黄細菌では存在しない。

シトクロムc-554からPscC⁺への電子伝達反応は二次反応 (反応速度定数k₂ = 1.7 X 10⁷ M⁻¹ s⁻¹) であるため¹⁹⁾、加えるシトクロムc-554の濃度によってPscC⁺の再還元反応への寄与度は異なる。シトクロムc-554の細胞内 (ペリプラズム空間内) 濃度を数mMと仮定するとシトクロムc-554からPscC⁺への反応は擬一次反応となり、電子伝達反応の時定数 (t_{1/e}) は約 10 μs と見積ることができる。シトクロムbc複合体からPscC⁺への電子伝達反応は約 t_{1/e} = 150 μs である²¹⁾ことを考えると、細胞内ではシトクロムc-554はシトクロムbc複合体よりも極めて効率的な電子供与体であることが分かる。後述するが、シトクロムc-554とシトクロムbc複合体は、それぞれチオ硫酸酸化系と硫化物酸化系からの電子を受け取る経路上に存在する。したがって環境中の各硫黄源の濃度によって主要な反応経路が決定さ

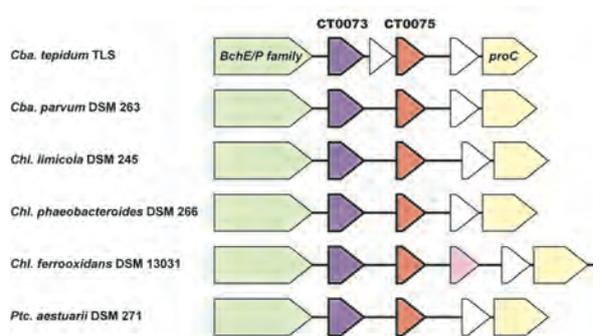


図3 緑色硫黄細菌の代表種におけるシトクロムc-554/555遺伝子 (CT0075オルソログ) とシトクロムc-556遺伝子 (CT0073オルソログ) 近傍の遺伝子座
Chl. ferrooxidansにおけるピンク色で示した遺伝子もシトクロムc-556遺伝子である。Ptc.はProsthecochlorisの省略形。

れると考えられる。

5. 緑色硫黄細菌の quinol:cytochrome c oxidoreductase は bc タイプである

緑色硫黄細菌の quinol:cytochrome c oxidoreductase が、シトクロム**b**/Rieskeタイプであるのか、あるいはシトクロム**bc**タイプであるのか、という議論について補足しておきたい。ここで言う**bc**タイプとは3つのサブユニットから成る *b/c*/Rieske の事であり (Rieskeの表記は通常は省略)、*b*/Rieske タイプとはシトクロム**c** サブユニットを欠くタイプの事である。一般にプロテオバクテリア (紅色細菌) の quinol:cytochrome c oxidoreductase の構成成分は Rieske 鉄硫黄サブユニット、シトクロム**b**、シトクロム**c**₁からなる**bc**タイプであり、通常シトクロム**bc**₁複合体と呼ばれている。それぞれのサブユニットは*fbcF*、*fbcB*、*fbcC*という遺伝子にコードされ、オペロンを形成している²⁵⁾。一方で緑色硫黄細菌では同一オペロン中に*fbcF*と*fbcB*は存在するが、塩基配列の類似性からは*fbcC*の存在を示唆するゲノム情報は得られていない^{26,27)}。そのため緑色硫黄細菌の quinol:cytochrome c oxidoreductase については *b*/Rieske タイプであると主張するグループがある。しか

し、ここでは詳しくは述べないが、我々は*Cba. tepidum*の野生株およびΔ*c*-554株を用いてquinol:cytochrome c oxidoreductaseと反応中心複合体との電子伝達反応を解析する実験で、新たにシトクロム**c**-556をスペクトル成分として見出した^{21,23)}。反応キネティクスからは、このシトクロム**c**-556がプロテオバクテリアのシトクロム**c**₁に相当すると思われ、我々は緑色硫黄細菌の quinol:cytochrome c oxidoreductase は**bc**タイプだと考えている (それゆえ、本稿ではシトクロム**bc**複合体と呼ぶことにしている)。

*Cba. tepidum*のゲノム上には7つのシトクロム遺伝子が存在するが、そのうちCT0073がシトクロム**c**-556をコードする遺伝子であると我々は推定している²⁸⁾。CT0073のすぐ下流には、シトクロム**c**-554遺伝子 (CT0075) があり、互いに近接している (図3)。現在までに12種の緑色硫黄細菌のゲノムが解読されているが、*Chloroherpeton (Chp.) thalassium*以外の全ての種でCT0073オルソログ遺伝子とCT0075オルソログ遺伝子が隣り合っている (図3)。PscCを還元するという意味で同じ機能を持つシトクロム**c**-554とシトクロム**c**-556をコードする遺伝子が互いに隣接していることは十分に期待されるので、CT0073が*fbcC*遺伝子である

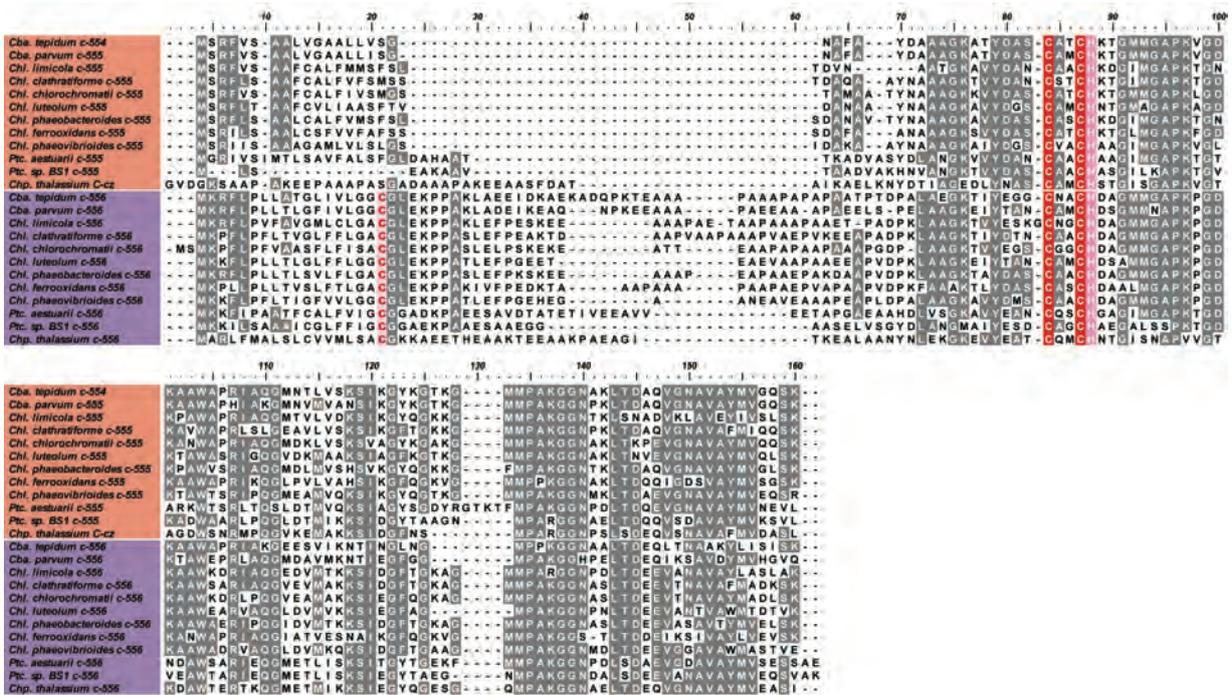


図4 シトクロム**c**-554/555とシトクロム**c**-556のアミノ酸配列のアライメント

Clustal Wを用いた。ヘム結合モチーフ (C-X-X-C-H) を赤色で示す。シトクロム**c**-556において、シグナル配列が切断された後に、脂肪酸が結合すると想定されるシステイン残基を赤字で示す (*Cba. tepidum*で18番目の残基)。Chp. thalassiumでは、シトクロム**c**-554遺伝子は、PscC遺伝子とフュージョンしているため、C末端側のシトクロム**c**-554部分をアライメントに利用した (C-czと表記)。

可能性が高い。CT0073のN末端には、リポ蛋白質に特徴的なシグナル配列が存在する(図4)。シグナル配列が切断された後のN末端システイン残基(図4)に脂肪酸が結合し、これによってシトクロムc-556は膜にアンカーされると考えられる(図2)。これは、C末端部に膜貫通ヘリックスを持つシトクロムc₁とは異なる点である。

6. 硫黄酸化系と電子伝達系のリンク

緑色硫黄細菌の生育に必要な電子源は、還元型の硫黄化合物(硫化物イオンS²⁻、チオ硫酸S₂O₃²⁻など)である²⁹⁾。S²⁻は *Chlorobium (Chl.) ferrooxidans* を除くすべての緑色硫黄細菌が利用できるが、S₂O₃²⁻を利用できるかどうかは種によって異なる^{29,30)}。S₂O₃²⁻の酸化にはSox系と呼ばれる酵素群が寄与し³¹⁾、緑色硫黄細菌ではオペロン(*soxFXYZAKBW*)を形成する²⁷⁾。最近の研究からシトクロムc-554がSox系酵素群のうちSoxAXKから電子を受け取ることが分かっている[S₂O₃²⁻→Sox系→シトクロムc-554]³²⁾が、S₂O₃²⁻酸化の詳細な反応機構はまだ明らかとなっていない。一方、S²⁻は、sulfide:cytochrome c reductaseとして働くSoxFとFccAB、及び膜結合蛋白質であるsulfide:quinone reductase(SQR)によって酸化される(図2)^{30,33)}。いずれも活性中心にFADを含むフラボ蛋白質で、S²⁻を硫黄単体(S⁰)まで酸化する活性をもつ。SoxFとFccABによるS²⁻酸化の際にシトクロムc-554が電子受容体として機能することが示されている[S²⁻→SoxF/FccAB→シトクロムc-554]^{34,35)}。SQRはその名の通り、S²⁻を酸化して、細胞膜中のキノンを還元する³⁶⁾。還元型キノン(キノール)は、シトクロムbc複合体によって酸化される[S²⁻→SQR→キノンプール→シトクロムbc複合体]。Sox系酵素群を持つ種に存在するシトクロムc-554は、アミノ酸配列に基づく系統解析では単独のクラスターを形成しない(図5)。そのためシトクロムc-554は、Sox系酵素群から電子を伝達する以外の機能も推測される。

上記の反応経路はいずれも*in vitro*の解析から推定されたものであり、細胞内で各硫黄酸化経路が生長にどの程度寄与しているかは分からない。そこで我々は、*Cba. tepidum*のΔc-554株を利用して硫黄酸化系から反応中心までの電子の流れを調べた³⁷⁾。Δc-554株ではS₂O₃²⁻の完全酸化は起こるもの(S₂O₃²⁻はSO₄²⁻まで酸化される)、野生株と比較してS₂O₃²⁻の消費速度およ

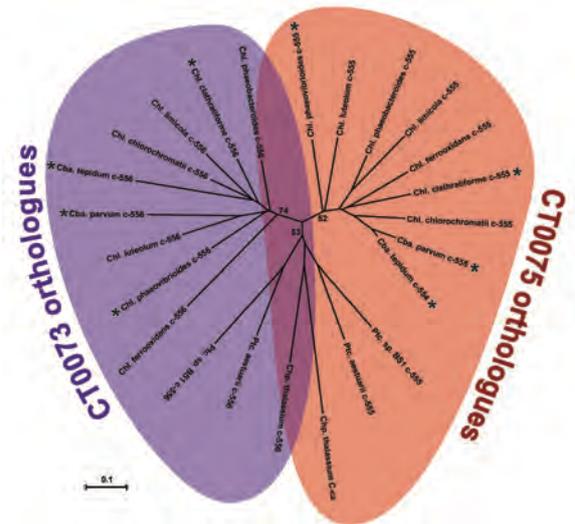


図5 シトクロムc-554/555とシトクロムc-556のアミノ酸配列に基づく系統樹
 図4のアライメントを元に、近隣接合法、MEGA4プログラムを用いて作製した。1000回繰り返しのブートストラップ値を枝に記す。アステリスクはチオ硫酸が利用できる(Sox系を持つ)種を示す。

び生長速度が顕著に低下していた。このことは細胞内においてもシトクロムc-554がSox系と反応中心の間の電子伝達体として働いていることを支持している。また、SoxFやFccABはS²⁻の酸化にほとんど寄与せず、もっぱらSQRを介してS²⁻が酸化されていた。SQRはゲノム配列が解読された12種全ての緑色硫黄細菌で保存されているが、SoxFとFccABの分布は種によって異なる³⁰⁾。SQRによるS²⁻の酸化は、生育に必須なプロトン駆動力を優先的に得るための主要経路ではないかと考えている。

緑色硫黄細菌における硫黄酸化経路の全容解明には、今後さらなる解析が必要である。シトクロムc-554は、1960年代に初めて精製された当時、硫黄酸化に関わる酵素群と混合すると硫黄酸化活性が上昇することから、硫黄代謝反応の“エフェクター”と呼ばれていた¹⁷⁾。実に半世紀に亘り研究されている課題であり、このことは微生物における硫黄酸化機構解明の困難さを反映している。その困難さは、硫黄元素は-2から+6までの価数をもつ化合物を形成し、硫化物(S²⁻)から硫酸(SO₄²⁻)にいたる酸化過程が非常に複雑な反応中間体を經由することに起因する。

7. モデル生物 *Chlorobaculum tepidum* の研究材料としての有用性

*Cba. tepidum*は、中度好熱性細菌であり、至適生育温度は46-48°Cである³⁸⁾。最小培地中・47°Cで、倍加時間約2時間で生育する。絶対嫌気性の光独立栄養生物であり、その生長は光合成に依存している。しかし光照射下で酸素にさらされると生長できず、やがて死滅する。ほとんどの蛋白質は空气中で単離しても問題ないが、反応中心複合体などの酸化還元中心として鉄硫黄センターをもつ蛋白質は酸素にふれるとすぐに不活化(変性)してしまうケースが多い。反応中心複合体を精製するときには、嫌気チャンバー内で一連の作業を行う必要がある。反応中心は室温でも比較的安定であり、この性質は嫌気チャンバーで精製作業するには非常に重宝する。2001年に natural transformation による変異導入方法が確立され、簡便に変異株を作製できるようになった³⁹⁾。2002年に全ゲノム配列が決定された²⁷⁾。さらに現在までに米国エネルギー省(DOE/JGI)によって12種の緑色硫黄細菌のゲノム配列が解読されている。これによって、他の光合成生物のゲノム情報との比較を通して、緑色硫黄細菌に共通・特有の遺伝子を抽出することが可能となり、実際に緑色硫黄細菌のクロロフィル合成系・カロテノイド合成系・光捕集蛋白質複合体の研究は飛躍的に進展した。

8. おわりに

光照射によって酸化した反応中心内のスペシャルペアを速やかに還元状態に戻すことは、光合成反応の代謝回転を高めるうえで重要である。緑色硫黄細菌ではPscCがP840還元反応を担う事を本稿では述べた。さらに、酸化型PscC⁺は、シトクロム*c*-554とシトクロム*bc*複合体からの2つの経路により再還元される事を述べた。シトクロム*c*-554とシトクロム*bc*複合体による反応中心への電子伝達経路は、それぞれチオ硫酸と硫化物という異なる還元硫黄化合物の酸化経路と直接結びついている。チオ硫酸はSox系によって酸化され、得られた電子はシトクロム*c*-554に伝達される。一方、硫化物は主にSQRによって酸化され、得られた電子はキノンプールを介して、シトクロム*bc*複合体に伝達される。このように、緑色硫黄細菌において、電子源である還元硫黄化合物から反応中心までの一連の電子伝達経路はかなりの部分が明らかとなっている。反応中心内部の電子移動経路が未だ定かではないが、これには反応中心の結晶構造解析が不可欠であろう。これら

の直線的・非循環型の電子伝達系の他に、光化学系IIのQ_B様に働くA₁キノノンや膜結合型NADH dehydrogenaseを介した循環型の電子伝達経路の存在も示唆されている。これらもまた非常に興味深い研究テーマであり、今後取り組んでいきたい課題である。

謝辞

本稿で紹介した我々の研究内容は、伊藤繁教授(名古屋大学)との共同研究を含む。また、実験を遂行するにあたって、宮本良氏、村上広海氏(名古屋大学)からのご支援をいただいた。ここに御礼申し上げる。

Received June 21, 2010, Accepted July 22, 2010, Published August 31, 2010

参考文献

1. Hauska, G., Schoedl, T., Remigy, H., and Tsotis, G. (2001) The reaction center of green sulfur bacteria. *Biochim. Biophys. Acta* 1507, 260-277.
2. Büttner, M., Xie, D., Nelson, H., Pinther, W., Hauska, G. and Nelson, N. (1992) Photosynthetic reaction center genes in green sulfur bacteria and in photosystem I are related. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 8135-8139.
3. Vassiliev, I. R., Antonkine, M. L., and Golbeck, J. H. (2001) Iron-sulfur clusters in type I reaction centers. *Biochim. Biophys. Acta* 1507, 139-160.
4. Okkels, J. S., Kjær, B., Handdon, O., Svendsen, I., Møller, B. L. and Schiller, H. V. (1992) A membrane-bound monoheme cytochrome *c*551 of a novel type is the immediate electron donor to P840 of the *Chlorobium vibrioforme* photosynthetic reaction center complex. *J. Biol. Chem.* 267, 21139-21145.
5. Oh-oka, H., Kamei, S., Matsubara, H., Iwaki, M., and Itoh, S. (1995) Two molecules of cytochrome *c* function as the electron donors to P840 in the reaction center complex isolated from a green sulfur bacterium, *Chlorobium tepidum*. *FEBS Lett.* 365, 30-34.
6. Oh-oka, H., Iwaki, M., and Itoh, S. (1997) Viscosity dependence of the electron transfer rate from bound cytochrome *c* to P840 in the photosynthetic reaction center of the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. *Biochemistry* 36, 9267-9272.
7. Hirano, Y., Higuchi, M., Azai, C., Oh-Oka, H., Miki, K., and Wang, Z. Y. (2010) Crystal structure of the electron carrier domain of the reaction center cytochrome *c*₂ subunit from green photosynthetic bacterium *Chlorobium tepidum*. *J. Mol. Biol.* 397, 1175-1187.
8. Xu, Q., Jung, Y. S., Chitnis, V. P., Guikema, J. A., Golbeck, J. H., and Chitnis, P. R. (1994) Mutational analysis of photosystem I polypeptides in *Synechocystis*

- sp. PCC 6803. Subunit requirements for reduction of NADP⁺ mediated by ferredoxin and flavodoxin. *J. Biol. Chem.* 269, 21512-51518.
9. Rémy, H., Stahlberg, H., Fotiadis, D., Muller, S. A., Wolpensinger, B., Engel, A., Hauska, G. and Tsiotis, G. (1999) The reaction center complex from the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*: a structural analysis by scanning transmission electron microscopy. *J. Mol. Biol.* 290, 851-858.
 10. Tsukatani, Y., Miyamoto, R., Itoh, S., and Oh-Oka, H. (2004) Function of a PscD subunit in a homodimeric reaction center complex of the photosynthetic green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum* studied by insertional gene inactivation. Regulation of energy transfer and ferredoxin-mediated NADP⁺ reduction on the cytoplasmic side. *J. Biol. Chem.* 279, 51122-51130.
 11. Kobayashi, M., Oh-oka, H., Akutsu, S., Akiyama, M., Tomi-naga, K., Kise, H., Nishida, F., Watanabe, T., Ames, J., Koizumi, M., Ishida, N., and Kano, H. (2000) The primary electron acceptor of green sulfur bacteria, bacteriochlorophyll 663, is chlorophyll *a* esterified with $\Delta 2,6$ -phytyadienol. *Photosynth. Res.* 63, 269-280.
 12. Kusumoto, N., Sétif, P., Brettel, K., Seo, D., and Sakurai, H. (1999) Electron transfer kinetics in purified reaction centers from the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum* studied by multiple-flash excitation. *Biochemistry.* 38, 12124-12137.
 13. Hager-Braun, C., Zimmermann, R., and Hauska, G. (1999) The homodimeric reaction center of *Chlorobium*, in *The Phototrophic Prokaryotes* (Peschek, G. A., Löffelhardt, W., Schmetterer, G., Eds.) pp. 169-183, Kluwer Academic Publishers, New York.
 14. Seo, D., Tomioka, A., Kusumoto, N., Kamo, M., Enami, I., and Sakurai, H. Purification of ferredoxins and their reaction with purified reaction center complex from the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1503, 377-384.
 15. Seo, D., and Sakurai, H. (2002) Purification and characterization of ferredoxin-NAD(P)⁺ reductase from the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1597, 123-132.
 16. Meyer, T. E., Bartsch, R. G., Cusanovich, M. A., and Mathewson, J. H. (1968) The cytochromes of *Chlorobium thiosulfatophilum*. *Biochim. Biophys. Acta.* 153, 854-861.
 17. Kusai, K. and Yamanaka, T. (1973) A novel function of cytochrome *c* (555, *Chlorobium thiosulfatophilum*) in oxidation of thiosulfate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 51, 107-112.
 18. Selvaraj, F., Devine, D., Zhou, W., Brune, D.C., Lince, M.T., and Blankenship, R.E. (1998) Purification and properties of cytochrome *c*-553 from the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*, in *Photosynthesis: Mechanism and Effects* (Garab, G., Ed.) pp 1593-1596, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
 19. Itoh, M., Seo, D., Sakurai, H., and Sétif, P. (2002) Kinetics of electron transfer between soluble cytochrome *c*-554 and purified reaction center complex from the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. *Photosynth Res.* 71, 125-135.
 20. Yamanaka, T., and Okunuki, K. (1968) Comparison of *Chlorobium thiosulfatophilum* cytochrome *c*-555 with *c*-type cytochromes derived from algae and nonsulphur purple bacteria. *J. Biochem.* 63, 341-346/
 21. Oh-oka, H., Iwaki, M., and Itoh, S. (1998) Membrane-bound cytochrome *c_z* couples quinol oxidoreductase to the P840 reaction center complex in isolated membranes of the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. *Biochemistry* 37, 12293-12300.
 22. Tsukatani, Y., Miyamoto, R., Itoh, S., and Oh-oka, H. (2006) Soluble cytochrome *c*-554, CycA, is not essential for photosynthetic electron transfer in *Chlorobium tepidum*. *FEBS Lett* 580, 2191-2194.
 23. Tsukatani, Y., Azai, C., Kondo, T., Itoh, S., and Oh-Oka, H. (2008) Parallel electron donation pathways to cytochrome *c_z* in the type I homodimeric photosynthetic reaction center complex of *Chlorobium tepidum*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1777, 1211-1217.
 24. Mitchell, P. (1976) Possible molecular mechanisms of the protonmotive function of cytochrome systems. *J. Theor. Biol.* 62, 327-367.
 25. Schütz, M., Brugna, M., Lebrun, E., Baymann, F., Huber, R., Stetter, K. O., Hauska, G., Toci, R., Lemesle-Meunier, D., Tron, P., Schmidt, C., and Nitschke, W. (2000) Early Evolution of Cytochrome *bc* Complexes. *J. Mol. Biol.* 300, 663-675.
 26. Schütz, M., Zirngibl, S., Le Coutre, J., Buttner, M., Xie, D.-L., Nelson, N., Deutzmann, R., and Hauska, G. (1994) A transcription unit for the Rieske FeS-protein and cytochrome *b* in *Chlorobium limicola*. *Photosynth. Res.* 39, 163-174.
 27. Eisen, J. A., Nelson, K. E., Paulsen, I. T., Heidelberg, J. F., Wu, M., Dodson, R. J., Deboy, R., Gwinn, M. L., Nelson, W. C., Haft, D. H., Hickey, E. K., Peterson, J. D., Durkin, A. S., Kolonay, J. L., Yang, F., Holt, I., Umayam, L. A., Mason, T., Brenner, M., Shea, T. P., Parksey, D., Nierman, W. C., Feldblyum, T. V., Hansen, C. L., Craven, M. B., Radune, D., Vamathevan, J., Khouri, H., White, O., Gruber, T. M., Ketchum, K. A., Venter, J. C., Tettelin, H., Bryant, D. A. and Fraser, C. M. (2002) The complete genome sequence of *Chlorobium tepidum* TLS, a photosynthetic, anaerobic, green-sulfur bacterium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 9509-9514.
 28. Azai, C., Tsukatani, Y., Itoh, S., and Oh-oka, H. (2010) *C*-type cytochromes in the photosynthetic electron transfer pathways in green sulfur bacteria and heliobacteria. *Photosynth. Res.* 104, 189-199.
 29. Imhoff, J. F. (1995) Taxonomy and physiology of phototrophic purple bacteria and green sulfur bacteria, in *Anoxygenic photosynthetic bacteria*. (Blankenship, R. E., Madigan, M. T., and Bauer, C. E., Eds.) pp 1-15,

- Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
30. Frigaard, N.-U. and Bryant, D. A. (2008) Genomic and Evolutionary Perspectives on Sulfur Metabolism in Green Sulfur Bacteria, in *Microbial Sulfur Metabolism*. (Dahl, C. and Friedrich, C. G. Eds.) pp 60-76, Springer, Berlin.
 31. Friedrich, C. G., Rother, D., Bardischewsky, F., Quentmeier, A., and Fischer, J. (2001) Oxidation of reduced inorganic sulfur compounds by bacteria: emergence of a common mechanism? *Appl. Environ. Microbiol.* *67*, 2873–2882.
 32. Ogawa, T., Furusawa, T., Nomura, R., Seo, D., Hosoya-Matsuda, N., Sakurai, H., and Inoue, K. (2008) SoxAX binding protein, a novel component of the thiosulfate-oxidizing multienzyme system in the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. *J. Bacteriol.* *190*, 6097–6110.
 33. Sakurai, H., Ogawa, T., Shiga, M., Inoue, K. (2010) Inorganic sulfur oxidizing system in green sulfur bacteria. *Photosynth Res.* *104*, 163-176.
 34. Kusai, A., and Yamanaka, T. (1973) Cytochrome *c* (553, *Chlorobium thiosulfatophilum*) is a sulphide-cytochrome *c* reductase. *FEBS Lett.* *34*, 235-237.
 35. Ogawa T, Furusawa T, Shiga M, Seo D, Sakurai H, Inoue K. (2010) Biochemical studies of a soxF-encoded monomeric flavoprotein purified from the green sulfur bacterium *Chlorobaculum tepidum* that stimulates in vitro thiosulfate oxidation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* *74*, 771-80.
 36. Shahak, Y., Arieli, B., Padan, E. and Hauska, G. (1992) Sulfide quinone reductase (SQR) activity in *Chlorobium*. *FEBS lett.* *299*, 127–130.
 37. Azai, C., Tsukatani, Y., Harada, J., and Oh-oka, H. (2009) Sulfur oxidation in mutants of the photosynthetic green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum* devoid of cytochrome *c*-554 and SoxB. *Photosynth. Res.* *100*, 57-65
 38. Wahlund, T. M., Woese, C. R., Castenholz, R. W., and Madigan, M. T. (1991) A thermophilic green sulfur bacterium from New Zealand hot springs, *Chlorobium tepidum* sp. nov. *Arch. Microbiol.* *156*, 81-90.
 39. Frigaard, N.-U. and Bryant, D. A. (2001) Chromosomal gene inactivation in the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum* by natural transformation. *Appl. Environ. Microbiol.* *67*, 2538–2544.

The Photosynthetic Linear Electron Transfer Pathway in Green Sulfur Bacteria

Yusuke Tsukatani^{*1}, Chihiro Azai², Hirozo Oh-oka²

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, The Pennsylvania State University

²Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, Osaka University

紅色光合成細菌における光捕集タンパク質の多様性[‡]

茨城大学 理学部

大友 征宇*

1. はじめに

全ての光合成は光を集めることから始まる。光生物は太陽光の希薄な密度のエネルギーを効率的に集めるため、一般的に多数の色素分子とタンパク質からなるアンテナのような光捕集複合体 (light-harvesting complex, LH) を用いる。光捕集は光が生体内に入る玄関口に当たるため、光合成の効率と機能に重要な役割を果たしている。捕獲された光エネルギーは色素間における特異なナノスケールの空間配置により、フェムト秒からピコ秒単位で高速に移動し、ほぼ100%の量子収率で反応中心 (reaction center, RC) に到達して電荷分離反応を誘起する。

植物、藻類及びシアノバクテリアで代表される酸素発生型光合成の明反応系において、周辺光捕集複合体に加え、コアとなる光化学系本体の中でも光捕集機能が組み込まれている。例えば、シアノバクテリア由来の光化学系Iではタンパク質と結合している96個のクロロフィルの内、わずか6個が電荷分離と電子移動に関与し、残りの90個が光捕集色素として機能することがわかっている¹⁾。これらのことから光合成の最終過程である炭酸固定に十分なエネルギーを供給するには光捕集の重要さとこれにかかるコストの高さが想像で

きる。

一方、過剰な光エネルギーによる光合成系の損傷を避けるため、光捕集系は必要以上の光エネルギーを熱エネルギーに変換し、光環境の変化に柔軟に対応できる能力をもっている。直接光の吸収と伝達を担うのが色素分子であるが、光捕集系に多彩な機能をもたせているのが色素を支えるための足場となるタンパク質である。光捕集系全般及び色素系については既に多くの書物が出版されているため²⁻⁶⁾、本稿では非酸素発生型光合成細菌の内、紅色細菌の光捕集系を取り上げる。図1にその模式図を反応中心とともに示す。この図からもわかるように研究材料としての光合成細菌の魅力は何と言ってもそのシンプルさと各構成器官の役割の明確さである。しかし、一見シンプルに見える現象でも想像を超える複雑さを内包しており、その仕組みの巧妙さも魅力の一つである。ここではその複雑さの要因の一つである光捕集タンパク質の多様性について、筆者らの研究を交えて紹介したいと思う。

2. コア光捕集複合体LH1

紅色光合成細菌の光捕集系は図1に示したようにコア光捕集複合体LH1と周辺光捕集複合体LH2から構成される。LH2を持たない *Rhodospirillum (Rsp.) rubrum* のような菌種もあるが、全ての紅色細菌にはLH1が存在する。LH1がRCを取り囲んだ形で配置し、RCとの比率は化学量論的にほぼ一定であるとされている。LH1は2種類のポリペプチド α と β が組みとなり、これにバクテリオクロロフィル BChl が2分子とカロチノイドが結合したものが構造単位 (サブユニット) を構成する。多くの紅色細菌においてこの単位が15ないし16ほどRCの周りをやや楕円状に取り囲んでいるが、

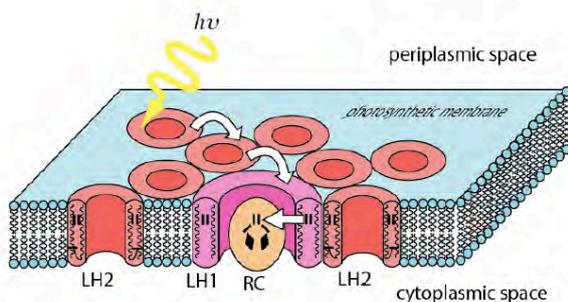


図1 紅色光合成細菌の光捕集複合体と反応中心の模式図

[‡] 解説特集「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」

* 連絡先 E-mail: otomo@mx.ibaraki.ac.jp

Rhodobacter (Rba.) sphaeroides 由来のLH1のように13ないし14のサブユニットがダイマーとなって、S字の形でRCの周囲に配置するものもある。

紅色細菌の明反応器官の中で、LH1複合体の高分解能の立体構造はまだ得られていない。しかし、適切な条件下で、LH1は高い自己組織能力を示す。この性質を利用して、LH1を構成する構造単位についての研究が盛んに行われてきた。例えば、界面活性剤Octyl glucosideの濃度を調節することによって、色素BChlと α と β ポリペプチドから820 nmに吸収極大を有するサブユニット複合体(B820)が再構成でき、さらにこのサブユニットから生体内と同様な吸収極大(約873 nm)を示す高次会合体(B873)が再構成される⁷⁾。図2にこの様子と各状態の吸収スペクトルとを対応させて示した。B820は極めて高い構造安定性をもつことで知られ、その正体については、一時期ヘテロダイマー(BChl₂ $\alpha\beta$)かテトラマー(BChl₂ $\alpha\beta$)₂かの議論があったが、中性子散乱の測定から前者であることが示された⁸⁾。さらにB820中における色素分子について、核磁気共鳴の研究から2個のBChlがface-to-faceで非対称な配置を取り、ピロール環II、IIIとVが互いに部分的に重なっていることが明らかになった⁹⁾。このようにLH1全体についての詳細構造がわかっていないものの、その構成単位の構造と性質が詳しく調べられてきた。一方、色素を含む構造体の研究と平行に、LH1複合体の構成タンパク質についても多くの研究がなされてきた。以下、これらについて個別に述べる。

2.1. LH1 $\alpha\beta$ ポリペプチド

LH1を構成する主要タンパク質は、膜一回貫通領域をもつ α と β ポリペプチド(分子量約5-7 kDa)である。BChl bを合成する*Rhodospseudomonas (Rps.) viridis*のような紅色細菌には、 α と β に加え、 γ ポリペプチド(約30残基)が1:1:1の割合で存在する¹⁰⁾。一般的にLH1 α と β が種類ずつ存在するが、タイプVに分類されるオペロンをもつ紅色硫黄細菌*Allochrochromatium (Alc.) vinosum*と*Amoebobacter purpureus*には遺伝子上三種類ずつ(1A₁

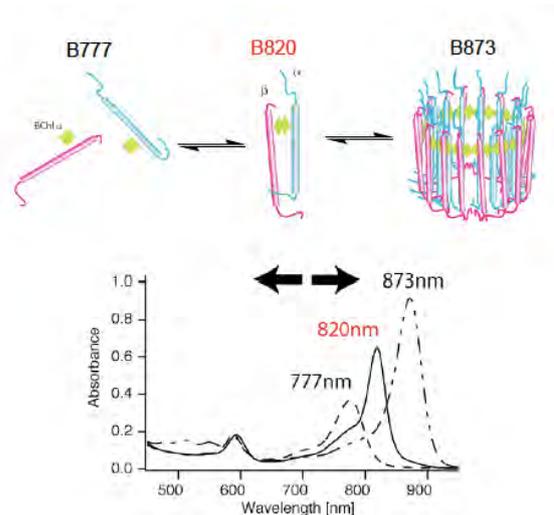
、2A₂、3A₃)存在することが知られている^{11, 12)}。実際*Alc. vinosum*からLH1 α と β ポリペプチドが二種類ずつ確認されている¹³⁻¹⁵⁾。しかし、近縁種の*Thermochromatium (Tch.) tepidum*のオペロン及びその周辺には、 α と β をコードする遺伝子が一対しか存在しないことが最近の研究で明らかになった¹⁶⁾。ま


図2 LH1複合体の会合状態と対応する吸収スペクトル

た、好塩性紅色細菌*Ectothiorhodospira halochloris*と*Ectothiorhodospira halophila*のLH1からも α と β ポリペプチドが二種類ずつ単離された¹⁷⁾。現在のところ、複数種類のLH1 $\alpha\beta$ ポリペプチドをもつ菌体と高塩濃度という生息環境との間に相関関係があるように見られるが、これらのポリペプチドのもつ生理的な意義はまだわかっていない。

一部のLH1 $\alpha\beta$ ポリペプチドは翻訳後C末端領域でのプロセッシングを受け、約10-15残基が切除されることが知られている。このような菌種には、*Rsp. rubrum*¹⁸⁾、*Rps. viridis*、*Rubrivivax (Rvi.) gelatinosus*¹⁹⁾と*Alc. vinosum*¹⁵⁾が含まれる。多くのLH1 α のN末端メチオニンがフォルミル化されている。さらに、このメチオニン基が容易に酸化を受けることもわかった²⁰⁾。LH2 α ポリペプチドの場合、N末端残基がB800に配位することが知られているが、LH1の場合それに相当する色素が存在しないため、その役割は不明である。一方、殆どのLH1 β のN末端がアラニンになっており、幾つかの菌体からこのアラニン残基がメチル化されていることが見出された^{21, 22)}。また、古くからLH1ポリペプチドのリン酸化が報告されてきた。*Rsp. rubrum*の菌体及びクロマトフォアを用いた実験からリン酸化されたタンパク質の存在が確認され、分子量約10kDaのものがLH1ポリペプチドに帰属された^{23, 24)}。同菌体からLH1をリン酸化するキナーゼも報告された²⁵⁾。しかし、単離精製されたLH1ポリペプチドの質量測定からこのようなリン酸化が認められなかった^{20, 22)}。*Rba. capsulatus*由来のLH1 α の場合、膜挿入過程において、特にcytoplasmic sideに位置するSer2が高い割合でリン

酸化され²⁶⁾、その後完全に脱リン酸化を受けた結果、成熟後の光合成膜にはリン酸化されたLH1ポリペプチドが見つからなかった²⁷⁾。

*Rhodovulum (Rhv.) sulfidophilum*のLH1βも複合体形成の過程でリン酸化されるが、形成後の膜にはリン酸化されたLH1βがまだ残っていたとの報告がある²⁸⁾。

これらのリン酸化は、光合成膜の形成や膜へのタンパク質の挿入に際して必要な一時的な修飾であると考えられる。

2.2. PufXポリペプチド²⁹⁾

全ての*Rhodobacter*種由来のLH1複合体には、PufXと呼ばれる約80残基の膜タンパク質が存在する³⁰⁾。この中で、*Rba. sphaeroides*由来のPufXが最も良く研究されてきた。PufXの役割として、主に嫌気条件下での光駆動電子移動^{31,32)}と、RCとCytochrome *bc*₁間のユビキノン輸送³³⁾に関わり、またLH1-RC複合体のS字形二量体形成に寄与することが挙げられる³⁴⁾。しかし最近では、*Rba. veldkampii*から単量体のLH1-RCが観測され、この場合PufXが二量化に寄与しないとの報告がある^{35,36)}。PufXの存在は既に約20年以上前に知られていたが、タンパク質として単離されたのはずっと後のことである³⁷⁾。PufXは生育条件によらずRCと1:1の量論比で発現され、強い疎水性の性質をもつ。翻訳後にC末端プロセッシングを受け、約70残基の成熟タンパク質になる。*in vitro*再構成の実験では、PufXはLH1αと強く相互作用する傾向を示し、LH1複合体の形成に阻害的な効果を及ぼすことが明らかになった。さらにPufXの中央ドメインはLH1ポリペプチドとの相互作用³⁸⁾に、両末端ドメインは主にLH1-RCの二量化とPufXの膜挿入³⁹⁾にそれぞれ寄与することもわかった。

PufXの機能解明とともに、構造的研究も多くなされてきた。*Rba. sphaeroides*由来のRC-LH1-PufX複合体の二次元結晶から8.5Å分解能の構造⁴⁰⁾、三次元結晶から12Å分解能の回折結果⁴¹⁾がそれぞれ報告された。またAFMや単粒子解析法などによる構造解析も報告されているが、分解能が低いため、複合体中におけるPufXの

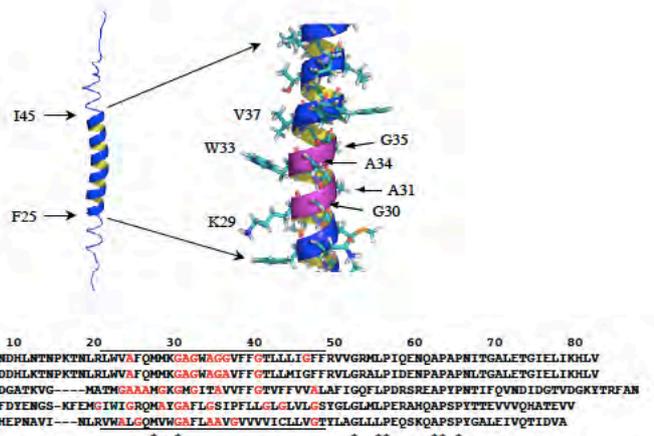


図3 *Rba. sphaeroides*由来PufXの構造とこれまで報告されたPufXのアミノ酸配列³⁰⁾配列の上下にある黒線の部分は膜貫通領域を表し、その中にあるGlyとAla残基を赤字で示している。*印は全PufXの中で保存されたアミノ酸残基を表す。

配置やコンフォメーションについて信頼できる情報を得るのが難しい状況にある。そこで、PufX単独の立体構造決定の試みも行われた。天然のPufXの発現量が極めて少なく、疎水性が高いため適切な発現系の探索が必要であった。筆者らは大腸菌発現系を構築し、*Rba. sphaeroides*由来のPufXの発現を試みたところ、活性をもつPufXタンパク質が大量に得られた⁴²⁾。これに続き、PufXの同位体標識を行い、その立体構造を核磁気共鳴法で決定した⁴³⁾。同時期に他のグループからの結果も発表された⁴⁴⁾。PufXは膜一回貫通のヘリックス構造を示し、その中央部分にGlyとAla残基に富む領域（Gly30-Gly36、紫色）が存在することが判明した（図3）。この領域は側鎖の小さいGlyとAlaがヘリックスの片側に、側鎖の大きい他の残基がヘリックスの反対側と両側に位置して、くぼみ（凹）の形をしている「通路」のように見える。重水素交換の測定からこの領域のヘリックスが柔軟性に富み、他の部分より溶媒からのアクセスを受けやすい特徴をもっていることが明らかになった。図3のアミノ酸配列を見ると、*Rba. sphaeroides*と*Rba. capsulatus*のPufXの膜貫通領域にそれぞれ6つと7つのGlyが存在することがわかる。これは、LH1αβの同じ領域にGlyが一個程度しかないことと好対照である。*Rba. sphaeroides*のPufXにある5つのGlyがGxGxxGGxxxG (x: Gly以外のアミノ酸) というモチーフを形成している。類似のモチーフ (V/IxGx₁₋₂GxxGxxxG)が酸化還元酵素中にあるFADやNAD (P)の結合部位にもよく見られ⁴⁵⁾、キノン輸送を担うPufXの機能的観点から興味深いことである。一方、これまで膜貫通ヘリックス間の相互作用にG x x x G y

GxxxAモチーフが高頻度で現れることが知られている^{46,47)}。図3から、これらのモチーフが全てのPufX配列に見られることがわかる。他の実験結果と合わせて、GlyとAlaに富むこれらの領域はキノン輸送とタンパク質間相互作用を司るPufXの活性部位である可能性が高い。

2.3. Protein ΩとProtein W

*Rsp. rubrum*のカロチノイド欠損変異株からLH1を単離する際に、分子量約4 kDaの未知のタンパク質も同時に精製され、Protein Ωと名付けられた²⁵⁾。Protein Ωは、LH1αβに対して約1/10のモル比で存在し、強い疎水的性質をもつとされる。そのアミノ酸組成が同定されたものの、配列に関する情報は得られていない。二次元再構成の結晶の観察では、Protein ΩをもつLH1-RCが四角形に近い4回回転対称の形態をとっていることが示され、Protein Ωが4つの角に配置する構造モデルが提案された^{48,49)}。一方、*Rsp. rubrum*野生株から精製されたLH1とRCの二次元再構成結晶から、円形に近いリング状のLH1-RCの構造が観測された⁵⁰⁾。

現在最も高い分解能(4.8Å)の結晶構造が知られている*Rps. palustris*のLH1-RCには、LH1αβに帰属できない新たなタンパク質が見出され、Protein Wと名付けられた⁵¹⁾。Protein Wは、RCに対して1:1、LH1αβに対して15:1の割合で存在し、LH1が形成するリング状構造の切れ目に位置する。有機溶媒で抽出されたLH1-RC複合体のゲル濾過分画によりProtein Wが単離され、銀染色SDS-PAGEでは11kDa、TOF-MSでは10708 Daであることがわかった。*Rps. palustris*のゲノム配列はすでに公表されているが、Protein Wの配列に関する情報はまだ得られていない。分子量、存在割合及びLH1-RC複合体中での配置から、Protein Wがキノン輸送に関わるPufXと似たような役割を果たすのではないかと推測されている。

2.4. LH1と金属イオンとの相互作用

一般に、BChl *a*をもつ紅色細菌のLH1は約880 nmに吸収ピーク (Q_y 遷移)を示す。一方、紅色硫黄細菌970株の場合960 nm⁵²⁾、好熱硫黄細菌*Tch. tepidum*の場合915 nm^{53,54)}、非硫黄細菌*Roseospirillum parvum* 930Iの場合909 nm⁵⁵⁾にそれぞれ Q_y ピークをもつことが知られている。これらのLH1 Q_y 遷移が長波長へシフトする原因は長い間謎に包まれてきた。最近、*Tch. tepidum*のLH1におけるこの異常吸収挙動にCa²⁺が深く関わって

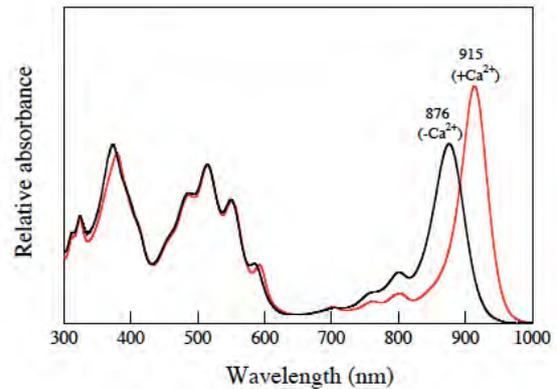


図4 *Tch. tepidum*由来LH1-RC複合体のLH1 Q_y 遷移に及ぼすCa²⁺の影響

Ca²⁺存在下では、915 nmに位置するのに対して、Ca²⁺を取り除いた場合は、876 nmに変化する。

いることが突き止められた(図4)⁵⁶⁾。NaClを用いた陰イオン交換カラムで精製したLH1-RCに、各種濃度のNa⁺、K⁺、Cd²⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Sr²⁺、Ba²⁺塩を添加したところ、Ca²⁺塩を除く全ての塩でLH1 Q_y 遷移のブルーシフトが観測され、このことはLH1中の色素の配向状態に変化が起きたことを表している。そこでCaCl₂を用いて精製したLH1-RCに対して同様の実験を行ったところ、全ての塩においてLH1 Q_y 遷移の変化が認められなかった。このことはLH1ポリペプチドにCa²⁺-binding siteが存在し、一旦Ca²⁺が結合するとLH1中の色素の配向構造が強く保持されることを示唆している。

*Tch. tepidum*から精製されたLH1-RC複合体は常温菌のものより高い熱安定性を示し、約60°Cまで安定に存在できる。この熱安定性にもCa²⁺が必要であることが明らかにされた⁵⁷⁾。天然のLH1-RC複合体からCa²⁺を除去することにより熱安定性が常温菌由来のものと同程度まで下がり、またLH1-RCにCa²⁺を添加すると再び熱安定性が天然型と同じレベルに回復することがわかった。示差走査熱量分析により、天然型LH1-RCの熱変性温度はCa²⁺を除去したものより約15°C高いことが示された。さらに、Ca²⁺の代わりに、他の二価金属イオンCd²⁺、Mg²⁺、Sr²⁺、Ba²⁺を添加したところ、LH1-RCの熱耐性は天然型とCa²⁺添加のものより低く、Ca²⁺を除去したものより高いことから、これらの金属イオンもある程度LH1複合体と結合できることを示唆した。この結果はこれまで推測していた「LH1中にあるCa²⁺-binding siteに、Ca²⁺が結合すると色素の配向構造が強く保持され、色素膜タンパク質複合体全

体としての構造安定性が高められた」ことを強く支持している。この微生物が生息する米国イエローストーン国立公園の温泉周辺に豊富な炭酸カルシウムが存在することから、進化の過程において環境適応のためにCa²⁺が取り入れられたものと考えられる。

3. 周辺光捕集複合体LH2

3.1. LH2の構造と分光学的多様性

1995年に、*Rps. acidophila* 10050株から単離されたLH2の高分解構造⁵⁸⁾が発表されてから、さらに二つの構造が加わった。1つは *Phaeospirillum* (*Phs.*) *molischianum* 由来のもので、*Rps. acidophila* のLH2が9組のαβ対からなるのに対して、8組のαβから構成されている⁵⁹⁾。この二種類のLH2はともに800 nmと850 nmに吸収極大をもつ (B800-850タイプ) が、800 nmに吸収を示すBChl *a* (B800)に配位するアミノ酸残基は、*Rps. acidophila* の場合α鎖のN末端COO-Met1であるのに対し⁶⁰⁾、*Phs. molischianum* の場合N末端領域にあるAsp6である。また、B800色素の配向は両者の間では違うため、異なる円偏光二色性(CD)スペクトルを示す⁶¹⁾。もう一つの構造はlow-light条件下で培養した*Rps. acidophila* 7050株から得られたもので⁶²⁾、800 nmと820 nmに吸収極大を示すことからB800-820タイプのLH2と呼ばれている (LH3とも呼ばれていたが、現在LH2に分類されている)。B800-820は、*Rps. acidophila* B800-850と同様αβの9量体で構成される。両者の違いは主にα鎖アミノ酸配列の違いに起因することがわかっている。B800-850の場合、B850 BChl *a*のC3-acetyl基と水素結合をつくるTyr44とTrp45が、B800-820の場合水素結合が形成できないPheとLeuにそれぞれ変わっている。さらに、B820 BChl *a*のC13¹-keto基が水素結合をもたず、フリーの状態であることが明らかになった。他の実験結果と合わせて、これらの水素結合の欠如による色素の回転自由度の増加が吸収極大のブルーシフトをもたらす主要な原因であると考えられている。一方、low-light条件下での*Rps. palustris* 2.1.6から得られたLH2の低分解電子密度マップ (7.5Å) が報告された⁶³⁾。*Phs. molischianum*のLH2と同じαβの8量体で構成され、800 nm に1つの吸収極大を示す (B800-LH2、LH4とも呼ばれる)。これまで8量体と報告されたLH2はこの二つだけで、前述の *Rps. acidophila* に加え、*Rba. sphaeroides*、*Rhv. sulfidophilum*、*Rvi. gelatinosus*からのLH2は全て9量体で構成されている。

3.2. LH2構成タンパク質の多様性

今まで高分解能の立体構造が報告されたLH2は全て一種類のαβポリペプチドから構成されている。しかし、古くからLH2をもつ多くの紅色細菌から複数種類のαβポリペプチドが単離されてきた。これらのポリペプチド間におけるアミノ酸の相同性は高く、培養条件によって組成が変化する。また、近年ゲノム解析からLH2をコードする遺伝子*pucBA*が多くの菌体において複数存在することが明らかになった。*Rps. palustris*のゲノムには、相同性の高い5つの*pucBA_{a-e}*が同定され、この内1対(*pucB_eA_e*)のみが遺伝子下流に*pucC*を伴う従来*puc*と呼ばれてきたoperon内に存在する。これらの遺伝子の発現は光強度によって制御され、high-light (>1000 lux)の条件下では3組のαβポリペプチドが発現する。

Rps. acidophila 10050と7050株から、それぞれ少なくとも相同性の高い4つの*pucBA*が確認された。これらの遺伝子の発現産物にはC末端領域のプロセッシングを受けるものが多いが、その仕組みと理由についてはわかっていない。また、長年 *puc* operon 内に1対の*pucBA* しかないと言われてきた *Rba. sphaeroides* のChromosome 1 から新たに *puc2BA* が見出された⁶⁴⁾。*puc2B*がコードするポリペプチドは既知のLH2βと94%の相同性をもつものに対し、*puc2A*がコードするタンパク質は既知のLH2α(54残基)よりはるかに長い263残基を有することがわかった。実際*puc2BA*の発現は確認されたが、*puc2B*由来のポリペプチドがLH2複合体の約30%を占めているのに対して、*puc2A*由来のタンパク質またはその断片がLH2複合体に組み込まれていないことが判明している。さらに、最近では紅色硫黄細菌のLH2遺伝子もよく調べられるようになってきた。*Alc. vinosum*のゲノムには、少なくとも6つの*pucBA*が同定され、うち2つが*puc* operonに存在する⁶⁵⁾。これまで同菌体より、αポリペプチドが3つ、βポリペプチドが4つそれぞれ単離されている¹⁰⁾。好熱菌*Tch. tepidum*の遺伝子解析から3つの*pucBA*が検出され、うち2つが*puc* operonに位置する⁶⁶⁾。同菌種には、αとβポリペプチドが各3つずつ確認されている。

4. 機能の理解から機能調節機構の解明へ

光合成細菌はシンプルな構造をもちながら、高温・高酸性・高塩濃度などの極限的な環境下でも生き抜く

能力をもっている。これまで、紅色細菌における各種色素膜タンパク質複合体の立体構造の情報がその後の機能解明に大きく貢献してきた。今後もこのような「構造に基づく機能の理解」という流れは変わらないであろう。一方、環境変化に応じて、機能がどのように変わり、それを可能にするためには構成成分とその構造がどのように変化するかという環境適応に関する仕組みの分子レベルでの解明が大きく前進するものと考えられる。紅色細菌の明反応系については、構造と配列情報の蓄積により、既にこのような研究が可能になりつつある。この中で、LH1複合体だけは高分解能の立体構造がまだ得られていない“missing ring”になっている。原子レベルでの構造決定が当面の急務であり、そのための努力が今も続けられている⁶⁷⁾。LH1複合体の構造解明によって、それ自体の分光学的特徴に加え、RCとbc₁複合体間におけるキノン輸送の経路、LH1とRC間の相互作用形態、LH1ポリペプチドにおける様々な修飾とαβ以外のマイナー成分 (PufX、Protein Ω、Protein W及びその他未知のタンパク質) の役割など、多くの貴重な情報が得られると期待できる。これまで、LH1αとβが1:1の組成比で存在し、LH1とRCとの比率もほぼ一定であるとされてきた。しかし、AFMの観察からLH1の形状とサイズがともに不均一性を示し⁶⁸⁾、また色素とタンパク質の組成を調べた実験から光強度によってこれらの組成が大きく変化することが報告されている⁶⁹⁾。これらの結果は、LH1も環境変化に応じて構造と組成が変化し、この柔軟性が光捕集だけでなく、キノン輸送にも重要な役割を果たすことを示唆している。

LH1に比べ、LH2は環境の変化により敏感に反応する。その結果として様々な吸収スペクトルを示す複合体の構造とタンパク質組成の多様性を生み出している。現在立体構造がわかっているLH2は、αβポリペプチドが一对のみからなっている8量体または9量体に限られる。しかし、通常の培養条件下でも複数種類のLH2αβが発現されるものが多い。このような場合、図5に示す二通りの組合せが考えられる。(a)では、1つの複合体が一種類のαβのみから構成され、複合体によって構成するαβの種類が異なる。これに対して(b)では、1つの複合体に複数種類のαβが一定の割合で入っている。後者のような構造をもつLH2がまだ確認されていないが、最近それを示唆する分光学的結果が報告されている⁷⁰⁾。一方、8量体と9量体以外のリング

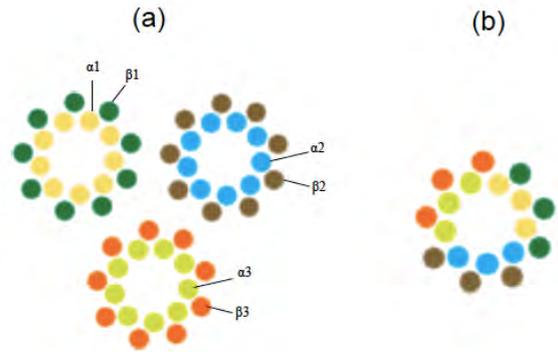


図5 複数種類のLH2ポリペプチドが存在する場合におけるLH2複合体の構造模式図

サイズをもつLH2の存在及びその不均一性を示唆する結果も得られている^{71,72)}。LH2複合体の構造とそれによる分光学的性質への影響について既に多くのことがわかってきたが、複合体を構成する単位の数が何によって決まるのか、複数種類のαβがどのようにLH2に組み込まれるかなどについては依然として不明である。今後、これらの課題の解決に向けて、さらに地道な努力を重ねることが必要であると考えられる。

謝辞

以下の文献に名前を記載させて頂いた共同研究者に感謝いたします。また、本稿執筆の機会を与えてくださった永島賢治博士に感謝いたします。

Received July 6, 2010, Accepted July 16, 2010, Published August 31, 2010

参考文献

1. Kühlbrandt, W. (2001) Chlorophylls galore. *Nature* 411, 896-899.
2. Green, B. R., and Parson, W. W. (2003) *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
3. Frank, H. A. (1999) *The Photochemistry of Carotenoids*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
4. 三室守 (2000) 多様なアンテナ系 「電子と生命」, 共立出版.
5. 田中歩 (2000) 光りを捕らえる-アンテナ色素系 「生命を支える光」, 共立出版.
6. 小林正美, 大橋俊介. (2006) 光合成微生物の色素-クロロフィル, 「光合成微生物の機能と応用」 pp 38-55, CMC出版.
7. Parkes-Loach, P. S., Sprinkle, J. R., and Loach, P. A. (1988) Reconstitution of the B873 light-harvesting

- complex of *Rhodospirillum rubrum* from the separately isolated α - and β - polypeptides and bacteriochlorophyll *a*. *Biochemistry* 27, 2718-2727.
8. Wang, Z.-Y., Muraoka, Y., Nagao, M., Shibayama, M., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2003) Determination of the B820 subunit size of a bacterial core light-harvesting complex by small-angle neutron scattering. *Biochemistry* 42, 11555-11560.
 9. Wang, Z.-Y., Muraoka, Y., Shimonaga, M., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2002) Selective detection and assignment of the solution NMR signals of bacteriochlorophyll *a* in a reconstituted subunit of a light-harvesting complex. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 1072-1078.
 10. Brunisholz, R. A., and Zuber, H. (1992) Structure, function and organization of antenna polypeptides and antenna complexes from the three families of *Rhodospirillaneae*. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 15, 113-140.
 11. Nagashima, S., Shimada, K., Matsuura, K., and Nagashima, K. V. P. (2002) Transcription of three sets of genes coding for the core light-harvesting proteins in the purple sulfur bacterium, *Allochromatium vinosum*. *Photosynth. Res.* 74, 269-280.
 12. Tuschak, C., Leung, M. M., Beatty, J. T., and Overmann, J. (2005) The *puf* operon of the purple sulfur bacterium *Amoebobacter purpureus*: structure, transcription and phylogenetic analysis. *Arch. Microbiol.* 183, 431-443.
 13. Nozawa, T., Ohta, M., Hatano, M., Hayashi, H., and Shimada, K. (1985) Sequence homology and structural similarity among B870 (B890) polypeptides of purple photosynthetic bacteria and the mode of bacteriochlorophyll binding. *Chem. Lett.*, 343-346.
 14. Zuber, H., and Cogdell, R. J. (1995) Structure and organization of purple bacterial antenna complexes, in *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria* (Blankenship, R. E., Madigan, M. T., and Bauer, C. D., Eds.) pp 315-348, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
 15. Wang, Z.-Y., Shimonaga, M., Suzuki, H., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2003) Purification and characterization of the polypeptides of core light-harvesting complexes from purple sulfur bacteria. *Photosynth. Res.* 78, 133-141.
 16. Sekine, F., and Wang, Z.-Y. (2010) Acc. No: AB543090, DNA Data Bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-j.html>)
 17. Wagner-Huber, R., Brunisholz, R. A., Bissig, I., Frank, G., Suter, F., and Zuber, H. (1992) The primary structure of the antenna polypeptides of *Ectothiorhodospira halochloris* and *Ectothiorhodospira halophila*. *Eur. J. Biochem.* 205, 917-925.
 18. Bérard, J., Bélanger, G., Corriveau, P., and Gingras, G. (1986) Molecular cloning and sequence of the B880 holochrome gene from *Rhodospirillum rubrum*. *J. Biol. Chem.* 261, 82-87.
 19. Nagashima, K. V. P., Matsuura, K., Ohya, S., and Shimada, K. (1994) Primary structure and transcription of genes encoding B870 and photosynthetic reaction center apoproteins from *Rubrivivax gelatinosus*. *J. Biol. Chem.* 269, 2477-2484.
 20. Wang, Z.-Y., Shimonaga, M., Muraoka, Y., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2001) Methionine oxidation and its effect on the stability of reconstituted subunit of light-harvesting complex from *Rhodospirillum rubrum*. *Eur. J. Biochem.* 268, 3375-3382.
 21. Wang, Z.-Y., Shimonaga, M., Muraoka, Y., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2001) Re-identification of the N-terminal amino acid residue and its modification of β -polypeptide of light-harvesting complex I from *Rhodospirillum rubrum*. *Photosynth. Res.* 70, 321-323.
 22. Wang, Z.-Y., Shimonaga, M., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2002) N-terminal methylation of the core light-harvesting complex in purple photosynthetic bacteria. *FEBS Lett.* 519, 164-168.
 23. Holuigue, L., Lucero, H. A., and Vallejos, R. H. (1985) Protein phosphorylation in the photosynthetic bacterium *Rhodospirillum rubrum*. *FEBS Lett.* 181, 103-108.
 24. Holmes, N. G., and Allen, J. F. (1988) Protein phosphorylation in chromatophores from *Rhodospirillum rubrum*. *Biochim. Biophys. Acta* 935, 72-78.
 25. Ghosh, R., Ghosh-Eicher, S., DiBerardino, M., and Bachofen, R. (1994) Protein phosphorylation in *Rhodospirillum rubrum*: purification and characterization of a water-soluble B873 protein kinase and a new component of the B873 complex, Ω , which can be phosphorylated. *Biochim. Biophys. Acta* 1184, 28-36.
 26. Brand, M., Garcia, A. F., Pucheu, N., Meryandini, A., Kerber, N., Tadros, M. H., and Drews, G. (1995) Phosphorylation of the light-harvesting polypeptide LH1a of *Rhodobacter capsulatus* at serine after membrane insertion under chemotrophic and phototrophic growth conditions. *Biochim. Biophys. Acta* 1231, 169-175.
 27. Kerber, N., Pucheu, N., Tadros, M. H., Drews, G., and Garcia, A. F. (1998) The phosphorylation of light-harvesting polypeptides LH1 α (B870) and LHIII α (B800-850) of *Rhodobacter capsulatus* B10 was higher under chemotrophic oxic than under phototrophic anoxic growth conditions. *Curr. Microbiol.* 37, 32-38.
 28. Iustman, L. J. R., Pucheu, N., Kerber, N., Vandekerckhove, J., Tadros, M. H., and Garcia, A. F. (2001) Phosphorylation of LHI b during membrane synthesis in the photosynthetic bacterium *Rhodovulum sulfidophilum*. *Curr. Microbiol.* 42, 323-329.
 29. Holden-Dye, K., Crouch, L. I., and Jones, M. R. (2008) Structure, function and interaction of the PufX protein. *Biochim. Biophys. Acta* 1777, 613-630.
 30. Tsukatani, Y., Matsuura, K., Masuda, S., Shimada, K., Hiraishi, A., and Nagashima, K. V. P. (2004)

- Phylogenetic distribution of unusual triheme to tetraheme cytochrome subunit in the reaction center complex of purple bacteria. *Photosynth. Res.* 79, 83-91.
31. Farchaus, J. W., Barz, W. P., Grünberg, H., and Oesterhelt, D. (1992) Studies on the PufX polypeptide and its requirement for photoheterotrophic growth in *Rhodobacter sphaeroides*. *EMBO J.* 11, 2779-2788.
 32. Barz, W. P., Francia, F., Venturoli, G., Melandri, B. A., Vermeglio, A., and Oesterhelt, D. (1995) Role of PufX protein in photosynthetic growth of *Rhodobacter sphaeroides*. 1. PufX is required for efficient light-driven electron transfer and photophosphorylation under anaerobic conditions. *Biochemistry* 34, 15235-15247.
 33. Barz, W. P., Vermeglio, A., Francia, F., Venturoli, G., Melandri, B. A., and Oesterhelt, D. (1995) Role of PufX protein in photosynthetic growth of *Rhodobacter sphaeroides*. 2. PufX is required for efficient ubiquinone/ubiquinol exchange between the reaction center Q_B site and the cytochrome bc₁ complex. *Biochemistry* 34, 15248-15258.
 34. Francia, F., Wang, J., Venturoli, G., Melandri, B. A., Barz, W. P., and Oesterhelt, D. (1999) Reaction center-LH1 antenna complex of *Rhodobacter sphaeroides* contains one PufX molecule which is involved in dimerization of this complex. *Biochemistry* 38, 6834-6845.
 35. Gubellini, F., Francia, F., Busselez, J., Venturoli, G., and Lévy, D. (2006) Functional and structural analysis of the photosynthetic apparatus of *Rhodobacter veldkampii*. *Biochemistry* 45, 10512-10520.
 36. Busselez, J., Cottevieille, M., Cuniasse, P., Gubellini, F., Boisset, N., and Lévy, D. (2007) Structural basis for the PufX-mediated dimerization of bacterial photosynthetic core complex. *Structure* 15, 1674-1683.
 37. Recchia, P. A., Davis, C. M., Lilburn, T. G., Beatty, J. T., Parkes-Loach, P. S., Hunter, C. N., and Loach, P. A. (1998) Isolation of the PufX protein from *Rhodobacter capsulatus* and *Rhodobacter sphaeroides*: Evidence for its interaction with the α -polypeptide of the core light-harvesting complex. *Biochemistry* 37, 11055-11063.
 38. Parkes-Loach, P. S., Law, C. J., Recchia, P. A., Kehoe, J., Nehrlich, S., Chen, J., and Loach, P. A. (2001) Role of the core region of the PufX protein in inhibition of reconstitution of the core light-harvesting complexes of *Rhodobacter sphaeroides* and *Rhodobacter capsulatus*. *Biochemistry* 40, 5593-5601.
 39. Francia, F., Wang, J., Zischka, H., Venturoli, G., and Oesterhelt, D. (2002) Role of the N- and C-terminal regions of the PufX protein in the structural organization of the photosynthetic core complex of *Rhodobacter sphaeroides*. *Eur. J. Biochem.* 269, 1877-1885.
 40. Qian, P., Hunter, C. N., and Bullough, P. A. (2005) The 8.5 Å projection structure of the core RC-LH1-PufX dimer of *Rhodobacter sphaeroides*. *J. Mol. Biol.* 349, 948-960.
 41. Abresch, E. C., Axelrod, H. L. A., Beatty, J. T., Johnson, J. A., Nechushtai, R., and Paddock, M. L. (2005) Characterization of highly purified, fully active, crystallizable RC-LH1-PufX core complex from *Rhodobacter sphaeroides*. *Photosynth. Res.* 86, 61-70.
 42. Onodera, S., Suzuki, H., Shimada, Y., Kobayashi, M., Nozawa, T., and Wang, Z.-Y. (2007) Overexpression and characterization of the *Rhodobacter sphaeroides* PufX membrane protein in *Escherichia coli*. *Photochem. Photobiol.* 83, 139-144.
 43. Wang, Z.-Y., Suzuki, H., Kobayashi, M., and Nozawa, T. (2007) Solution structure of the *Rhodobacter sphaeroides* PufX membrane protein: Implications for the quinone exchange and protein-protein interactions. *Biochemistry* 46, 3635-3642.
 44. Tunnicliffe, R. B., Ratcliffe, E. C., Hunter, C. N., and Williamson, M. P. (2006) The solution structure of the PufX polypeptide from *Rhodobacter sphaeroides*. *FEBS Lett.* 580, 6967-6971.
 45. Kleiger, G., and Eisenberg, D. (2002) GXXXG and GXXXA motifs stabilize FAD and NAD(P)-binding Rossmann folds through C α -HO hydrogen bonds and van der Waals interactions. *J. Mol. Biol.* 323, 69-76.
 46. Russ, W. P., and Engelman, D. M. (2000) The GxxxG motif: a framework for transmembrane helix-helix association. *J. Mol. Biol.* 296, 911-919.
 47. Kleiger, G., Grothe, R., Mallick, P., and Eisenberg, D. (2002) GXXXG and AXXXA: common α -helical interaction motifs in proteins, particularly in extremophiles. *Biochemistry* 41, 5990-5997.
 48. Strahlberg, H., Dubochet, J., Vogel, H., and Ghosh, R. (1998) The reaction center of the photounit of *Rhodospirillum rubrum* is anchored to the light-harvesting complex with four-fold rotational disorder. *Photosynth. Res.* 55, 363-368.
 49. Strahlberg, H., Dubochet, J., Vogel, H., and Ghosh, R. (1998) Are the light-harvesting I complexes from *Rhodospirillum rubrum* around the reaction center in a square geometry. *J. Mol. Biol.* 282, 819-831.
 50. Karrasch, S., Bullough, P. A., and Ghosh, R. (1995) The 8.5 Å projection map of the light-harvesting complex I from *Rhodospirillum rubrum* reveals a ring composed of 16 subunits. *EMBO J.* 14, 631-638.
 51. Roszak, A. W., Howard, T. D., Southall, J., Gardiner, A. T., Law, C. J., Isaac, N. W., and Cogdell, R. J. (2003) Crystal structure of the RC-LH1 core complex from *Rhodospseudomonas palustris*. *Science* 302, 1969-1972.
 52. Permentier, H. P., Neerken, S., Overmann, J., and Amesz, J. (2001) A bacteriochlorophyll *a* antenna complex from purple bacteria absorbing at 963 nm. *Biochemistry* 40, 5573-5578.
 53. Garcia, D., Parot, P., Vermeglio, A., and Madigan, M. T. (1986) The light-harvesting complexes of a thermophilic purple sulfur photosynthetic bacterium *Chromatium tepidum*. *Biochim. Biophys. Acta* 850, 390-395.
 54. Nozawa, T., Fukuda, T., Hatano, M., and Madigan, M.

- T. (1986) Organization of intracytoplasmic membranes in a novel thermophilic purple photosynthetic bacterium as revealed by absorption, circular dichroism and emission spectra. *Biochim. Biophys. Acta* 852, 191-197.
55. Tuschat, C., Beatty, J. T., and Overmann, J. (2004) Photosynthesis genes and LH1 proteins of *Roseospirillum parvum* 930I, a purple non-sulfur bacterium with unusual spectral properties. *Photosynth. Res.* 81, 181-199.
56. Kimura, Y., Hirano, Y., Yu, L.-J., Suzuki, H., Kobayashi, M., and Wang, Z.-Y. (2008) Calcium ions are involved in the unusual red shift of the light-harvesting 1 Q_y transition of the core complex in thermophilic purple sulfur bacterium *Thermochromatium tepidum*. *J. Biol. Chem.* 283, 13867-13873.
57. Kimura, Y., Yu, L.-J., Hirano, Y., Suzuki, H., and Wang, Z.-Y. (2009) Calcium ions are required for the enhanced thermal stability of the light-harvesting-reaction center core complex from thermophilic purple sulfur bacterium *Thermochromatium tepidum*. *J. Biol. Chem.* 284, 93-99.
58. McDermott, G., Prince, D. M., Freer, A. A., Hawthornthwaite-Lawless, A. M., Papiz, M. Z., Cogdell, R. J., and Isaac, N. W. (1995) Crystal structure of an integral membrane light-harvesting complex from photosynthetic bacteria. *Nature* 374, 517-521.
59. Koepke, J., Hu, X., Muenke, C., Schulten, K., and Michel, H. (1996) The crystal structure of the light-harvesting complex II (B800-B850) from *Rhodospirillum molischianum*. *Structure* 4, 581-597.
60. Papiz, M. Z., Prince, S. M., Howard, T., Cogdell, R. J., and Isaac, N. W. (2003) The structure and thermal motion of the B800-850 LH2 complex from *Rps. acidophila* at 2.0 Å resolution and 100K: new structural feature and functionally relevant motions. *J. Mol. Biol.* 326, 1523-1538.
61. Georgakopoulou, S., Frese, R. N., Johnson, E., Koolhaas, C., Cogdell, R. J., van Grondelle, R., and van der Zwan, G. (2002) Absorption and CD spectroscopy and modeling of various LH2 complexes from purple bacteria. *Biophys. J.* 82, 2184-2197.
62. McLuskey, K., Prince, S. M., Cogdell, R. J., and Isaac, N. W. (2001) The crystallographic structure of the B800-820 LH3 light-harvesting complex from the purple bacteria *Rhodospseudomonas acidophila* strain 7050. *Biochemistry* 40, 8783-8789.
63. Hartigan, N., Tharia, H. A., Sweeney, F., Lawless, A. M., and Papiz, M. Z. (2002) The 7.5-Å electron density and spectroscopic properties of a novel low-light B800 LH2 from *Rhodospseudomonas palustris*. *Biophys. J.* 82, 963-977.
64. Zeng, X., Choudhary, M., and Kaplan, S. (2003) A second and unusual *pucBA* operon of *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1: genetics and function of the encoded polypeptides. *J. Bacteriol.* 185, 6171-6184.
65. Lucas, S., Copeland, A., Lapidus, A., Cheng, J.-F., Bruce, D., Goodwin, L., Pitluck, S., Munk, A. C., Detter, J. C., Han, C., Tapia, R., Larimer, F., Land, M., Hauser, L., Kyrpides, N., Ivanova, N., Zigann, R., Dahl, C., and Woyke, T. (2010) Acc. No: NC_013851, GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_013851)
66. Sekine, F., and Wang, Z.-Y. (2009) Acc. No: AB518069; AB519152, DNA Data Bank of Japan (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-j.html>)
67. Suzuki, H., Hirano, Y., Kimura, Y., Takaichi, S., Kobayashi, M., Miki, K., and Wang, Z.-Y. (2007) Purification, characterization and crystallization of the core complex from thermophilic purple sulfur bacterium *Thermochromatium tepidum*. *Biochim. Biophys. Acta* 1767, 1057-1063.
68. Bahatyrova, S., Frese, R. N., van der Werf, K. O., Otto, C., Hunter, C. N., and Olsen, J. D. (2004) Flexibility and size heterogeneity of the LH1 light-harvesting complex revealed by atomic force microscopy. *J. Biol. Chem.* 279, 21327-21333.
69. Akiyama, M., Nagashima, K. V. P., Inoue, R., Wakayama, T., Kise, H., Hara, M., and Kobayashi, M. (2002) Variation in the size of light harvesting 1 of purple bacteria. *J. Photosci.* 9, 350-352.
70. Brotsudarmo, T. H. P., Kunz, R., Böhm, P., Gardiner, A. T., Moulisová, V., Cogdell, R. J., and Köhler, J. (2009) Single-molecule spectroscopy reveals that individual low-light LH2 complexes from *Rhodospseudomonas palustris* 2.1.6. have a heterogeneous polypeptide composition. *Biophys. J.* 97, 1491-1500.
71. Scheuring, S., Rigaud, J.-L., and Sturgis, J. N. (2004) Variable LH2 stoichiometry and core clustering in native membrane of *Rhodospirillum photometricum*. *EMBO J.* 23, 4127-4133.
72. Kereïche, S., Bourinet, L., Keegstra, W., Arteni, A. A., Verbavatz, J.-M., Boekema, E. J., and Gall, A. (2008) The peripheral light-harvesting complexes from purple sulfur bacteria have different 'ring' sizes. *FEBS Lett.* 582, 3650-3656.

Diversity of the Light-Harvesting Proteins in Purple Photosynthetic Bacteria

Seiu Otomo (Z.-Y. Wang)*

Faculty of Science, Ibaraki University

報告記事

第1回日本光合成学会公開シンポジウム開催報告

小林 正美 (筑波大学 応用理工学類)

西田 生郎 (埼玉大学 理学部)



池内昌彦会長

第1回光合成学会公開シンポジウムは、2010年6月4日～5日に東京大学駒場キャンパスにて開催され、116名のご参加をいただき、無事終えることができました。今年のシンポジウムの統一テーマは「光合成研究のダイナミクス」で、前半(4日)と後半(5日)の2つのサブセッションに分け、それぞれ小林と西田が担当しました。以下に、2日間にわたるシンポジウムの概要をご報告いたします。

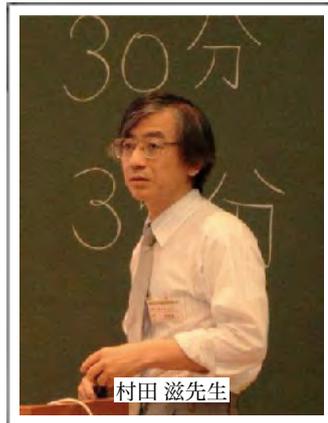
シンポジウムの開始に先立ち、池内昌彦会長から学会成立の経緯とシンポジウムの趣旨についてご挨拶をいただきました。続いてポスターセッションが始まり、大学院生や“自称若手研究者”、研究会 OBによる活発なポスター討論が行われました。

引き続き、小林を世話人とする セッション1「光エネルギーの新しい利用法と光合成研究の温故知新」が始まりました。先ず、「光エネルギーの新しい利用法」として、化学の観点から瀬川浩司先生に「植物の光合成に学ぶ色素増感太陽電池の研究開発」について、続いて村田 滋先生に「化学の視点からみた光合成 - 人工光合成研究の現状と将来」について、各40分のご講演をしていただきました。瀬川先生には、今年の「光合成研究」12月号の内容を分かり易くお話し下さいとお願いしましたので、理解が深まったことと思います。

その後、1時間のポスター討論をはさんで、「光合成研究の温故知新」として、檜山哲夫先生に「光化学系I-P700を中心に」、また佐藤公行先生に「光化学系 II 反応中心同定への途(回顧)」なる表題で、お話を伺いました。お二方からは、できるだけ若い頃の苦労話など、普段なかなか拝聴することができない逸話を伺いたく、敢えて要旨を御願ひしませんでした(要旨集でお二方の箇所が白紙になっており、驚かれた方も多かったと思います)。それが功を奏し(?)、論文や著書からは知ることができない貴重なお話や写真を見聞きすることができました。お二方と前述の村田先生には、今年の「光合成研究」12月号での執筆を御願ひしていますので、ご期待ください。



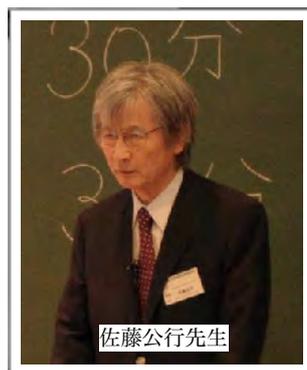
瀬川浩司先生



村田 滋先生



檜山哲夫先生



佐藤公行先生



高橋裕一郎先生

興奮冷めやらぬ中、場所を生協に移し、懇親会（参加数 88名）が始まりました。まずは、ビールで喉を潤していただき、1時間ほどしてから、数名の方にスピーチをいただき、お待ちかねのポスター賞発表・授賞式を行いました。

2日目は、西田を世話人とするセッション2「最新の光合成研究と未来」から始まりました。高橋裕一郎先生からは「系1の構造と機能のダイナミクス」との演題で、古典的な放射性アミノ酸のトレーサー実験を手法としながら、クラミドモナスを実験材料にした、高感度ウェスタン分析法並びに高感度タンパク質複合体前駆体の検出技術を駆使した、まさにダイナミックな研究の成果をお話いただきました。高橋氏には、クラミドモナスの国際学会に出発する直前のお忙しい時間にご講演をいただき、たいへんありがとうございました。次に、古本 強先生には「C4回路で機能するナトリウム依存性ピルビン酸輸送機構の解明」と

の演題で、葉緑体に存在するピルビン酸輸送体について、研究の進展状況だけでなく、その着眼の経緯や研究の

途中で光合成学会の先達からいただいた温かいご指導や励ましのお言葉などのエピソードもふくめ、人間古本の一生（まだ若いよね！）を垣間見るようなおもしろいお話いただきました。古本先生には、多くの未発表データのご講演をお願いしました。現在、生物学分野の最高峰の雑誌に投稿、改訂中とのことなので、会員一同で、論文受理を祈念したいと思います。30分ほどのポスターViewingをはさみ、嶋田知生先生に「光合成組織による気孔密度の新たな調節機構」について講演をいただきました。嶋田先生は、分子遺伝学、分子発生学がご専門なので、光合成学会シンポジウム講演をお願いしたときに、「私でよいのでしょうか」とたいへん謙虚

なご回答をいただきましたが、「気孔が増えるしくみと聞いただけで、光合成研究者なら興味を持つはずですよ」と西田が勝手に思い、講演をお願いしました。この研究は、Nature誌にすでに報告されているので、ご存じの方も多かったと思いますが、気孔形成を促進するある種のペプチドを同定したこと、それが合成された細胞以外の細胞にはたらきかけ気孔形成を誘導することなど興味ある知見が満載していました。特に、葉の発生の初期の段階ですでに気孔の数が決定されているらしいというお話でしたが、植物が光合成器官を形成するときのように環境を検知し、発生プログラムを制御しているのかについてたいへん興味を

わきました。嶋田氏も、横浜で開催されたシロイヌナズナの国際会議に参加する直前のご講演だったので、お忙しい中、誠にありがとうございました。

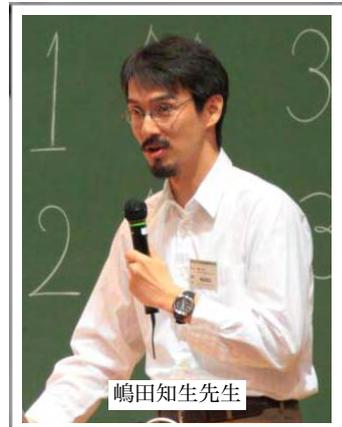
シンポジウム講演の後、ポスター賞受賞者に数分のミニ講演をしていただきました。その後、総会・総合討論を行い、無事閉会の運びとなりました。会員の皆様には、遠路シンポジウムにご参加いただいただけでなく、活発な質問・議論をしていただき、誠にありがとうございました。

シンポジウムの運営を裏方として支えてくださった池内研、和田研、佐藤研、増田研の学生・大学院生の皆様と、写真撮影をして下さった加藤 浩先生に、心から御礼申し上げます。

第一回光合成学会シンポジウムの世話人として、どれだけお役に立てたのかとても心配ですが、参加者の皆様が、少しでも「来て良かった」と、感じていただけたなら幸いです。また、今回、シンポジウムに参加できなかった会員の方には、是非、来年のシンポジウムにお越しいただけるようお願い申し上げます。



古本強先生



嶋田知生先生

報告記事

第1回日本光合成学会シンポジウムポスター賞受賞者

記念すべき第1回の日本光合成学会シンポジウムにおけるポスター賞は、複数の選考委員による厳正な採点の結果、以下の方々（五十音順）が受賞されました。受賞者の方々の研究については、順次、「光合成研究」において、紹介していく予定です。

小島 茜（東京理科大学 理学部）

*Acaryochloris marina*の光化学系IIの単離精製と性質

鈴木 博行（東京理科大学 理学部）

光合成酸素発生反応における各S状態遷移の効率：FTIR法による解析

関根 康介（東京大学 教養学部附属教養教育高度化機構）

*Cyanidioschyzon merolae*における亜硝酸を選択的に還元する新規変異型亜硫酸還元酵素

永田 衛男（名古屋工業大学 応用化学科）

光合成タンパク質-色素複合体のTiO₂電極上への組織化と光電流応答

成川 礼（東京大学 大学院総合文化研究科）

有用シアノバクテリア*Arthrospira (Spirulina) platensis* NIES-39のゲノム解析

間合 絵里（名古屋大学 大学院生命農学研究科）

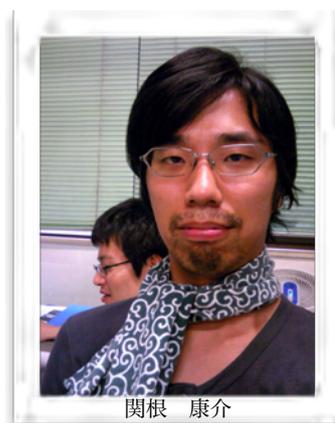
青色光とABAに応答したC4植物葉肉葉緑体の運動



小島 茜



鈴木 博行



関根 康介



永田 衛男



成川 礼



間合 絵里

報告記事

日本光合成学会「若手の会」活動報告ならびに 第3回セミナー開催のお知らせ

東京大学 大学院総合文化研究科
成川 礼

第2回セミナー報告

6月5日、第1回日本光合成学会シンポジウム後に開催した『若手の会第2回セミナー』には、ポスドク、学生を中心に30名以上の参加者がありました。短い時間のなか、光化学系・クロロフィル合成・化石・呼吸系と幅広い分野の6人の演者の方々にセミナーを行っていただきました。その後、参加者全員の自己紹介と研究紹介を行い、より一層議論を深めることができました。場所を移しての懇親会でも、研究やそれ以外の話題で話が尽きませんでした。渡部和幸さん（京都大学）に執筆いただいた参加報告記事もあわせてご覧ください。また、10月には『第3回セミナー』を、昨年開催した第1回セミナー同様、宿泊形式で開催する予定です。奮ってご参加くださいますよう、よろしくお願い致します。



第2回セミナーの集合写真

第3回セミナー 『みんなで光合成研究 その2（仮）』

光合成研究における生物材料や測定法、関連分野の最先端の研究について実際に実験を行っている若手研究者によるセミナーを行います。お互いの研究について情報交換、討論するために、参加者全員に発表（自己紹介、研究紹介）をしてもらいます。より深く議論する、参加者同士の交流を深めるための時間を長く設けるために、昨年好評でした宿泊研修形式で行います。若手の会セミナーが個別の研究へのフィードバックや新たな研究分野の開拓の場となることを期待しています。

日時： 2010年10月16～17日（2日間）

場所： 東京大学・本郷キャンパス

（宿泊、懇親会：「太栄館」キャンパスの近所です）

内容：

1日目：参加者全員の口頭発表（研究計画や自己紹介だけでも可）

（自己紹介：1分、研究内容：0、5、10、15分から選択）

2日目：

「光合成系における機能性生体分子の精密構造解析」

溝口 正先生（立命館大・生命科学部・応用化学科）

「クラミドモナスを用いた光合成研究（仮）」

大西 紀和先生（岡山大・院・自然科学）

他2～3名ほどの演者を検討中

参加費（宿泊・懇親会費込み）： 学生 ¥8,000- その他 ¥10,000-

問い合わせ・申し込み 成川礼（東京大 大学院総合文化研究科・助教）

Tel: 03-5454-4375, e-mail: narikawa@bio.c.u-tokyo.ac.jp

*詳細は決定次第随時HPに掲載していきます

若手の会ホームページURL: <http://sites.google.com/site/photosynwakate/wakate-no-kai-dai-san-kai-semina>

集会案内

第2回光合成学会若手の会セミナーに参加して

京都大学大学院人間 環境学研究科

渡部 和幸

平成22年6月5日に、東京大学駒場キャンパスにて第二回光合成学会若手の会セミナーが開催されました。この若手の会は、昨年設立されたばかりの新しい組織で、私もたいへん興味を持っていたのですが、今回初めてセミナーに参加させていただくことができました。前日から光合成学会公開シンポジウムが開催されていたので、私を含めて多くの方々がシンポジウムから引き続いての参加となりました。参加者は学生から准教授の方まで、その名のとおり若い人たちが中心でしたが、大ベテランの先生方も居られて自由な雰囲気の中にも適度な緊張感がありました。

セミナーでは、6演題の発表と参加者全員の自己紹介が行われました。研究発表は、光化学系・呼吸系や光合成色素などについて、光合成細菌、シアノバクテリア、藻類、高等植物などを対象とした、とてもバラエティーに富んだ内容で、あらためて光合成という

研究分野の広さと奥深さを感じました。また、参加した若い研究者同士での議論が活発に行われた点も印象的でした。今回、私が参加報告を執筆するにあたり、すべての発表について触れることはできませんが、筆者の研究に近い光化学系の発表について理解し得る範囲で簡単に紹介させていただきます。

渡辺麻衣さん（東京大学）は、光化学系I複合体の超分子構造について発表されました。光化学系I複合体は、シアノバクテリアでは三量体、高等植物、緑藻では単量体として存在することがよく知られていましたが、紅藻や灰色藻ではこれまで報告されていませんでした。紅藻、灰色藻より調製したチラコイド膜を可溶化したサンプルのBlue-native PAGEの結果から、これらの藻類では光化学系I複合体が多量体として存在していることが示唆されました。また、*Anabaena*では光化学系I複合体が三量体ではなく四量体を形成し

ているのではないかと示されました。シアノバクテリアの光化学系I複合体は三量体という固定観念があったのですが、もっと柔軟に考えた方がよいのではないかと感じました。

浅井智広さん (大阪大学)は、絶対嫌気性の光合成細菌である緑色硫黄細菌 *Chlorobium tepidum* の反応中心へのヒスチジンタグと部位特異的変異導入について発表されました。ホモダイマーである *Chl. tepidum* の反応中心タンパク質の片方のサブユニットに変異を導入するにあたり、相同組換えに関与する *recA* の領域に遺伝子破壊をかねて新たにコアタンパク遺伝子を導入するという「コアタンパク質遺伝子の偽二倍体化」という手法を構築されました。緑色硫黄細菌の反応中心は酸素に弱く解析が難しいのですが、本研究により今後の飛躍的な進展が期待されます。

伊福健太郎先生 (京都大学)は、緑色植物で存在が確認されている光化学系IIの表在性サブユニットであるPsbQと相同性を示すPQLの機能解析について発表されました。シロイヌナズナでの共発現データベースによる検索の結果、PQL1とPQL2が葉緑体のNDH複合体のサブユニットなどと共発現していることがわかりました。Blue-native PAGE および PQL1、PQL2 の

変異体を用いたクロロフィル蛍光によるNDH活性の測定などの結果より、PQL1、PQL2がNDH複合体のサブユニットであることが示されました。光化学系IIに関与するPsbQと相同性を示すタンパク質が光化学系ではなくNDH複合体の構成成分であるということは、これらPQLファミリータンパク質の進化を考えるうえで、たいへん興味深いことだと思います。

今回、本セミナーに参加して、光合成関連の研究に携わっておられる諸先輩方や同年代の方々のお話を聞くことができ、たいへん刺激を受け勉強になりました。私もこの会で研究成果を発表できるよう、日々研究を頑張っていきたいと思いました。また、セミナーの参加者の中では、修士2回生である私が最も若いのではないかと考えていたのですが、学部生の方も参加していました。このことは、本セミナーが若い人にとって魅力的であることを端的に示しているのではないかと思います。

最後になりましたが、セミナーを主催され、本稿を執筆する機会を与えてくださいました、会長の成川礼先生 (東京大学)ならびに幹事の皆さまにこの場を借りて御礼申し上げます。

集会案内

第2回日本光合成学会年会およびシンポジウム開催予告

来年の日本光合成学会年会およびシンポジウムは、平成23年6月3日(金)、4日(土)に京都大学で開催いたします。公開シンポジウムのテーマは「光合成生産」と「光合成の光エネルギー変換メカニズム(仮)」(オーガナイザー:太田啓之、野口巧)です。ポスター発表など、概要はおおむね例年通りです。皆様の多数のご参加をお待ちしています。

集会案内

第70回分子科学国際研究会 「光合成によるエネルギー変換機構の分子レベルでの解明と将来の展望」

本国際会議の目的は、光合成に関連するさまざまな分野の研究者が一堂に会してアイデアを交換する場を提供することです。各分野の最先端の熱い議論はもちろん歓迎しますが、自分の専門とは別の分野の議論にもぜひ参加していただきたく思います。この会議をきっかけにして、ベテランから新人まで幅広く交友を深め、光合成エネルギー変換に関する新しい研究コミュニティが作られて行くことを希望いたします。できるだけ多くの方々にご参加、ご発表いただき、活発なディスカッションができますようお願い申し上げます。

日時： 平成22年12月4日（土）～6日（月）

場所： 岡崎コンファレンスセンター（愛知県岡崎市明大寺町字伝馬8-1 名鉄東岡崎駅から徒歩10分）

内容： 招待講演（国外7名、国内14名）、口頭・ポスター発表（公募）

参加費および参加登録： 無料

懇親会： 平成22年12月5日（日）一般3,000円／ポスドクおよび学生1,000円（事前登録をお願いします）

事前登録と詳細は、以下のウェブサイトをご覧ください。各種フォーマットもダウンロードできます。

日本語URL：<http://www.cp.kyoto-u.ac.jp/Ishikita/okazaki2010/index-jp.htm>

英語URL：<http://www.cp.kyoto-u.ac.jp/Ishikita/okazaki2010/index.htm>

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）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。

★会員名簿管理方法の変更と会費納入のお願い

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。昨年度、長期滞納者を名簿から削除するの願いをしましたが、会費徴収状況は未だに健全な状態にはありません。そこでお願いです。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、今までどおり会費未納が印字されています。1年間会費を滞納された場合、次年度より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1年分もあわせてお支払いいただけます。2011年1月に名簿の変更を行いますので、複数年度の会費滞納者はおられなくなります。今年度は従来通りですので、現在、複数年度の滞納のある方は（封筒に未納年が印字されています）、今年度分まであわせてお支払いください。納められた会費は、古い未納年から順に充当いたしております。会費納入状況などにつきましては、ご遠慮なく事務局（shikanai@pmg.bot.kyoto-u.ac.jp）までお問い合わせください。会員の皆様のご理解とご協力をお願い申し上げます。

日本光合成学会会員入会申込書

平成 年 月 日

日本光合成学会御中

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

[]内に会員名簿上での公開承諾項目に○印をつけてください

[] 氏名（漢字）（必須）

氏名（ひらがな）

氏名（ローマ字）

[] 所属

[] 住所1

〒

[] 住所2（自宅の方または会誌送付先が所属と異なる場合にのみ記入）

〒

[] TEL1

[] TEL2（必要な方のみ記入）

[] FAX

[] E-mail

個人会員年会費 1,500円（会誌、研究会、ワークショップなどの案内を含む）

賛助法人会員年会費 50,000円（上記と会誌への広告料を含む）

（振込予定日：平成 年 月 日）（会員資格は1月1日～12月31日を単位とします）

*複数年分の会費を先払いで振り込むことも可能です。その場合、通信欄に（何年度～何年度分）とお書き下さい。

連絡先

〒153-8902 東京都目黒区駒場3-8-1

東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系

池内・成川研究室内 日本光合成学会

TEL: 03-5454-6641, FAX: 03-5454-4337

E-mail: photosyn@bio.c.u-tokyo.ac.jp

ホームページ: <http://photosyn.c.u-tokyo.ac.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

日本光合成学会会則

第1条 名称

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

第2条 目的

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

第3条 事業

本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催などの事業を行う。

第4条 会員

1. 定義

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

2. 権利

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

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。役員任期は2年とする。会長、常任幹事は連続して二期を越えて再任されない。事務局長は五期を越えて再任されない。会計監査は再任されない。

2. 幹事

幹事数名をおく。幹事任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

3. 常任幹事会

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

4. 幹事会

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

5. 事務局

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

6. 役員および幹事の選出

会長は会員の直接選挙により会員から選出される。事務局長、会計監査、常任幹事は会長が幹事の中から指名し、委嘱する。幹事は常任幹事会によって推薦され、幹事会で決定され

る。会員は幹事を常任幹事会に推薦することができる。

第6条 総会

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

第7条 会計

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

付則

- 第1 年会費は個人会員1,500円、賛助会員一口50,000円とする。
- 第2 本会則は、平成14年6月1日から施行する。
- 第3 本会則施行後第一期の会長、事務局長、常任幹事にはそれぞれ、第5条に定める規定にかかわらず、平成14年5月31日現在の会長、事務局担当幹事、幹事が再任する。本会則施行後第一期の役員および幹事の任期は、平成14年12月31日までとする。
- 第4 本会則の改正を平成21年6月1日から施行する。

日本光合成学会の運営に関する申し合わせ

1. 幹事会：

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

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

会長の引き継ぎを円滑に行うため、次期会長の選挙は任期の1年前に行う。
4. 常任幹事会：

常任幹事会の運営を円滑におこなうため、次期会長は常任幹事となる。

幹事会名簿

- 浅田浩二 福山大学生命工学部
池内昌彦 東京大学大学院総合文化研究科
池上 勇 帝京大学薬学部
泉井 桂 近畿大学生物理工学部生物工学科
伊藤 繁 名古屋大学大学院理学系研究科
井上和仁 神奈川大学理学部
臼田秀明 帝京大学医学部
榎並 勲 東京理科大学理学部
大岡宏造 大阪大学大学院理学研究科
大杉 立 東京大学大学院農学生命科学研究科
太田啓之 東京工業大学
バイオ研究基盤支援総合センター
大政謙次 東京大学大学院農学生命科学研究科
小川健一 岡山県生物科学総合研究所
小野高明 茨城大学工学部生体分子機能工学科
小俣達男 名古屋大学大学院生命農学研究科
垣谷俊昭 名城大学理工学部教養教育/
総合学術研究科
金井龍二 埼玉大学 (名誉教授)
小池裕幸 中央大学理工学部
小林正美 筑波大学大学院数理物質科学研究科
坂本 亘 岡山大学資源生物科学研究所
櫻井英博 早稲田大学 (名誉教授)
佐藤和彦 兵庫県立大学大学院生命理学研究科
佐藤公行 岡山大学 (名誉教授)
佐藤直樹 東京大学大学院総合文化研究科
佐藤文彦 京都大学大学院生命科学研究科
鹿内利治 京都大学大学院理学研究科
重岡 成 近畿大学農学部
島崎研一郎 九州大学大学院理学研究院
嶋田敬三 首都大学東京都市教養学部
沈 建仁 岡山大学大学院自然科学研究科
杉浦昌弘 名古屋市立大学
大学院システム自然科学研究科
杉田 護 名古屋大学遺伝子実験施設
杉山達夫 中部大学生命健康科学研究所
- 鈴木祥弘 神奈川大学理学部
園池公毅 東京大学大学院新領域創成科学研究科
高市真一 日本医科大学生物学教室
高橋裕一郎 岡山大学大学院自然科学研究科
田中 歩 北海道大学低温科学研究所
都筑幹夫 東京薬科大学生命科学部
寺島一郎 東京大学大学院理学系研究科
徳富(宮尾)光恵 農業生物資源研究所
光合成研究チーム
南後 守 名古屋工業大学応用化学科
西田生郎 埼玉大学大学院理工学研究科
野口 巧 筑波大学大学院数理物質科学研究科
長谷俊治 大阪大学蛋白質研究所
林 秀則 愛媛大学
無細胞生命科学工学研究センター
原登志彦 北海道大学低温科学研究所
彦坂幸毅 東北大学大学院生命科学研究科
久堀 徹 東京工業大学資源化学研究所
檜山哲夫 埼玉大学理学部 (名誉教授)
福澤秀哉 京都大学大学院生命科学研究科
藤田祐一 名古屋大学大学院生命農学研究科
前 忠彦 東北大学大学院農学研究科
牧野 周 東北大学大学院農学研究科
増田 建 東京大学大学院総合文化研究科
松浦克美 首都大学東京都市教養学部
三室 守 京都大学大学院地球環境学堂
宮地重遠 海洋バイオテクノロジー研究所
村田紀夫 基礎生物学研究所
山本 泰 岡山大学大学院自然科学研究科
山谷知行 東北大学大学院農学研究科
横田明穂 奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科
和田 元 東京大学大学院総合文化研究科

編集後記

日本光合成学会は、学会としての記念すべき第1回のシンポジウムを、6月4日、5日に東京大学駒場キャンパスで開催しました。今後、学会として研究を発展していくことは勿論、社会への発信、若手の育成などにもますます力を注いでいく事が求められていきます。また”光合成”という横断的な研究分野を包括するため、幅広く学会員を増やしていく取り組みもますます大事になっていきます。このような意味で、若手の会の活発な活動は心強い限りですし、この「光合成研究」の内容を充実させる取り組みが重要だと考えています。今号では、Guest Editor を首都大学東京の永島賢治先生にお願いし、解説特集「光合成細菌 —研究材料としての魅力—」を企画して頂きました。この企画は首都大学東京の嶋田敬三先生が退職されるのを機会にお願いしたものです。原核光合成細菌は光化学系複合体の立体構造解明や光合成色素遺伝子の同定・進化など、多くの局面で重要な役割を果たしてきました。今回の特集は、光合成細菌の実験材料としての有用性を改めて証明するものだと考えていますが、皆様の感想は如何だったでしょうか。「光合成研究」は学会員のための会誌です。会員の皆様からの積極的な記事の投稿をお待ちするとともに、内容についてのご意見などもお聞かせください。この号を編集している現在（7月末）、連日35°C以上の酷暑日が続き、さすがに夏バテ気味です。皆様も体調には気をつけて、研究に勉学にご精進ください。

＜東京大学 増田 建＞

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、博士研究員の方々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。
- 求人：博士研究員、専門技術員等の募集記事。
- 新刊図書：光合成関係、または会員が執筆・編集した新刊図書の紹介。書評も歓迎いたします。

記事の掲載を希望される方は、会誌編集担当、増田 (ctmasuda@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp) まで御連絡下さい。

「光合成研究」編集委員会

編集担当 増田 建 (東京大学)
発行担当 和田 元 (東京大学)
編集委員 栗栖源嗣 (大阪大学)
編集委員 野口 航 (東京大学)
編集委員 増田真二 (東京工業大学)

日本光合成学会 2009-2010年役員

会長 池内昌彦 (東京大学)

事務局 鹿内利治 (京都大学)

常任幹事 沈 建仁 (岡山大学) (日本光生物学協会)
常任幹事 和田 元 (東京大学) (会誌担当)
常任幹事 増田 建 (東京大学) (会誌担当)
常任幹事 佐藤直樹 (東京大学) (ホームページ担当)
常任幹事 寺島一郎 (東京大学) (企画担当)
常任幹事 高市真一 (日本医科大学) (企画担当)
常任幹事 小川健一 (岡山県生物科学総合研究所) (企画担当)
常任幹事 西田生郎 (埼玉大学) (企画担当)
常任幹事 小林正美 (筑波大学) (企画担当)
常任幹事 原登志彦 (北海道大学) (企画担当)
常任幹事 牧野 周 (東北大学) (企画担当)
常任幹事 伊藤 繁 (名古屋大学 名誉教授) (企画担当)
常任幹事 太田啓之 (東京工業大学) (企画担当)

会計監査 小池裕幸 (中央大学)

光合成研究 第20巻 第2号 (通巻58号) 2010年8月31日発行

日 本 光 合 成 学 会

〒153-8902 東京都目黒区駒場3-8-1

東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 生命環境科学系

池内・成川研究室内 日本光合成学会

TEL: 03-5454-6641, FAX: 03-5454-4337

E-mail: photosyn@bio.c.u-tokyo.ac.jp

ホームページ: <http://photosyn.c.u-tokyo.ac.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