

# 光合成研究

第 26 卷 第 2 号 (通巻 76 号) 2016 年 8 月  
NEWS LETTER Vol. 26 NO. 2 August 2016

THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

---

研究紹介	レドックスネットワークによる葉緑体の機能調節：新たに見えてきた分子基盤・ダイナミクス・重要性	吉田 啓亮 久堀 徹 (東京工業大)	86
解説	変動光に対する光合成電子伝達系の応答：PSI の光阻害と防御のメカニズム	河野 優 寺島 一郎 (東京大)	95
解説	色素体細胞内共生説の源流：メレシコフスキー論文の紹介と再評価	佐藤 直樹 (東京大)	106
解説特集	「光合成生物が有する光受容体」		119
序文		成川 礼 (静岡大) 岡島 公司 (慶応大)	120
解説	光合成生物における開環テトラピロール結合型光受容体	成川 礼 (静岡大)	122
解説	フラビン結合型光受容体の多様な光反応とシグナル伝達機構	岡島 公司 (慶応大)	138
解説	微生物型ロドプシンの多様な機能	吉澤 晋 (東京大)	149
報告記事	第 7 回 日本光合成学会 (年会・公開シンポジウム) 開催報告	柏山 祐一郎 (福井工業大) 鞆 達也 (東京理科大)	155
報告記事	International Meeting “Photosynthesis Research for Sustainability-2016”に参加して	遠藤 嘉一郎 (東京大)	157
報告記事	Satellite Meeting on Photosynthesis 開催報告	高橋 裕一郎 (岡山大)	158
報告記事	若手の会活動報告～サイエンスアゴラ 2016 の出展企画、若手科学者ネットワークへの参画～	浅井 智広 (立命館大)	159
事務局からのお知らせ			160
日本光合成学会会員入会申込書			161
日本光合成学会会則			162
幹事会名簿			164
編集後記・記事募集			165
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2016 年度役員			166
賛助法人会員広告			

---

## 研究紹介

レドックスネットワークによる葉緑体の機能調節：  
新たに見えてきた分子基盤・ダイナミクス・重要性<sup>§</sup>

東京工業大学 化学生命科学研究所

吉田 啓亮\* 久堀 徹

植物は、絶えず変動する外的環境に自身の生理機能を適合させるために、酸化還元（レドックス）反応を基盤とした機能制御システムを獲得してきた。葉緑体では、このシステムが光照射シグナルを伝達するという役割を果たすことにより、光環境の変化に応じた葉緑体の機能調節を可能にしている。そのための反応経路として、電子伝達系からチオレドキシンを介して一部の標的酵素へと至る単純な還元力カスケードが古くから知られてきた。ところが、ゲノミクス・プロテオミクス研究の進展にともない、どうやらこの制御システムは、驚くほど多種多様な還元力伝達因子群と標的酵素群によって構成されているらしいということが見えてきたのである。“レドックスネットワーク”は、どのように葉緑体内で組織化され、どのように環境変動に対して応答し、そして植物の生存戦略においてどのような重要性を持っているのだろうか。本稿では、葉緑体レドックスネットワークの反応分子基盤・環境応答ダイナミクス・生理意義について、最近の研究からわかってきた新たな知見を概説する。

## 1. はじめに

光合成反応は、葉緑体チラコイド膜の電子伝達系によって光エネルギーを化学エネルギー（ATP と NADPH）に変換する過程と、葉緑体ストロマの炭素固定系（カルビン・ベンソン回路）によって CO<sub>2</sub> を固定し炭水化物を生産する過程に大別できる。後者の過程は、電子伝達系で合成された ATP と NADPH を必要とするが、酵素反応自体は直接的には光エネルギーを必要としない。そのため、かつては光合成の“暗反応”と呼ばれ、明反応と呼ばれた電子伝達系と明確に区別されていた。しかし、実際には炭素固定系は光条件から独立しているわけではない。カルビン・ベンソン回路のいくつかの酵素は、光照射にともなうストロマ pH の上昇や Mg<sup>2+</sup>濃度の増加により活性化されることが知られている<sup>1)</sup>。そして、電子伝達系の駆動で得られる還元力を“光照射シグナル”として用いることにより、明暗に応じて巧

みに炭素固定系の活性調節を行うメカニズムも存在する。それが、本記事で解説する酸化還元（レドックス）制御である。

レドックス制御とは、“酸化還元状態に応じて標的酵素のチオール基の状態（代表的なものとしてはジスルフィド結合の形成解離）を制御することにより、その酵素活性を調節するメカニズム”である（酸化還元状態の変化に応じた遺伝子の発現調節を指す場合もあるが、本稿では触れない）。レドックス制御において鍵となる働きを果たしているのが、チオレドキシ（Trx）という分子量約 12,000 の小さな還元力伝達因子タンパク質であり、すべての生物が普遍的に持っている。Trx は、WCGPC のアミノ酸配列からなる活性部位に保存されている一対のシステイン（Cys）ペアを用いて、標的酵素との間でジチオール/ジスルフィド交換反応を行うことで還元力を伝達する。葉緑体のレドックス制御の場合は、図 1A に示すように、Trx を介した単純なシステムによって機能しているものと認識されてきた。電子伝達系成分であるフェレドキシ（Fd）を起点とし、フェレドキシ-Trx 還元酵素（FTR）と Trx を経由し

<sup>§</sup>第 6 回日本光合成学会シンポジウム ポスター発表賞受賞論文

\*連絡先 E-mail: yoshida.k.ao@m.titech.ac.jp

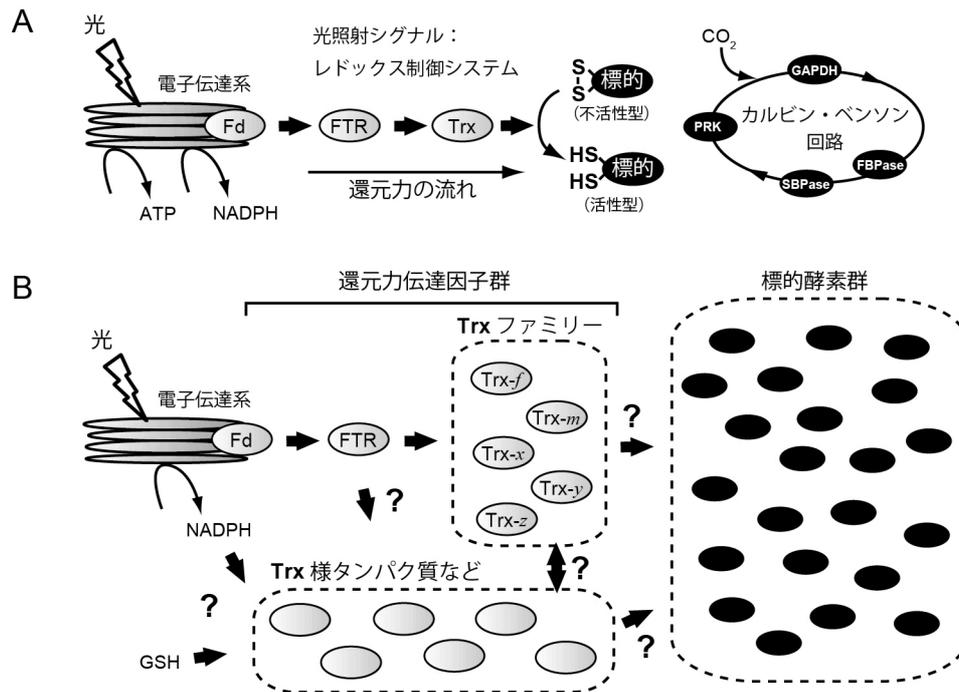


図 1. 葉緑体のレドックス制御システムの模式図

(A) 以前から知られていた単純なレドックス制御システム。電子伝達系成分であるフェレドキシン (Fd) を起点として、フェレドキシン-チオレドキシ還元酵素 (FTR) とチオレドキシ (Trx) を経由し、標的酵素へと至る一本道の還元力カスケードにより、還元力が光照射シグナルとして伝達される。カルビン・ベンソン回路を構成する 4 つの酵素をはじめ、一部の葉緑体酵素が標的として知られていた。FBPase, fructose-1,6-bisphosphatase; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; PRK, phosphoribulokinase; SBPase, sedoheptulose-1,7-bisphosphatase. (B) 新たに見えてきたレドックスネットワーク。様々な還元力伝達因子 (Trx ファミリーや Trx 様タンパク質など) と標的酵素によって構成されている。還元力経路をネットワーク状に高度に組織化することによって、葉緑体機能の柔軟かつ精密な調節を可能にしていると考えられるが、その反応分子基盤・環境応答ダイナミクス・生理意義の多くが未解明のままにされている。

て一部の標的酵素へと至る一本道の還元力カスケードが、1970 年代に Bob Buchanan 博士らが提唱して以来、30 年以上にわたって受け入れられている古典的なシステム基盤である<sup>1,2)</sup>。実際に、手元の植物生理学あるいは生化学の教科書を開いてみると、光合成の該当する項にはこの経路の記述しかない。ところが、2000 年代に入ると植物ゲノム研究が急速に進んだ。それに伴い、葉緑体内でレドックス制御に関与する (可能性のある) 還元力伝達因子は、従来知られていた FTR や Trx だけにとどまらず、驚くべき多様性を獲得していることが見えてきたのである<sup>3-5)</sup>。さらにほぼ同時期に、Trx 標的タンパク質のスクリーニング法が考案された<sup>6-8)</sup>。そして、プロテオミクス技術の目覚ましい進歩にも後押しされて、実に多岐にわたる葉緑体機能がレドックス制御下にあるこ

とがわかってきたのである<sup>9,10)</sup>。飛躍的に蓄積した葉緑体レドックス制御システムの分子カタログ情報は、制御経路をネットワーク状に複雑に分岐させることで、葉緑体機能の柔軟かつ精密な調節を達成している可能性を示唆している (図 1B)。

しかしながら、その制御ネットワークの連携機構、環境応答、重要性に関しては、大部分が未解明な問いとして残されている。葉緑体という舞台上に出揃ったレドックスネットワークの役者候補たち一彼らはそれぞれの役割をどのように演じるのだろうか。そして彼らが紡ぐシナリオは植物が生きる上でどのような意味を持つのだろうか。葉緑体レドックスネットワークの知られざる実態の解明を目指した私たちの最近の研究について、今後の展望も交えながら紹介する。

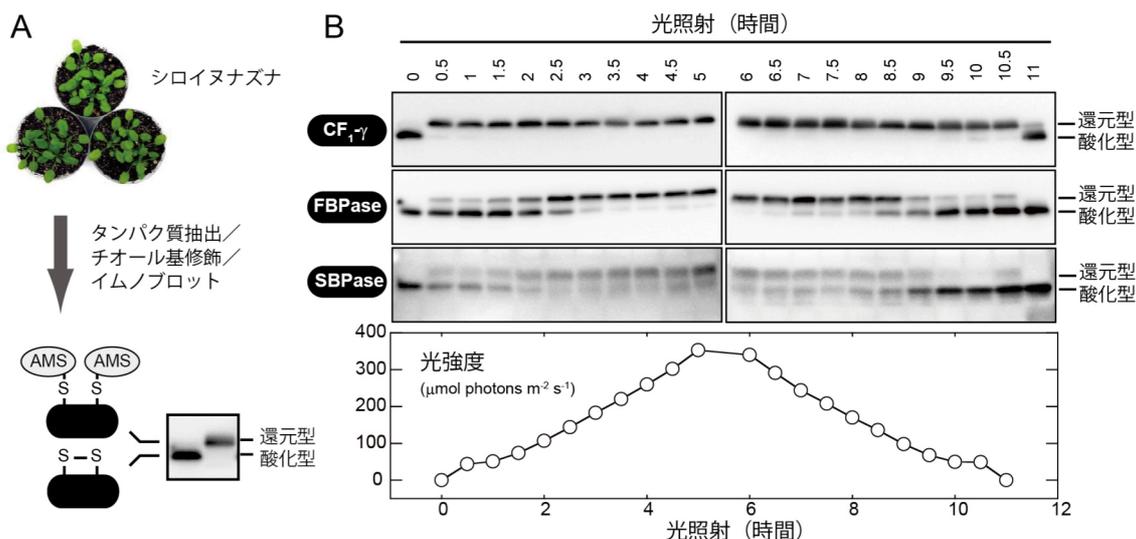


図 2. 葉緑体タンパク質のレドックスダイナミクス。Yoshida et al. (2014)<sup>17)</sup>より改変

(A) タンパク質の生体内レドックス状態の可視化。全抽出タンパク質のチオール基をマレイミド試薬である 4-acetamide-4'-maleimidylstilbene-2,2'-disulfonate (AMS; 分子量 536.44) で修飾し、イムノプロットによって目的タンパク質の生体内レドックス状態を可視化する。(B) 光環境の変化に伴うレドックス制御の標的タンパク質のレドックス応答。シロイヌナズナを、光強度を徐々に変化させた人工気象器内に置き、その間経時的に目的タンパク質の生体内レドックス状態を分析した。

## 2. 環境変動下でのレドックス制御ダイナミクス

葉緑体のレドックス制御システムは、環境の変化に対してどのように応答するのだろうか。“光照射による電子伝達系の駆動と連動して葉緑体の機能調節を行っている”という教科書通りの記述が正しいのであれば、昼間に働いて夜は休んでいるはずだと容易に想像できるであろう。ところが、私たちが研究を進めるにあたってレドックス研究の歴史を紐解いてゆくと、このシステムが植物の中で機能していることを示した研究が意外なくらいに見当たらないことに気が付いた。今日の葉緑体レドックス制御の基本概念は、もともと知られていた光依存的な活性化を受ける酵素が、試験管内での FTR/Trx 再構成系によって活性化されたという画期的発見<sup>11-13)</sup>を礎としているが、そこから理にかなう生体内イベントを想像して組み上げられた部分もあるように感じられる。無傷葉緑体レベルで *in vivo* のシステムの動態解析を試みた研究はわずかにあるもの<sup>14,15)</sup>、レドックス研究はこれまで主に生化学的、構造生物学的な解析によって先導されてきた。そのようなア

プローチからは、システムが生きた植物体内で刻一刻と変化する環境に対してどのような応答を示すのかについての回答を得ることはできない。

私たちは、生体内のタンパク質のレドックス状態を高感度に可視化する手法を確立し、一日の光変動下でのレドックスダイナミクスを追跡する実験を行った (図 2)<sup>16,17)</sup>。その結果、ATP 合成酵素の CF<sub>1</sub>-γ サブユニットやカルビン・ベンソン回路の fructose-1,6-bisphosphatase (FBPase) や sedoheptulose-1,7-bisphosphatase (SBPase) など、よく知られた Trx 標的タンパク質が光照射に応じて劇的にレドックス状態を変化させていることがわかった。DCMU のような電子伝達阻害剤を処理したときには、そのような応答は著しく抑制されるので、確かにレドックス制御システムは電子伝達系と共役しているらしい<sup>17)</sup>。興味深い発見は、レドックス応答は標的タンパク質間で一様ではなかったことである。例えば、CF<sub>1</sub>-γ は弱い光強度でも速やかに還元されたのに対し、FBPase や SBPase は光強度の上昇・低下に伴ってゆっくりと還元・再酸化された (図 2B)。この後の研究で、Trx の標的であるにも関わらず、生体内ではまったく光に対するレドックス応答を示さない

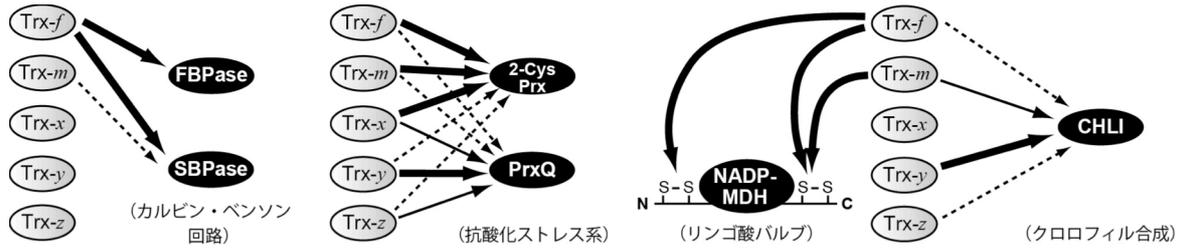


図 3. Trx ファミリーの機能多様性

5つの Trx サブタイプは、各標的タンパク質に対して異なる還元力伝達効率を持つ。Yoshida et al. (2015)<sup>23)</sup>, Yoshida and Hisabori (2016)<sup>40)</sup>の結果をもとに、還元力伝達効率の違いを矢印の種類で示した (高効率: 太い実線、中効率: 細い実線、低効率: 破線)。括弧内に各標的タンパク質が関与する生理機能を記した。CHLI, Mg-chelatase I subunit.

タンパク質もあることがわかった。これらの結果は、システムの駆動を植物体レベルで実証するものであると同時に、還元力の伝達過程は従来のモデルのような単純なものではないという仮説を支持している。

### 3. ネットワークの分子基盤: 5つの Trx サブタイプの機能多様性

このようなレドックスダイナミクスは、どのような分子間ネットワークによって支えられているのだろうか。前述したように、植物ゲノム情報の蓄積によって、様々な還元力伝達因子の存在が明らかになってきた。例えば、ひとくちに Trx といっても 1 種類ではなく、古くから知られていた *f* 型、*m* 型に加え、*x* 型、*y* 型、*z* 型という計 5 つものサブタイプが葉緑体の中に局在しているらしい<sup>3,5)</sup>。では、それらはどのように使い分けが行われているのだろうか。名前の由来となっており、*f* 型はカルビン・ベンソン回路の酵素である FBPase を、*m* 型はリンゴ酸バルブによる還元力排出に機能する NADP-malate dehydrogenase (NADP-MDH) を還元・活性化することが知られていた<sup>18,19)</sup>。また、新たに見つかった *x* 型や *y* 型は、2-Cys peroxiredoxin (2-Cys Prx), peroxiredoxin Q (PrxQ), methionine sulfoxide reductase (MSR) といった抗酸化ストレス系に関与する酵素に効率よく還元力を渡すと報告されている<sup>20-22)</sup>。しかし、ほとんどの場合、根拠が該当する標的タンパク質の活性測定データのみに依存している。そのせいか、研究グループによって主張が異なる部分があり、Trx ファミリーの

機能多様性に関する統一的な見解は得られていなかった。

私たちは、標的タンパク質のレドックス状態シフトを直接的に観測し、活性測定や質量分析の結果と統合することで、より詳細に Trx ファミリーの標的選択性の違いを解明しようと試みた<sup>23)</sup>。また、この研究では、私たちの研究室で独自に開発した DNA-maleimide という新たなチオール基修飾試薬<sup>24)</sup>を実験系に導入した。そして、先行研究で示唆されていた Trx 標的選択性の強力な裏付け、新規の還元力ベクトルの向き・太さの記述とともに、興味深いレドックス制御の側面を暴き出すことができた (図 3)。標的タンパク質の 1 つである NADP-MDH は、N 末端と C 末端に 1 つずつ制御を受けるジスルフィド結合を持つ<sup>25)</sup>。この 2 つのジスルフィド結合は、同一ポリペプチド内に収まっているにも関わらず、還元を用いるための Trx の選り好みが多様であった (図 3)。私たちの知る限り、このような制御様式は全ての生物種のレドックス制御を通して NADP-MDH に限定されている。それは、NADP-MDH による葉緑体からの還元力の排出を、環境に応じてより精密にコントロールするのに役立つのかもしれない。

Trx サブタイプ間の異なる標的選択性は何に起因しているのだろうか。最も可能性の高い要因として、Trx の表面電荷の違い、そしてそれにより生じる標的とのタンパク質-タンパク質間静電的相互作用の違いが挙げられる。Trx 側、もしくは標的タンパク質側の荷電性アミノ酸の部位特異的変異によって、レドックス制御の効率が変化

するという実験結果は、この仮説を支持している<sup>26-29</sup>。今後、例えば Trx と標的タンパク質の複合体の立体構造解析などによって、Trx の標的選択性を規定する仕組みを直接的に見ることが必要である。

#### 4. NTRC : 独特のレドックス制御能を持つ新規のタンパク質

葉緑体内には、FTR や5つの Trx サブタイプだけでなく、他の還元力伝達因子(候補)も存在する。それらは、Trx に保存された活性部位(WCGPC)と似ていながらも一風変わった配列を持っていたり、さらに Trx にはない特徴を付加的に持っていたりする。そのようなタンパク質のうち、酸化ストレス条件下で発現が大きく誘導され、抗酸化ストレス系に還元力を供給する CDSP32 (chloroplatic drought-induced stress protein of 32 kDa から命名)<sup>30,31</sup>や、ルーメン側に Trx 様の活性部位モチーフを持つチラコイド膜アンカー型の HCF164 (high chlorophyll fluorescence 変異株の原因遺伝子から命名)<sup>32</sup>は、比較的解析が行われている例と言えよう。とはいえ、これらの“Trx 様タンパク質”のほとんどは、反応機構や生理的役割が未解明であり、さらなる研究が必要である。

新しく見つかった葉緑体の還元力伝達因子のうち、最近注目を浴びているのが NTRC というタンパク質である。NTRC は、NADPH-Trx reductase C の略称で、Serrato らがイネゲノムのデータベースからその遺伝子を発見してきたことに端を発する<sup>33</sup>。そのアミノ酸配列は明らかに風変わり、サイトゾルやミトコンドリアに局在している(いわばオーソドックスな) NADPH-Trx 還元酵素のカルボキシル基末端側に、Trx 類似のドメインが直列に連結したハイブリッド構造をとっているのである(図4)。これまでの組換え体タンパク質を用いた生化学研究により、NADPH 依存的な還元力伝達の触媒メカニズム等がある程度わかってきた<sup>34,35</sup>。また、シロイヌナズナの NTRC 欠損変異株はペールグリーン葉の表現型を示すことから、植物にとって何らかの重要な機能を果たしていることが垣間見える<sup>33,36</sup>。

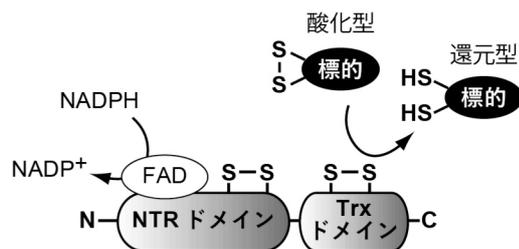


図4. NTRC の分子構造と反応の模式図

タンパク質のアミノ基(N)末端側に NADPH-Trx 還元酵素(NTR)ドメイン、カルボキシル基(C)末端側に Trx ドメインを持つ。NTR ドメインに結合した FAD が NADPH から還元力を受け取り、NTR ドメインと Trx ドメインがそれぞれ持っているシステインペアを介して、標的タンパク質に還元力が伝達される。

しかしながら、その生体内での役割の詳細は、謎に包まれたままにされていた。

その解明のための糸口となるのが、NTRC が標的としているタンパク質の情報であろう。これまでの研究で、抗酸化ストレス系の 2-Cys Prx<sup>36</sup>、デンプン合成経路上の ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase)<sup>37</sup>、クロロフィル合成に関わるいくつかの酵素(Mg-chelatase など)<sup>38,39</sup>が NTRC の標的タンパク質として報告されている。ところが、これらは既に Trx の標的としても報告されているため、NTRC の特定の働きを考察するにはどうしても根拠として弱かった。そこで私たちは、アフィニティークロマトグラフィーをベースとした NTRC の標的タンパク質のスクリーニングを行った<sup>40</sup>。この手法で NTRC の標的を捕捉した前例はないので、NTRC 特異的な標的タンパク質が新しく見つかるのではないかと期待していた。ところが、同定した NTRC 標的は、一部例外を除いては(後述)、Trx 標的として既に報告のあったものばかりであったため、当初は多少がっかりした。しかしある時、NTRC 標的タンパク質の SDS-PAGE の泳動像を眺めていたら、ふと気が付いた。以前の論文に載っている Trx 標的のものとは比べて、全体的にバンドが少ないながらも、その中に相対的にバンド強度が強いタンパク質があるように見えたのである。もちろん実験手順が同一ではないので、直接的な比較はできな

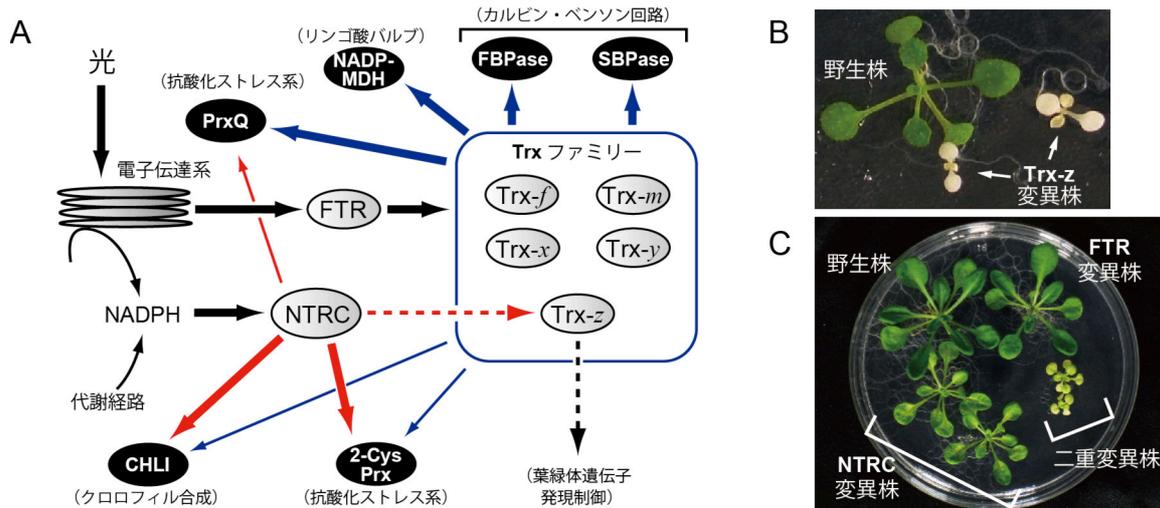


図 5 FTR/Trx 経路と NTRC 経路は異なるレドックス制御能を持ち、協調的に葉緑体の機能調節と植物の生長を支える。Yoshida and Hisabori (2016)<sup>40</sup>より改変

(A) Trx ファミリー (青矢印) と NTRC (赤矢印) の異なる標的選択性。還元力伝達効率の違いを矢印の太さで示した。また、z 型 Trx が関与する還元力伝達を破線で示した。括弧内に各標的タンパク質が関与する生理機能を記した。(B) シロイヌナズナの z 型 Trx 変異株の表現型。(C) シロイヌナズナの FTR 変異株、NTRC 変異株、および二重変異株の表現型。

い。この可能性を検証するために、NTRC と f 型 Trx (Trx ファミリーの代表として) を等量ずつ固定したアフィニティーカラムを作成し、そこに等量の葉緑体タンパク質を流し込んで、それぞれに捕捉された標的タンパク質のプロファイルを比較した。その結果、標的タンパク質によって NTRC と f 型 Trx に対する結合量が異なることを見出したのである。つまり、NTRC と f 型 Trx が標的とするタンパク質は同じであっても、それに対する親和性は両者で異なっていたのだ。

さらに、NTRC に高い親和性を示した標的タンパク質に対して、NTRC と 5 つの Trx サブタイプからの還元力伝達効率を、様々な条件下で丁寧に比較した。予想通り、そのようなタンパク質に対しては、NTRC は Trx ファミリーよりも高効率で還元力伝達を成し遂げていた。NTRC が持つレドックス制御能を包括的かつ詳細に解明し、そして Trx ファミリーとの違いが明確に見えてきたのである (図 5A)<sup>40</sup>。

この研究で、私たちはもう 1 つ NTRC の新たな特徴を発見した。上記の標的スクリーニングと還元力伝達解析のどちらの実験においても、NTRC は 5 つの Trx サブタイプのうち z 型と特異的に相互作用していたのである (図 5A)。酸化還

元電位の観点からも、NTRC と z 型 Trx の特異的な相互作用は支持された。興味深いことに、z 型 Trx は葉緑体の遺伝子発現を制御し、その欠損はアルビノの表現型につながるということがわかっていった (図 5B)<sup>41</sup>。すなわち、私たちの発見は、NADPH/NTRC/z 型 Trx という還元力カスケードが、葉緑体遺伝子発現のレドックススイッチとして機能することを暗示している。この仮説は、今後、より体系的な実験によって検証する必要がある。

### 5. FTR/Trx 経路と NTRC 経路による協調的レドックス制御の重要性

NTRC が持つレドックス制御の特徴は、植物が生きていく上でどのように重要なのだろうか。私たちは、既に報告があった NTRC の欠損変異株に加えて、フェレドキシンから Trx ファミリーへ還元力を運ぶ唯一の因子である FTR の発現抑制変異株、そして FTR と NTRC の二重変異株を用いた逆遺伝学的な解析を行った (図 5C)。FTR 単独の変異株では、FTR (ヘテロ二量体のうち触媒サブユニット) のタンパク質蓄積レベルが野生株の 20%程度にまで減少しているにもかかわらず、強い表現型は観測されなかった。ところが、さらに

NTRC を欠損することによって、極めて顕著な生育阻害が起こったのである。FTR と NTRC の二重変異株では、独立栄養条件ではもはや生存することすらできない。MS 培地にショ糖を添加した場合にのみかろうじて生存できるが、その生長は劇的に抑制された。また、二重変異株の光合成システムは全般的に機能不全に陥っていた。以上の生化学・生理学のすべての結果を統合することで、FTR/Trx 経路と NTRC 経路が異なるレドックス制御能を協調的に働かせることが、光合成をはじめとする葉緑体の機能調節そして植物の生育に必須であるという、葉緑体レドックス制御システムの新しいパラダイムを打ち出すことができた<sup>40)</sup>。

フェレドキシンを起点とする FTR/Trx 経路とは異なり、NTRC 経路は NADPH を還元力のソースとして用いる。NADPH は酸化了的ペントースリン酸経路のような代謝経路によっても生産されるので、NTRC は電子伝達系の駆動がなくても働くことが可能である。NTRC の“電子伝達系に依存しない”という特徴は、電子伝達系がまだ構築途中の段階にある葉緑体分化の過程において重要であるのかもしれない。もしそうであるならば、NTRC がクロロフィル合成に関わる Mg-chelatase や葉緑体遺伝子発現に関わる  $\alpha$  型 Trx に対して高い制御効率を持っていることは合理的に見える。今後、より生理学的な視点からシステムを捉え直すことで、両経路の機能ダイナミクスやその相互作用をさらに探っていくことが重要である。

## 6. おわりに

葉緑体のレドックスネットワークは、従来のモデルよりもはるかに複雑であり、植物を取りまく環境変動に対して柔軟に応答し、植物のバイオマス生産に深く関与していることが徐々に明らかになってきた。これらの知見は、植物が備えている環境応答戦略の一端を新しく提示するものと言えるだろう。とはいえ、葉緑体レドックスネットワークの反応分子基盤・環境応答ダイナミクス・生理意義のすべての面において、まだまだ全貌解明からはほど遠いと言わざるを得ない。ゲノミクス・プロテオミクスによって得られた多彩な

構成因子を考慮すれば、このシステムは葉緑体のあらゆる機能を制御するマスターレギュレーターとしての潜在能力を持っていても不思議ではないように思える。研究の進捗によって出会うであろうシステムの新しい側面の数々、それらのピースが組み合わさって浮かび上がってくるネットワーク全体の姿やふるまい、そして私たちが知らなかった植物の崇高な生き様の片鱗を目の当たりにしたとき、どのような驚きや興奮を与えてくれるのだろうか。その瞬間を訪れるのを楽しみにしながら、もうしばらくこの未知なる可能性を秘めたシステムと向き合ってみよう。

## 謝辞

本稿執筆の機会を与えてくださった日本光合成学会ならびに編集委員の方々に御礼申し上げます。

*Received June 30, 2016; Accepted July 11, 2016; Published August 31, 2016*

## 参考文献

1. Buchanan, B.B. (1980) Role of light in the regulation of chloroplast enzymes. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 31, 341–374.
2. Buchanan, B.B. and Balmer, Y. (2005) Redox regulation: a broadening horizon. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56, 187–220.
3. Lemaire, S.D., Michelet, L., Zaffagnini, M., Massot, V. and Issakidis-Bourguet, E. (2007) Thioredoxins in chloroplasts. *Curr. Genet.* 51, 343–365.
4. Meyer, Y., Siala, W., Bashandy, T., Riondet, C., Vignols, F. and Reichheld, J.P. (2008) Glutaredoxins and thioredoxins in plants. *Biochim. Biophys. Acta* 1783, 589–600.
5. Serrato, A.J., Fernandez-Trijueque, J., Barajas-Lopez, J.D., Chueca, A. and Sahrawy, M. (2013) Plastid thioredoxins: a "one-for-all" redox-signaling system in plants. *Front. Plant Sci.* 4, 463.
6. Motohashi, K., Kondoh, A., Stumpp, M.T. and Hisabori, T. (2001) Comprehensive survey of proteins targeted by chloroplast thioredoxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 11224–11229.
7. Yano, H., Wong, J.H., Lee, Y.M., Cho, M.J. and Buchanan, B.B. (2001) A strategy for the

- identification of proteins targeted by thioredoxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 4794–4799.
8. Balmer, Y., Koller, A., del Val, G., Manieri, W., Schurmann, P. and Buchanan, B.B. (2003) Proteomics gives insight into the regulatory function of chloroplast thioredoxins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 370–375.
  9. Hisabori, T., Motohashi, K., Hosoya-Matsuda, N., Ueoka-Nakanishi, H. and Romano, P.G.N. (2007) Towards a functional dissection of thioredoxin networks in plant cells. *Photochem. Photobiol.* 83, 145–151.
  10. Montrichard, F., Alkhalfioui, F., Yano, H., Vensel, W.H., Hurkman, W.J. and Buchanan, B.B. (2009) Thioredoxin targets in plants: the first 30 years. *J. Proteomics* 72, 452–474.
  11. Buchanan, B.B. and Wolosiuk, R.A. (1976) Photosynthetic regulatory protein found in animal and bacterial cells. *Nature* 264, 669–670.
  12. Schurmann, P., Wolosiuk, R.A., Breazeale, V.D. and Buchanan, B.B. (1976) Two proteins function in regulation of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation in chloroplasts. *Nature* 263, 257–258.
  13. Wolosiuk, R.A. and Buchanan, B.B. (1977) Thioredoxin and glutathione regulate photosynthesis in chloroplasts. *Nature* 266, 565–567.
  14. Scheibe, R. (1981) Thioredoxin<sub>m</sub> in pea chloroplasts: concentration and redox state under light and dark conditions. *FEBS Lett.* 133, 301–304.
  15. Crawford, N.A., Droux, M., Kosower, N.S. and Buchanan, B.B. (1989) Evidence for function of the ferredoxin/thioredoxin system in the reductive activation of target enzymes of isolated intact chloroplasts. *Arch. Biochem. Biophys.* 271, 223–239.
  16. Konno, H., Nakane, T., Yoshida, M., Ueoka-Nakanishi, H., Hara, S. and Hisabori, T. (2012) Thiol modulation of the chloroplast ATP synthase is dependent on the energization of thylakoid membranes. *Plant Cell Physiol.* 53, 626–634.
  17. Yoshida, K., Matsuoka, Y., Hara, S., Konno, H. and Hisabori, T. (2014) Distinct redox behaviors of chloroplast thiol enzymes and their relationships with photosynthetic electron transport in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 55, 1415–1425.
  18. Wolosiuk, R.A., Crawford, N.A., Yee, B.C. and Buchanan, B.B. (1979) Isolation of three thioredoxins from spinach leaves. *J. Biol. Chem.* 254, 1627–1632.
  19. Schurmann, P., Maeda, K. and Tsugita, A. (1981) Isomers in thioredoxins of spinach chloroplasts. *Eur. J. Biochem.* 116, 37–45.
  20. Collin, V., Issakidis-Bourguet, E., Marchand, C., Hirasawa, M., Lancelin, J.M., Knaff, D.B. and Miginiac-Maslow, M. (2003) The *Arabidopsis* plastidial thioredoxins: new functions and new insights into specificity. *J. Biol. Chem.* 278, 23747–23752.
  21. Collin, V., Lamkemeyer, P., Miginiac-Maslow, M., Hirasawa, M., Knaff, D.B., Dietz, K.J. and Issakidis-Bourguet, E. (2004) Characterization of plastidial thioredoxins from *Arabidopsis* belonging to the new  $\gamma$ -type. *Plant Physiol.* 136, 4088–4095.
  22. Laugier, E., Tarrago, L., Courteille, A., Innocenti, G., Eymery, F., Rumeau, D., Issakidis-Bourguet, E. and Rey, P. (2013) Involvement of thioredoxin  $\gamma 2$  in the preservation of leaf methionine sulfoxide reductase capacity and growth under high light. *Plant Cell Environ.* 36, 670–682.
  23. Yoshida, K., Hara, S. and Hisabori, T. (2015) Thioredoxin selectivity for thiol-based redox regulation of target proteins in chloroplasts. *J. Biol. Chem.* 290, 14278–14288.
  24. Hara, S., Nojima, T., Seio, K., Yoshida, M. and Hisabori, T. (2013) DNA-maleimide: an improved maleimide compound for electrophoresis-based titration of reactive thiols in a specific protein. *Biochim. Biophys. Acta* 1830, 3077–3081.
  25. Miginiac-Maslow, M. and Lancelin, J.M. (2002) Intrasteric inhibition in redox signalling: light activation of NADP-malate dehydrogenase. *Photosynth. Res.* 72, 1–12.
  26. Geck, M.K., Larimer, F.W. and Hartman, F.C. (1996) Identification of residues of spinach thioredoxin<sub>f</sub> that influence interactions with target enzymes. *J. Biol. Chem.* 271, 24736–24740.
  27. Konno, H., Yodogawa, M., Stumpp, M.T., Kroth, P., Strotmann, H., Motohashi, K., Amano, T. and Hisabori, T. (2000) Inverse regulation of F<sub>1</sub>-ATPase activity by a mutation at the regulatory region on the g subunit of chloroplast ATP synthase. *Biochem. J.* 352, 783–788.
  28. Ueoka-Nakanishi, H., Nakanishi, Y., Konno, H., Motohashi, K., Bald, D. and Hisabori, T. (2004) Inverse regulation of rotation of F<sub>1</sub>-ATPase by the mutation at the regulatory region on the g subunit of chloroplast ATP synthase. *J. Biol. Chem.* 279, 16272–16277.
  29. Kohzuma, K., Dal Bosco, C., Meurer, J. and Kramer,

- D.M. (2013) Light- and metabolism-related regulation of the chloroplast ATP synthase has distinct mechanisms and functions. *J. Biol. Chem.* 288, 13156–13163.
30. Broin, M., Cuine, S., Eymery, F. and Rey, P. (2002) The plastidic 2-cysteine peroxiredoxin is a target for a thioredoxin involved in the protection of the photosynthetic apparatus against oxidative damage. *Plant Cell* 14, 1417–1432.
  31. Rey, P., Cuine, S., Eymery, F., Garin, J., Court, M., Jacquot, J.P., Rouhier, N. and Broin, M. (2005) Analysis of the proteins targeted by CDSP32, a plastidic thioredoxin participating in oxidative stress responses. *Plant J.* 41, 31–42.
  32. Motohashi, K. and Hisabori, T. (2006) HCF164 receives reducing equivalents from stromal thioredoxin across the thylakoid membrane and mediates reduction of target proteins in the thylakoid lumen. *J. Biol. Chem.* 281, 35039–35047.
  33. Serrato, A.J., Perez-Ruiz, J.M., Spinola, M.C. and Cejudo, F.J. (2004) A novel NADPH thioredoxin reductase, localized in the chloroplast, which deficiency causes hypersensitivity to abiotic stress in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 279, 43821–43827.
  34. Perez-Ruiz, J.M. and Cejudo, F.J. (2009) A proposed reaction mechanism for rice NADPH thioredoxin reductase C, an enzyme with protein disulfide reductase activity. *FEBS Lett.* 583, 1399–1402.
  35. Bernal-Bayard, P., Hervas, M., Cejudo, F.J. and Navarro, J.A. (2012) Electron transfer pathways and dynamics of chloroplast NADPH-dependent thioredoxin reductase C (NTRC). *J. Biol. Chem.* 287, 33865–33872.
  36. Perez-Ruiz, J.M., Spinola, M.C., Kirchsteiger, K., Moreno, J., Sahrawy, M. and Cejudo, F.J. (2006) Rice NTRC is a high-efficiency redox system for chloroplast protection against oxidative damage. *Plant Cell* 18, 2356–2368.
  37. Michalska, J., Zauber, H., Buchanan, B.B., Cejudo, F.J. and Geigenberger, P. (2009) NTRC links built-in thioredoxin to light and sucrose in regulating starch synthesis in chloroplasts and amyloplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 9908–9913.
  38. Richter, A.S., Peter, E., Rothbart, M., Schlicke, H., Toivola, J., Rintamaki, E. and Grimm, B. (2013) Posttranslational influence of NADPH-dependent thioredoxin reductase C on enzymes in tetrapyrrole synthesis. *Plant Physiol.* 162, 63–73.
  39. Perez-Ruiz, J.M., Guinea, M., Puerto-Galan, L. and Cejudo, F.J. (2014) NADPH thioredoxin reductase C is involved in redox regulation of the Mg-chelatase I subunit in *Arabidopsis thaliana* chloroplasts. *Mol. Plant* 7, 1252–1255.
  40. Yoshida, K. and Hisabori, T. (2016) Two distinct redox cascades cooperatively regulate chloroplast functions and sustain plant viability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 113, E3967–E3976.
  41. Arsova, B., Hoja, U., Wimmelbacher, M., Greiner, E., Ustun, S., Melzer, M., Petersen, K., Lein, W. and Bornke, F. (2010) Plastidial thioredoxin  $\alpha$  interacts with two fructokinase-like proteins in a thiol-dependent manner: evidence for an essential role in chloroplast development in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana*. *Plant Cell* 22, 1498–1515.

## New Emerging Insights into Chloroplast Redox Regulation Network

Keisuke Yoshida\* and Toru Hisabori

Laboratory for Chemistry and Life Science, Tokyo Institute of Technology

## 解説

## 変動光に対する光合成電子伝達系の応答： PSI の光阻害と防御のメカニズム

東京大学 大学院理学系研究科  
河野 優\* 寺島 一郎

野外では、光強度や波長組成がさまざまな周期で変動する。したがって、植物の光環境応答を理解するためには、変動光への応答を解析しなければならない。変動光に対する植物の応答の研究は、1980年頃から盛んに行われるようになり、林床植物が、突然射し込む木漏れ日のエネルギーを効率よく光合成に利用できることなどが示されてきた。最近、変動光が PSI に顕著な影響（光阻害）を与えることが分かった。また、それに対応する防御機構も研究されるようになった。本稿では、変動光研究の歴史を簡単に述べた後、著者が関わっている変動光によって引き起こされる PSI 光阻害とその防御機構について記述する。

### 1. はじめに

自然環境下では様々な周期で光の強度や波長組成が変動する。光を遮るものが全くない裸地でも、光強度変化が太陽の日周運動のみによる快晴日は年数日程度しかなく、光強度は雲の影響で複雑に変化する。林の下層部（林床）の光環境は、上層の樹木の影響を受けるので、さらに複雑になる（図 1）。例えば、夏季の林床では、太陽光の大部分が上層樹木の葉によって吸収されるので、日中の大部分は、 $20\text{--}50\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ （単位は光合成光量子速密度）の弱光（散乱光）しか届かない。ところが、風などの影響で樹木の葉が揺れると、その隙間を通り抜けた強光（直達光；大部分が  $200\text{--}500\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ）が射し込む（図 1、夏季）。この直達光をサンフレック（sunfleck）やサンパッチ（sun patch）と呼ぶ（いわゆる木漏れ日）。夏季、林床のサンフレックの長さは、数秒から数分と短い。一方、早春の落葉樹林の林床は、樹木が落葉して多くの光が射し込むので、夏季と違って明るい。ところが、光強度の変動がほとんど無いように思われるこの時期の林床でも、光環境は、実にダイナミックに変動する（図 1、早春）。サンフレック（ $500\text{--}1500\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上）と散

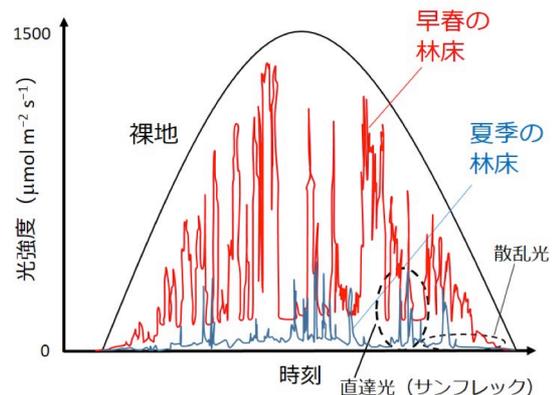


図 1. 野外光環境

全天に障害物のない裸地、落葉樹林の夏季と早春の林床の光強度の日変化。著者らによる実測データ（河野ら、未発表）をもとに、裸地、夏季林床、早春林床の光環境の特徴的な変化パターンを示してある。

乱光（ $100\text{--}300\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ）の光強度の違いは、夏季よりもむしろ大きい。一方、変動周期は夏より緩やかな数分以上の成分が多い（河野、未発表）。このように、林床の光環境は季節によって異なるだけでなく、林の場所や林を構成する樹種によっても異なる。当然、天候や風速によっても違ってくる。このような変動光に絶えず曝されている林床植物の光合成は、単に変化する光に追従して行われているのではない。実は、植物の光合成、特に

\*連絡先 E-mail: konom07@bs.s.u-tokyo.ac.jp

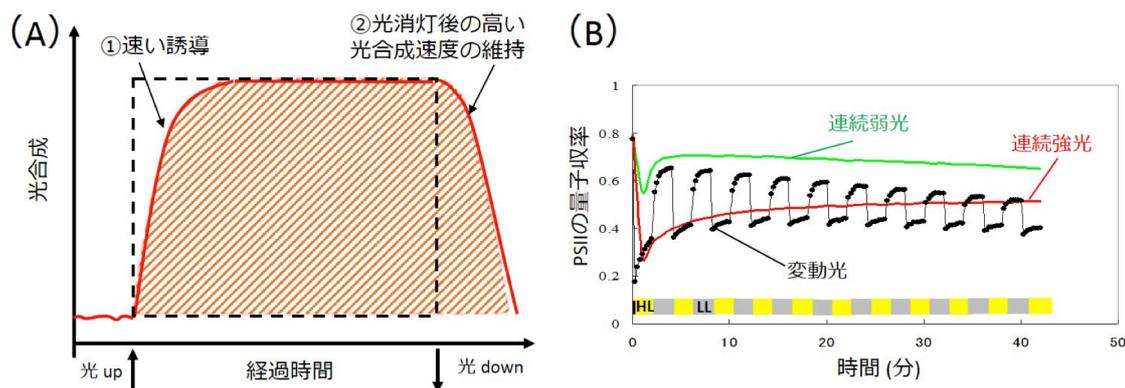


図 2. 変動光に対する応答

(A) サンプルックに対する光合成速度の応答。黒点線で囲んだ部分は定常光下での  $\text{CO}_2$  固定量。赤線で囲った部分はサンプルック受光量あたりの  $\text{CO}_2$  固定量。上向き矢印 ( $\uparrow$ ) は弱光から強光への移行、下向き矢印 ( $\downarrow$ ) は強光から弱光への移行を表す。(B) 連続光で栽培したシロイヌナズナ野生型に、強光 (HL;  $240 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、黄色 bar) と弱光 (LL;  $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、灰色 bar) を 2 分周期で交互照射したときの PSII 量子収率の応答 (●)。赤色の実線は強光を単独で連続照射したときの、緑色の実線は弱光を単独で連続照射したときの応答 (Kono et al. 2014 を改変)。

電子伝達系は、我々が思う以上に、光変動に翻弄されているのである。本稿では、植物がどのように変動光を利用しているのか、そして、変動光は光合成にどのような影響を与えるのかについて紹介する。本稿によって、少しでも変動光研究に興味を抱いていただけたら幸いである。

## 2. 変動光研究の変遷

変動光研究は、林床植物がいかんにしてサンプルックを光合成に利用しているか、という興味から始まった。1970 年頃から、様々な林の林床の光環境が測定され、林によって光変動の特徴が異なることが示されるようになった<sup>1)</sup>。1980 年代には、R. W. Pearcy らにより、サンプルック応答の研究が盛んに行われた。夏季林床で生育する植物にとって、サンプルックをうまく利用することは非常に重要である。実際、一日の炭素固定に寄与する光エネルギーの 10–60% をサンプルックに頼っているといわれている<sup>1,2)</sup>。Pearcy らによって明らかにされた林床植物による短いサンプルックの利用を、図 2A に要約した。すなわち、①突然強光に曝されたときに素早く光合成を誘導し、最大光合成速度を実現すること (速い光合成誘導) と、②サンプルックの後の散乱光下において、なるべく長い時間、高い光合成速度を維持すること、が重要である。①と②を達成することで、

受光量あたりの  $\text{CO}_2$  固定量を定常光下よりも高く保つことができる (図 2A の黒色点線で囲んだ部分よりも、赤色実線で囲まれた部分を大きくすることで、光利用効率 100% 以上を達成する)。1980 年代の変動光研究では、様々な陽生植物や陰生植物の野生型個体を、野外 (変動光) や実験室内 (連続光) で栽培して用いた。光合成速度や気孔応答の比較だけでなく、光強度を、弱光→強光または強光→弱光に切り替えたときの、Rubisco をはじめとする  $\text{CO}_2$  固定経路の酵素の活性化状態や様々な中間代謝物量の変化が、細かい時間スケールで調べられていた。

1990 年代に入ると、PAM 蛍光計や携帯型ガス交換測定装置の普及もあって、ガス交換速度の応答に加えて、光化学系 II (PSII) を主にした光合成電子伝達系の応答もよく研究されるようになった。また、分子生物学の発展もあって、光が当たったときに発現する遺伝子やタンパク質にも興味をもたれるようになってきた。モデル植物のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いた研究も盛んに行われるようになり、変動光研究に貢献する重要な論文が多く発表されてきた<sup>3-5)</sup>。

近年、変動光研究に新たな知見が加わった。変動光が PSI に影響を与えることが明らかとなり、その重要性が研究されるようになってきたのである。このテーマの研究には、著者も関与してい

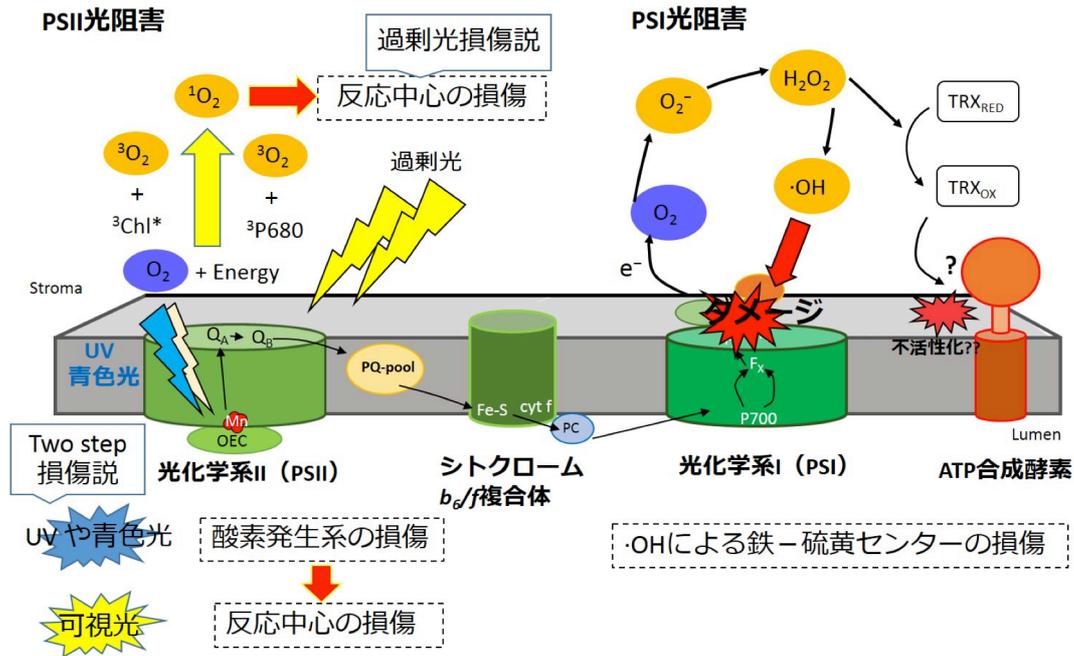


図 3. PSII 光阻害と PSI 光阻害

PSII には、過剰光による光損傷説と two step 光損傷説が提唱されている。過剰な光エネルギーによる光損傷説では、光合成に利用できない過剰な光をクロロフィル色素が吸収することにより、反応中心が損傷する。一方、two step 光損傷説では、酸素発生複合体 (OEC) のマンガン (Mn) クラスターが吸収した光によって OEC が最初に損傷し、次にクロロフィルが吸収した光によって反応中心が損傷する。PSI 光阻害機構は、光と酸素の存在下で、活性酸素、おそらくヒドロキシラジカルによって鉄-硫黄センターが損傷を受ける。変動光による PSI 光阻害は、PSI の電子受容側の電子伝達が大きく律速されることによって起こる。ATP 合成酵素は、チオレドキシナーフェレドキシニンシステムによって光活性化される。スーパーオキシドや過酸化水素が大量に存在する場合、それらが還元型チオレドキシニン (TRX<sub>RED</sub>) を酸化して、酸化型チオレドキシニン (TRX<sub>OX</sub>) が ATP 合成酵素を酸化することで、光条件下でも ATP 合成酵素が不活性化する可能性が示唆されている。

るので、次節以降は変動光による PSI の光阻害とその防御機構について解説する。

### 3. 変動光による PSI 光阻害の発見

PSII は、強光などのストレスに対して感受性が高く損傷を受けやすい。また、修復速度が非常に速い。PSII の光阻害については、特に PAM 蛍光計の普及以降、数多くの研究がなされてきた。一般に光阻害といえば、PSII の光阻害のことを意味するほどである。今日では、損傷 (図 3) や修復のメカニズムがかなり明らかになってきた。一方、PSI は連続強光に対してほぼ耐性である。たとえば、100 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 程度の連続光で栽培したシロイヌナズナの、十分に光合成を誘導させた葉に、2000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> の強光を 5 時間照射し続けても PSI は光阻害を受けない (未発表)。PSI 光阻害が最初に報告されたのは 1966 年の Jones and

Kok<sup>6)</sup>によってである。その後、佐藤によって単離チラコイド膜<sup>7-9)</sup>、井上らによって PSI 複合体<sup>10)</sup>で PSI 光阻害による PSI の活性低下が確認された。生理学的条件下で PSI 光阻害が報告されたのは 1994 年である。低温感受性植物キュウリ (*Cucumis sativus*) の葉を低温下 (4°C) で弱光 (~200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) 照射すると、PSI のみが特異的に光阻害をうけた<sup>11)</sup>。ジャガイモ (*Solanum tuberosum*)<sup>12)</sup>、ライムギ (*Secale cereal*)<sup>13)</sup>、オオムギ (*Hordeum vulgare*)<sup>14)</sup> やシロイヌナズナ<sup>15)</sup> でも PSI の光阻害が報告されている。

変動光に話を戻す。2012 年にフィンランドのグループが、変動光が PSI に影響を与えると報告した<sup>16)</sup>。PSI に結合する PGR5 タンパク質 (図 4) を欠損したシロイヌナズナ *pgr5* 変異体を変動光下で栽培すると、致死的表現型を示す<sup>17)</sup>。これは、栽培変動光環境下で *pgr5* の PSI が光阻害を

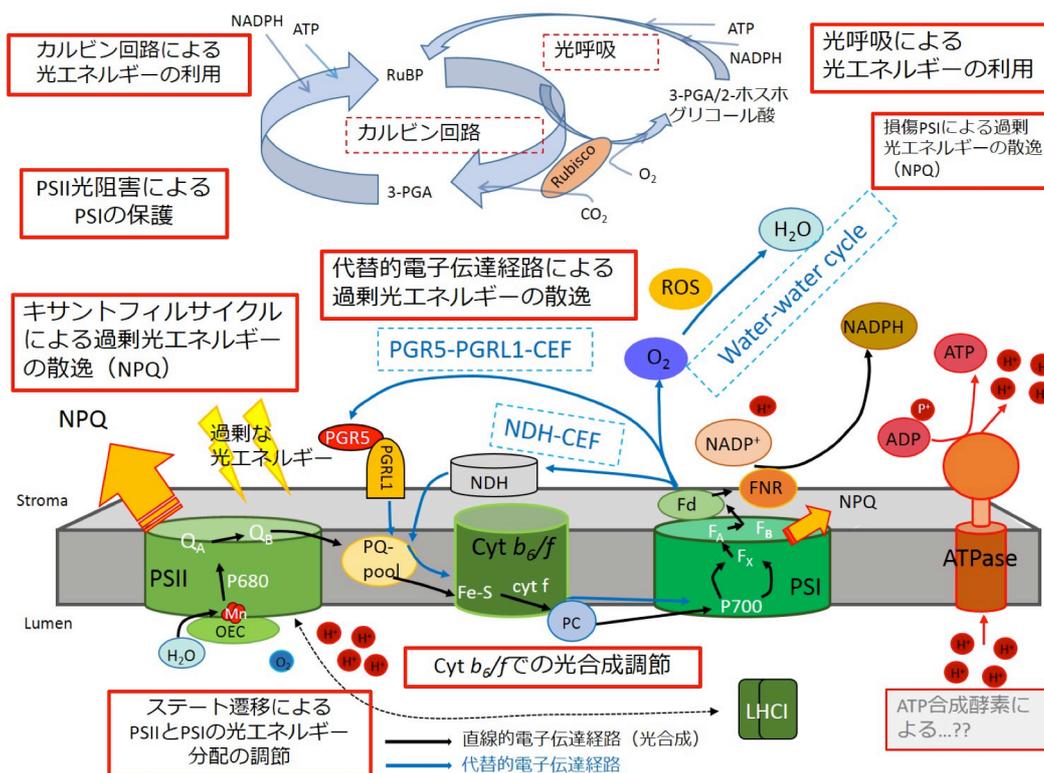


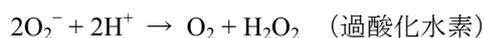
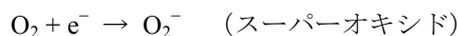
図 4. 葉緑体における光防御機構

受けたことによるものだった。一方、著者は変動光による PSI 光阻害がシロイヌナズナ野生型でも起こることを初めて示した<sup>18)</sup>。個別に定常照射しても PSII 光阻害の起きない強光と弱光を 2 分周期で交互照射したところ、周期を重ねる毎に PSII の量子収率が低下した (図 2B)。注目すべき点は、このとき、PSII は光阻害を受けなかったが、PSI が光阻害を受けたことである。PSI 光阻害は、PSI の下流 (電子受容側、還元側) の電子伝達が大きく律速されることで起こることも明らかにした (図 3)。これらにより、変動光は主として PSI を標的とした光阻害を起こすストレス要因であることが明確に示された。

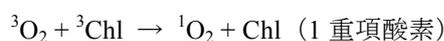
#### 4. PSI 光阻害のメカニズム

ここでは、PSI 光阻害のメカニズムについて概説する。PSI 損傷は活性酸素による。過剰な還元力が蓄積する条件 (高 NADPH/NADP 比) で、PSI から酸素分子への電子移動によってスーパーオキシド ( $O_2^-$ ) が生じる。自発的あるいはスーパーオキシドディスミューターゼ (SOD) による不

均化反応によって、過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) が生じる。



1 重項酸素 ( $^1O_2$ ) は、励起状態の 3 重項クロロフィル ( $^3Chl$ ,  $^3P680$  の場合もある) が基底状態の酸素分子 ( $^3O_2$ ) と反応することによって生成する。



好気環境下における活性酸素の生成は半ば必然であるといえるが、そのため植物はいくつもの活性酸素消去機構を備えている。しかし、種々の環境ストレス下 (例えば強光ストレス、変動光ストレス、低温ストレス) では、活性酸素消去機構で処理しきれない大量の活性酸素が葉緑体内で生じる。PSII の光阻害は PSII 反応中心近傍で発生した活性酸素 ( $^1O_2$ ) によって引き起こされる。

ただし、D1 タンパク質修復のためのタンパク質合成は、PSI で発生した活性酸素によって阻害される<sup>19)</sup>。一方、PSII の Q<sub>B</sub> 結合部位をブロックする DCMU やシトクローム *b<sub>6</sub>f* 複合体のプラストキノール結合部位をブロックする DBMIB によって、PSII もしくはシトクローム *b<sub>6</sub>f* 複合体からの電子伝達を止めると、PSII で多くの活性酸素が発生する強光下でも PSI は光阻害を受けない<sup>20)</sup>。一般的には、PSII 由来の電子によって PSI で発生した活性酸素が PSI を攻撃するようである。しかし、DCMU で PSII の電子伝達を止めておいても、30,000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> という自然界では有り得ない強光を照射すると、PSI の光阻害が起こる<sup>21)</sup>。

PSI 光阻害の主な原因は、活性酸素による鉄-硫黄センター (F<sub>X</sub>, F<sub>A</sub>, F<sub>B</sub>) の損傷によるといわれている<sup>22)</sup>。鉄などの金属イオン存在下では、スーパーオキシドや過酸化水素は最も活性の高い活性酸素種ヒドロキシラジカル (·OH) を生成する (この反応は、Superoxide-driven Fenton reaction と呼ばれる)。



ヒドロキシラジカル (·OH) はきわめて毒性が高く、この活性酸素種が、発生場所に最も近い鉄-硫黄センターを傷付けると考えられている<sup>23)</sup>。PSI 電子受容側の過還元が PSI 損傷を引き起こすことを考えると、F<sub>B</sub> が初発傷害部位と予想できる。Inoue et al. (1986)<sup>10)</sup>によると、最も傷みやすいのは F<sub>B</sub> だが、F<sub>A</sub>, F<sub>X</sub>, や P700 が最初に壊れる場合もあるようである。

最近、ハウレンソウの葉緑体に 300 ms のパルス光 (20,000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) を 10 秒ごとに照射すると、PSI が顕著に阻害されることが示された。1 重項酸素 (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) のスカベンジャーの存在下では、PSI 光阻害が軽減されたことから、PSI 光阻害への <sup>1</sup>O<sub>2</sub> の関与が示唆された<sup>24)</sup>。Kok ら (1965)<sup>21)</sup>が DCMU 存在下の超強光阻害実験で用いた葉緑体は無傷ではないので、フェレドキシンは存在していない。したがって、この光阻害にも 1 重項酸素 (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) が関与しているかもしれない。

## 5. 変動光光阻害の回避機構

前述のように、変動光は主として PSI を標的とした光阻害を起こす。そのため、植物はこれらの変動光にうまく対応するための機構をもっているはずである。植物の光合成の場である葉緑体は光ストレスに対する様々な防御機構を有している (図 4)。すなわち、PSII の光捕集アンテナ内での熱散逸機構<sup>25)</sup>やシトクローム *b<sub>6</sub>f* 複合体での電子伝達の調節 (光合成調節)<sup>26)</sup>が、チラコイド膜内腔のプロトン濃度に応じて作動する。さらに、酸素への電子の流れを防ぐ PSI まわりの循環的電子伝達経路 (cyclic electron flow around PSI, CEF-PSI と略す)<sup>27,28)</sup>や、発生した活性酸素を消去する浅田サイクル (water-water cycle)<sup>27,29)</sup>などもある (図 4)。これら全ての機構は、PSII の光阻害回避に役立つことが示されている。

これらの機構は変動光下での応答でも機能すると考えられるが、変動光に対する応答と連続光に対する応答はどこが違うのかを認識しておく必要がある。変動光と連続光の最も大きな違いは、変動光には弱光期間が存在することである。この弱光期間の間に光合成や熱散逸機構の活性が低下してしまう。弱光期間が比較的長く、強光期間が短い変動光に対しては、強光への受入態勢が整っていない状態で強光が繰り返されることになる。つまり、変動光への応答は光合成が非定常状態での応答である点が、定常状態にある連続光への応答と異なる。単純な言い方をすれば、連続(強)光は PSII を標的にし、変動光は主に PSI を標的に光阻害を起こす。保護すべき対象 (PSII か PSI か) によって、同じ役者 (熱散逸機構や代替的電子伝達経路等) が異なる役割を果たしていると考えられる。

では、図 4 に挙げた機構は、変動光に対する PSI 保護にどのように機能するのだろうか。前述のように、変動光による PSI 光阻害は、PSI の電子受容側の律速が大きくなることによって起こる。そのために、PSI の電子受容側の律速を軽減することが PSI 光阻害の回避につながる<sup>18)</sup>。光阻害を回避するためには光エネルギーを安全に扱う必要がある。最も好ましい光エネルギーの利用

方法はカルビン回路への利用である。そして、なんらかの理由で、光合成に利用できないときは、エネルギーを安全に散逸しなければならない。散逸方法は大きく2つに分けられる。ひとつは、光エネルギーを熱に直接変換して逃がしてやることである。もうひとつは、過剰エネルギー由来の電子伝達が起こってしまった場合に、電子を安全なエレクトロン・シンクにまわすことである。

カルビン回路に光エネルギーを使うことが光阻害の回避につながるという至極当たり前のことを述べたが、変動光下においてはこれが非常に重要になる。なぜなら、変動光には弱光期間が存在するため、弱光期間の光合成活性の低下は、次に当たる強光のエネルギーを効率よく光合成に利用できなくさせる。これは、PSIの電子受容側の律速を増大させる原因になる。つまり、変動光の弱光期間の光強度は高いほうがいいといえる。ヒマワリ (*Helianthus annuus*) を用いた研究でこのことが示されている。400  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の連続光で栽培されたヒマワリに、弱光条件下で10秒毎に20,000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (照射期間300ms) のパルス光を照射したところ、弱光の光強度が200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ではPSI光阻害を受けたが、約600  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以上になると、PSI光阻害が顕著に抑えられた<sup>30)</sup>。この場合は、弱光期間の比較的高い光強度によって、カルビン回路が十分に活性化状態にあったことがPSI保護に働いたと考えられる。PSIの電子受容側の高い活性化状態、つまりカルビン回路に光を利用できる状態はPSI保護に有効であるといえる。

変動光に対して、光エネルギーの熱散逸機構の役割はどうか。NPQと呼ばれるこの機構は主にPSIIにおいて発達しており、代表的なものではチラコイド膜内腔のプロトン濃度に依存したキサントフィルサイクルによる熱散逸機構がある(図4)。野外の変動光下で栽培したNPQ変異体では、適応度に関係する果実数、種子数などが顕著に低下した<sup>3)</sup>。この論文では、PSI光阻害の評価がなされていないので、PSI光阻害が適応度の低下につながったのかどうかは分からない。室内での変動光条件下よりも野外での変動光下でとくに適応度の低下が大きかったのは、NPQ変異体は病

原菌に対する抵抗性も低下<sup>31)</sup>していたためかもしれない。他にも、PSII反応中心内で起こるNPQ (reaction center quenching)<sup>32)</sup>の関与や、PSIIとPSI間でアンテナの移動(ステート遷移)を介した光分配の調節も重要かもしれない。光質に依存しないステート遷移が変動光下での光合成電子伝達鎖のレドックス感知に重要だと言われている<sup>17,33)</sup>。一方、PSIではPSIIのように植物側が積極的にを行うNPQの存在はまだ報告されていない。PSIの反応中心P700においても、P700に供与する電子が不足した場合や、P700の電子受容側に電子が滞っていた場合には、P700は光を吸収しても光化学反応は起こせない。この過剰エネルギーはP700を危険にさらすはずである。しかし、PSIは連続光であればかなりの強光に対しても光阻害を受けないことから、利用できない光エネルギーを電荷再結合などにより熱に変換して散逸していると考えられる。近年、光損傷したPSIの鉄-硫黄クラスターがクエンチャーとして働き、PSIIからの電子伝達をダウンレギュレートすることで残りのPSIを保護することが報告された<sup>34)</sup>。

変動光によるPSI光阻害は、PSIの電子受容側の律速が大きくなることによって起こるため、電子受容側の律速を軽減することがPSI光阻害の回避につながる。有効な機構は、酸素に電子が渡らないような電子伝達を駆動すること、それでも生成してしまった活性酸素を安全に無毒化することである。CEF-PSIは、PSIから電子を受け取ったフェレドキシン(Fd)からNADP<sup>+</sup>ではなくシトクローム $b_6f$ 複合体に電子が流れ、再びPSIに電子が流れ込む経路である。そのため、酸素への電子伝達を回避するには有効な経路といえる。現在のところ、PGR5-PGRL1経路<sup>35)</sup>とNDH経路<sup>36)</sup>の2つの経路が提唱されており、各経路に関わる因子の探索、生理学的な意義について多くの研究がなされている。CEF-PSIが変動光への応答に重要であるという報告は、シロイヌナズナ<sup>18)</sup>のほかにもイネ(*Oryza sativa*)でもなされている<sup>37)</sup>。しかしながら、CEF-PSIがどのようにしてPSIを保護するのかについてはよく分かっていなかった。そこで、著者はシロイヌナズナの

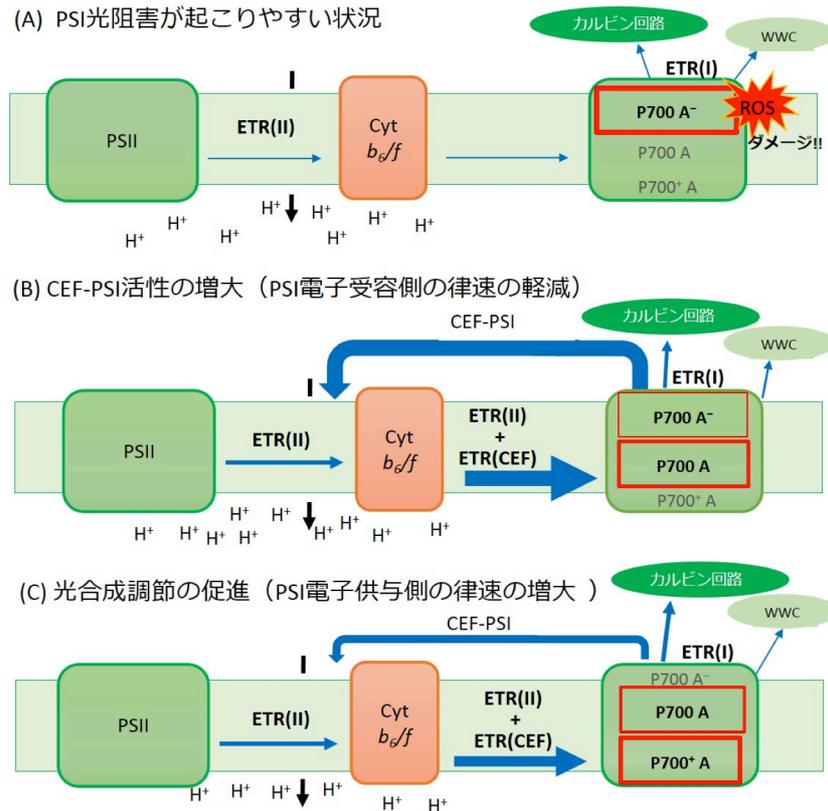


図 5. 突然強光に曝されたことによって起こる PSI 光障害に対する、CEF-PSI と光合成調節による回避機構

青色矢印は電子の流れを示している。矢印の太さは、電子伝達速度 (ETR) の大きさを反映している。黒色矢印はプロトンの移動を示している。PSI については、反応中心 P700 がとりうる 3 つの状態が示してある。'A' は電子受容体。最も存在確率の高い P700 の状態を赤色で囲んだ。(A) PSI 光障害が起りやすい状況。電子伝達は、PSI の電子受容側の律速が大きくなることによって低下する。つまり、P700 A<sup>-</sup>の割合が増える。カルビン回路での光エネルギー利用が滞り、water-water cycle (WWC) による活性酸素 (ROS) の消去が追いつかないと、ヒドロキシラジカルが生成されて、PSI 光障害が起こる。便宜上、CFE-PSI は示していない。(B) CEF-PSI 活性の増大による、PSI 電子受容側の律速の軽減。PSI 電子受容側の律速が大きくなると、CEF-PSI 活性が増大し、電子受容側の律速を軽減する。P700 A<sup>-</sup>の割合が減って、P700 A の割合が増える。PSI からシトクローム *b<sub>6/f</sub>* (Cyt *b<sub>6/f</sub>*) 複合体に流れる太い青色矢印は CEF-PSI を表す。Cyt *b<sub>6/f</sub>* 複合体から PSI への ETR は、PSII の電子伝達速度 [ETR(II)] と CFE-PSI の電子伝達速度 [ETR(CEF)] の総和となる。これが、PSI の電子伝達速度 [ETR(I)] と同じになる。CEF-PSI の増大は、チラコイド膜を介したプロトン濃度勾配の形成を促進する。

(C) PSI 電子供与側において、プロトン勾配に依存した Cyt *b<sub>6/f</sub>* 複合体での電子伝達の調節、すなわち光合成調節が促進される。光合成調節は PSI に流入する電子量を抑える機構であるため、CEF-PSI の速度は徐々に小さくなっていく。Cyt *b<sub>6/f</sub>* 複合体から PSI への電子伝達の大きな低下は、P700<sup>+</sup> A の割合を増やす。最終的には、PSI 電子受容側の反応の促進やプロトン濃度勾配の解消などによって、光合成調節が抑制されて、カルビン回路への電子伝達が促進されるようになる (Kono and Terashima 2016 を改変)。

CEF-PSI 変異体 2 種類と PGR5-PGRL1 経路の阻害剤であるアンチマイシン A を用いて変動光に対する応答を解析した。その結果、CEF-PSI による電子伝達調節は、PSI の電子受容側だけでなく、電子供与側の電子伝達の調節にも大きく関与することが分かった (図 5)<sup>38)</sup>。

自然の光環境を模した変動光 (FL-1200/30、数

字は  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  で表した光量子束密度、周期は 2 分) を植物葉に照射した。PSI 光障害が起きる状況下では、NADP<sup>+</sup> や water-water cycle には電子が流れにくくなっている。図 5A は、変動光によって PSI の電子受容側による律速が大きくなっている状況を示している。受容側の律速が大きくなると、CEF-PSI の活性が上がる。図 5B は、増大

した CEF-PSI によって PSI 電子受容側の律速が軽減される状況を示している。CEF-PSI 由来の電子がシトクローム *b<sub>6</sub>f* 複合体に流れ込むことで、共役的プロトン勾配の形成が促進される。すると、シトクローム *b<sub>6</sub>f* 複合体での「光合成調節」による電子伝達調節機構が働き、PSI に流れる電子量が制限される (図 5C)。

この調節機構が機能するためには、CEF-PSI の電子伝達速度は大きいままであってはいけない。シトクローム *b<sub>6</sub>f* 複合体から PSI への電子伝達速度 (ETR) は PSII の電子伝達速度 [ETR(II)] と CEF-PSI の電子伝達速度 [ETR(CEF)] の合計で表される。これが、PSI の電子伝達速度 [ETR(I)] と同じになるはずである [ETR(II) + ETR(CEF) = ETR(I)]。すなわち、CEF-PSI は PSI 電子受容側の律速を軽減しつつ、電子供与側では光合成調節をオンにする。ある一定の光強度下でも、時間とともに、CEF-PSI の速度自体は徐々に小さくなるのが重要である。まとめると、最も重要なことは、CEF-PSI の増大による PSI 電子受容側律速の軽減と、(徐々に CEF-PSI が小さくなり) PSI 電子供与側の律速の増大とのバランスをもって連続的に起こることである。この機構は、比較的強い変動光、つまり CEF-PSI が機能するような強光に対して有効であるといえる。緩やかな変動光 (たとえば、強光期間の光強度を中程度にした FL-240/30、数字は光量子束密度、周期は 2 分) に対しては異なる防御・応答機構が有効である。実際、著者は緩やかな変動光に対しては、CEF-PSI 阻害剤アンチマイシン A を処理した場合と未処理の場合で、PSI 光阻害が同程度になることを確認している。さらに、このような変動光下では PSII による PSI の保護機能が重要であることも明らかになった。

## 6. PSI と PSII の光エネルギー分配比を変えることによる電子伝達活性の維持

ここまでは、PSII と PSI の活性が等しいものとして個別の応答として議論してきた。しかし、実際の植物チラコイド膜全体の電子伝達活性は、PSII と PSI 両方の活性のバランスによって決まっていることも忘れてはならない。例えば、PSII

と PSI の励起バランスの不均衡が生じた場合に、過励起側の光化学系の光捕集アンテナをもう一方の光化学系に移動させることによって励起状態のバランスをとるステート遷移と呼ばれる機構がある (図 4)。強度と光質がともに変動する野外環境を考えれば、ステート遷移のように短期的に光エネルギーの分配を調節するだけでなく、恒常的に調節される機構 (馴化) もあっていいはずである。シロイヌナズナを用いて、著者が示した研究例を以下に紹介する<sup>18)</sup>。

PSII の電子伝達速度 [ETR(II)] は、PSII の量子収率に、PSII が吸収した光強度 ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) を乗じることで求まる。これまで多くの研究では、PSI と PSII に等しく光エネルギーが分配されると仮定されてきた。CEF-PSI に異常があると言われた *pgr5* 変異体は PSI の量子収率が低いにもかかわらず、強すぎない光強度の下では野生型とほぼ同じ成長を示す。著者は PSII の量子収率と、PSII で発生する O<sub>2</sub> の量子収率を同時測定することで光エネルギーの分配比を求めた。その結果、*pgr5* 変異体は PSI への光エネルギーの分配量を PSII よりも大きくすることで、PSI の電子伝達速度を高めてバランスよい電子伝達を維持していた。林床に生息する植物は PSI のアンテナサイズを PSII のアンテナサイズよりも大きくしておくことで、CEF-PSI を駆動しやすくしている可能性もある。あるいは、PSII 感受性を高くすることで PSI を保護する戦略もあるかもしれない。植物の自然条件下の PSI 光阻害抑制戦略を明らかにすべく、野外の非モデル植物を用いた、野外実験も含めた研究を鋭意推進中である。

## 7. 紫外光や遠赤色光による PSI 光阻害の抑制

自然界でみられる光変動の周期や強度の変動パターンの組み合わせは無窮大になり、それらすべてに対応可能な光合成系を瞬時に物理的に構築するのは不可能である。しかし、著者は、変動光応答の研究のためには、より自然条件に近い波長組成の光 (例えば遠赤色光や紫外線なども含めた) を使った研究は絶対に必要だと考えている。たとえば、PSII は紫外線に感受性が高く、容易に

光阻害を受ける<sup>39)</sup>。野外変動光環境では、十分に強い強光と紫外線による PSII 光阻害が、効果的に PSI を保護しているかもしれない。特に、紫外領域から可視領域までかなり強い光が射し込む早春の林床植物などは、PSII の損傷と修復による効果的な PSI 保護戦略があるかもしれない。紫外光がどのくらい PSI 保護に効いているのかを野外で検証する必要がある。

一方、遠赤色光 (700–800 nm, far-red light) は自然の太陽光に十分に含まれ、紫外光のように光阻害を誘発することはない。しかも、遠赤色光は PSI のみを励起する。著者はこの点に注目し、遠赤色光が変動光下における PSI 保護に役立っているのではないかと考え、仮説を検証した。シロイヌナズナ野生型に夏季林床を想定した 800 ms の  $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の強光パルスをもとに 10 秒おきに 2 時間照射した。可視励起光のみだと顕著に PSI が光阻害を受けたのに対し、バックグラウンドに一定強度の遠赤色光を加えると、PSI 光阻害が顕著に抑えられた。野外植物を用いて PSI 光阻害の種間比較、生育光環境間比較を行ったところ、変動光による PSI 光阻害の程度は、種や生育光環境に依存して異なったが、遠赤色光を追加することで、すべての植物体で光阻害がほぼ完全に抑えられた。このことは、変動光への最も効率の良い応答は遠赤色光存在下において達成されることを示唆している。

## 8. おわりに

本稿では、変動光への応答は PSI の応答として、また、連続光への応答は PSII の応答という括りで記述してあるが、実際には変動光は PSII にも影響を与えるはずである。特に、連続光で PSII 光阻害を起こすような強光と、光合成活性の低下が著しい弱光からなる変動光では、PSI と PSII の相互作用、あるいは PSI 光阻害と PSII 光阻害の相互作用を考えなければならない。PSII 光阻害が顕著であれば、PSI は守られるはずである。PSI 光阻害が促進されれば、PSII 光阻害も促進されると推測できるが、検証が必要である。変動光の光質が青色光の場合には、PSII の two step 光阻害の影響も考慮する必要があるだろう。これらのこ

とは、実験室内で光強度や光質を一定にした代表的な変動光に対する応答だけでは、すべての変動光応答を説明しきれないことを意味する。また、PSII 光阻害の知見は多くが連続光条件下で得られたものが多いため、それをそのまま変動光に適用するのは注意が必要である。野外環境下では、植物は光阻害を受けると、修復反応を進めつつ、様々な変動光への対応を迫られる。PSII 光阻害を受けた葉または PSI 光阻害を受けた葉の変動光に対する応答は、無傷の葉の変動光応答とは異なることが予想される。変動光研究が大いに盛り上がり、植物が自然光下で行う光環境応答の実態が明らかになることを期待したい。

*Received July 9, 2016; Accepted July 25, 2016; Published August 31, 2016*

## 参考文献

1. Pearcy, R.W. (1990) Photosynthesis in plant life. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 41, 421–453.
2. Way, D.A. and Pearcy, R.W. (2012) Sunflecks in trees and forests: From photosynthetic physiology to global change biology. *Tree Physiol.* 32, 1066–1081.
3. Külheim, C., Agren, J. and Jansson, S. (2002) Rapid regulation of light harvesting and plant fitness in the field. *Science* 297, 91–93.
4. Porcar-Castell, A., Back, J., Juurola, E. and Hari, P. (2006) Dynamics of the energy flow through photosystem II under changing light conditions: a model approach. *Funct. Plant Biol.* 33, 229–239.
5. Alter, P., Dreissen, A., Luo, F.L. and Matsubara, S. (2012) Acclimatory responses of Arabidopsis to fluctuating light environment: comparison of different sunfleck regimes and accessions. *Photosynth. Res.* 113, 221–237.
6. Jones, L. and Kok, B. (1966a) Photoinhibition of chloroplast reactions. I. Kinetics and action spectra. *Plant Physiol.* 41, 1037–1043.
7. Sato, K. (1970a) Mechanism of photoinactivation in photosynthetic systems III. Site and mode of photoinactivation in photosystem I. *Plant Cell Physiol.* 11, 187–197.
8. Sato, K. (1970b) Mechanism of

- photoinactivation in photosynthetic systems II. The occurrence and properties of two different types of photoinactivation. *Plant Cell Physiol.* 11, 29–38.
9. Sato, K. (1970) Mechanism of photoinactivation in photosynthetic systems I. The dark reaction in photoinactivation. *Plant Cell Physiol.* 11, 15–27.
  10. Inoue, K., Sakurai, M. and Hiyama, T. (1986) Photoinactivation sites of photosystem I in isolated chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 27, 961–968.
  11. Terashima, I., Funayama, S. and Sonoike, K. (1994) The site of photoinhibition in leaves of *Cucumis sativus* L. at low temperatures is photosystem I, not photosystem II. *Planta* 193, 300–306.
  12. Havaux, M. and Davaud, A. (1994) Photoinhibition of photosynthesis in chilled potato leaves is not correlated with a loss of Photosystem-II activity - Preferential inactivation of Photosystem I. *Photosynth. Res.* 40, 75–92.
  13. Ivanov, A.G., Morgan, R.M., Gray, G.R., Velitchkova, M.Y. and Huner, N.P.A. (1998) Temperature/light dependent development of selective resistance to photoinhibition of photosystem I. *FEBS Lett.* 430, 288–292.
  14. Tjus, S.E., Møller, B.L. and Scheller, H. V. (1998) Photosystem I is an early target of photoinhibition in barley illuminated at chilling temperatures. *Plant Physiol.* 116, 755–764.
  15. Zhang, S. and Scheller, H.V. (2004) Photoinhibition of photosystem I at chilling temperature and subsequent recovery in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 45, 1595–1602.
  16. Suorsa, M., Järvi, S., Grieco, M., Nurmi, M., Pietrzykowska, M., Rantala, M., Kangasjärvi, S., Paakkarinen, V., Tikkanen, M., Jansson, S. and Aro, E.M. (2012) PROTON GRADIENT REGULATION5 is essential for proper acclimation of *Arabidopsis* photosystem I to naturally and artificially fluctuating light conditions. *Plant Cell* 24, 2934–2948.
  17. Tikkanen, M., Grieco, M., Kangasjärvi, S. and Aro, E.M. (2010) Thylakoid protein phosphorylation in higher plant chloroplasts optimizes electron transfer under fluctuating light. *Plant Physiol.* 152, 723–735.
  18. Kono, M., Noguchi, K. and Terashima, I. (2014) Roles of the Cyclic Electron Flow Around PSI (CEF-PSI) and O<sub>2</sub>-Dependent Alternative Pathways in Regulation of the Photosynthetic Electron Flow in Short-Term Fluctuating Light in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 55, 990–1004.
  19. Takahashi, S. and Murata, N. (2008) How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends Plant Sci.* 13, 178–182.
  20. Sonoike, K. (1996a) Photoinhibition of Photosystem I: Its Physiological Significance in the Chilling Sensitivity of Plants. *Plant Cell Physiol.* 37, 239–247.
  21. Kok, B., Gassner, E.B. and Rurainski, H.J. (1965) Photoinhibition of chloroplast reactions. *Photochem Photobiol.* 4, 215–227.
  22. Sonoike, K., Terashima, I., Iwaki, M. and Itoh, S. (1995) Destruction of photosystem I iron-sulfur centers in leaves of *Cucumis sativus* L. by weak illumination at chilling temperatures. *FEBS Lett.* 362, 235–238.
  23. Sonoike, K. (1996b) Degradation of *psaB* gene product, the reaction center subunit of photosystem I, is caused during photoinhibition of photosystem I: possible involvement of active oxygen species. *Plant Sci.* 115, 157–164.
  24. Takagi, D., Takumi, S., Hashiguchi, M., Sejima, T. and Miyake, C. (2016) Superoxide and singlet oxygen produced within the thylakoid membranes both cause photosystem I photoinhibition. *Plant Physiol.* 171, 1626–1634.
  25. Goss, R. and Lepetit, B. (2015) Biodiversity of NPQ. *J. Plant Physiol.* 172, 13–32.
  26. Tikhonov, A.N. (2013) The cytochrome *b<sub>6</sub>f* complex at the crossroad of photosynthetic electron transport pathways. *Plant Physiol. Biochem.* 81, 163–183.
  27. Miyake, C. (2010) Alternative electron flows (water-water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: molecular mechanisms and physiological functions. *Plant Cell Physiol.* 51, 1951–63.
  28. Shikanai, T. (2014) Central role of cyclic electron transport around photosystem I in the regulation of photosynthesis. *Curr. Opin. Biotechnol.* 26, 25–30.
  29. Asada, K. (2000) The water-water cycle as

- alternative photon and electron sinks. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 355, 1419–1431.
30. Sejima, T., Takagi, D., Fukayama, H., Makino, A. and Miyake, C. (2014) Repetitive short-pulse light mainly inactivates photosystem I in sunflower leaves. *Plant Cell Physiol.* 55, 1184–1193.
  31. Göhre, V., Jones, A.M.E., Sklenář, J., Robatzek, S. and Weber, A.P.M. (2012) Molecular crosstalk between PAMP-triggered immunity and photosynthesis. *Mol. Plant Microbe Interact.* 25, 1083–1092.
  32. Bukhov, N.G., Heber, U., Wiese, C. and Shuvalov, V.A. (2001) Energy dissipation in photosynthesis: Does the quenching of chlorophyll fluorescence originate from antenna complexes of photosystem II or from the reaction center? *Planta* 212, 749–758.
  33. Rochaix, J.D., Lemeille, S., Shapiguzov, A., Samol, I., Fucile, G., Willig, A. and Goldschmidt-Clermont, M. (2012) Protein kinases and phosphatases involved in the acclimation of the photosynthetic apparatus to a changing light environment. *Philos. Trans. R. Soc. B-Biological. Sci.* 367, 3466–3474.
  34. Tiwari, A., Mamedov, F. and Grieco, M., Suorsa, M., Jajoo, A., Styring, S., Tikkanen, M. and Aro, E.M. (2016) Photodamage of iron–sulphur clusters in photosystem I induces non-photochemical energy dissipation. *Nat. Plants* doi: 10.1038/nplants.2016.35
  35. Labs, M., Rühle, T. and Leister, D. (2016) The antimycin A-sensitive pathway of cyclic electron flow: from 1963 to 2015. *Photosynth. Res.* 1-8. doi: 10.1007/s11120-016-0217-2
  36. Shikanai, T. (2016) Chloroplast NDH: A different enzyme with a structure similar to that of respiratory NADH dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1857, 1015–1022.
  37. Yamori, W., Makino, A., Shikanai, T. (2016) A physiological role of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis under fluctuating light in rice. *Sci. Rep.* 6, 20147.
  38. Kono, M. and Terashima, I. (2016) Elucidation of Photoprotective Mechanisms of PSI Against Fluctuating Light photoinhibition. *Plant Cell Physiol.* 57, 1405–1414.
  39. Jones, L.W. and Kok, B. (1966b) Photoinhibition of Chloroplast Reactions. II. Multiple Effects. *Plant Physiol.* 41, 1044–1049.

## Fluctuating Light-Induced PSI Photoinhibition: The Inhibition and Photoprotective Mechanisms

Masaru Kono\* and Ichiro Terashima

Graduate School of Science, The University of Tokyo

## 解説

## 色素体細胞内共生説の源流：メレシコフスキー論文の紹介と再評価

東京大学 大学院総合文化研究科  
佐藤 直樹\*

色素体の細胞内共生説の歴史は古く、100年以上も前に遡る。ここでは、共生説を最初に提唱したとされるメレシコフスキーの1905年の論文の全訳を紹介し、当時の根拠を見直しながら、その後の共生説の展開を振り返る。安易にマーギュリスを引用するのではなく、共生説とはどんな説なのか、改めて考える機会を提供したい。

## 1. はじめに

今日、細胞内共生説を話題にするときには、決まってマーギュリスの1970年の著書 *Origin of Eukaryotic Cells*<sup>1)</sup>を引用するのが通例となっているが、この本を実際に読んだ人がどれほどいるのだろうか。また、色素体の細胞内共生説に関して、マーギュリスの貢献が果たしてどの程度あったのだろうか。マーギュリスの著書やこれに先立つ論文<sup>2)</sup>は、むしろ細胞分裂のしくみに対する膨大な思弁的考察から始まっており、現在では無視される鞭毛の起源も含めた細胞分裂様式の進化が、むしろマーギュリス説の本筋である。マーギュリス自身は、色素体の共生起源がすでに自明であるとの態度で紹介しており、その主な論拠は、葉緑体にDNAが存在するというRis and Plaut (1962)<sup>3)</sup>の報告などである(本稿では、主に歴史的な話題を扱うため、著者と年号を明記しながら、文献を引用することにする)。実はその論文では、メレシコフスキーの1905年の論文<sup>4,5)</sup>と、ファミンツインの1907年の論文<sup>6)</sup>が引用されている。マーギュリスは、それらを批判的に紹介したウィルソンの1925年の教科書<sup>7)</sup>を出典としてあげているのみであり、その時点では原典を読んだようには思われない。確かにDNAの発見は色素体の共生起源説にとって重要なものではあったが、まだ遺伝子を塩基配列で理解する時代ではなく、単なるDNAの存在という事実が果たしてどれだけ決定

的な意味を持ち得たのか、現在とはだいぶ事情が異なることも考慮しなければならない。

では、最初に細胞内共生説を提唱した元の論文には何が書かれていたのだろうか。すでにMartinとKowallikの努力により、英訳<sup>8)</sup>が紹介されているが、実質的に逐語訳であり、日本の若い読者が読んでも意味がわかりにくい。また、Archibald (2015)<sup>9)</sup>には、これも含めた細胞内共生説の歴史の詳しい解説がある。本稿では、色素体の細胞内共生説を最初に提案したロシアの学者メレシコフスキーの1905年の論文<sup>4,5)</sup>を平易な日本語で紹介することにより、日本光合成学会の会員のみならず、日本の若い植物研究者にも広く、この問題を考えてもらう機会を提供したい。これらの論文の後にも長編の論文があるが、これらが一番はっきりと仮説を説明しているだけでなく、今日知られている三種類の一次共生と二次共生の一つが出てくるのも興味深い。なお、論文<sup>4)</sup>が本体で、論文<sup>5)</sup>は校正ができなかったことを修正する論文である。ここでは、修正内容はすべて本文に反映させた上で、修正論文についても簡単に内容を紹介する。1905年は日露戦争の最中であり、校正ができなかったというの、戦争の混乱が関係しているのかもしれない。

翻訳はドイツ語原文から行い、一部意味不明瞭な点については英訳も参照したが、あまり参考にはならなかった。当該論文が掲載されている雑誌名 *Biologisches Zentralblatt* は、当時の生物学の総合研究誌として最も主要な一流誌である。綴りと

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

して、Centralblatt も使われ、引用の際にも両方の表記がある。20 世紀初頭の文章であるため、学術用語が現代のものとは異なる。誤解を招く恐れがある場合には、[ ] 内に注釈をつけた。また、原文の注釈はページごとに 1) のように示されているが、本稿では [1] のようにして、引用文献と区別した。ドイツ語では一字空けにより強調を表現するが、訳では下線とした。必要に応じて原語を示したが、名詞は単数・主格として、動詞は不定法で表記した。昔の論文では、引用文献の形式がかなり粗雑であることもお断りしておく。

いくつかの語彙について説明しておく。

- 器官：原語では *Organ* であり、オルガネラを意味するようにも見えるが、本文を読むと、人体の器官と同様の使い方であるので、器官と訳した。
- 色素体：原語では *Chromatophore* であり、字義通り色素体となる。シンパーをはじめとする当時の植物学者は、葉緑体、白色体、有色体などを含む一般名として *Chromatophore* を使っていた。今日色素体と訳される *Plastid* は当時も使われていたが、原色素体の意味で使われているケースがあるものの、使い分けがあまり明瞭ではない。どちらも色素体と訳し、括弧書きで両者が併記されている場合も、単に色素体とした。
- 動物寄生クロレラ：原語は *Zoochlorella* であるが、共生クロレラなどとも呼ばれる。*Zooxanthelle* には褐虫藻という適訳がある。
- クロロフィル：すでに *Pelletier and Caventou* (1817)<sup>10)</sup> により葉の緑色色素として性質が調べられ、命名されていたが、物質として単離され、化学構造が決定されるのは、後のことであるため、単に緑色色素という意味で使われている。

## 2. メレシコフスキー論文の全訳

### 植物界における色素体の本質と起源 について

コンスタンティン・メレシコフスキー  
カザン帝国大学 私講師

#### I. 序

現在支配的な考え方によれば、植物の色素体は器官と考えられており、すなわち、我々にわからない何らかの仕方で、無色の原形質 *Plasma* からしだいに分化してくる構造体である。*Wilson* (1902) はこう述べている。「植物の色素体はほぼ確実に原形質の物質が分化したものと見なされる。」そしてこうした考え方は、植物学のほとんどの教科書にも、しばしばきわめて明確に表現されている。

こうした見方が直接的観察に基づく事実では決してなく、それどころか一つの説としか見なされ得ないことは、自ずから明らかである。なぜなら、そのような無色の原形質から緑色の色素体が分化したり、一般的に色素体が分化したりするのを観察することには、現在まで一度も成功していないからである。

そもそものようにしてこうした一般的な確信が生まれたのかという疑問に対しては、もともとクロロフィルを全く含まない植物の無色の部分が、後に光のもとで容易に緑化するという、古くから知られた事実により、ごく自然に説明ができる。たとえば、芽生えの先端の無色の組織（成長点）や、胚の組織や、地下の根茎などが緑化する場合である。これらあらゆる事実から、それぞれの場合に疑いもなく、クロロフィルが新規に作られることがわかる。

クロロフィルが新たに生成するため、クロロフィルを含む構造である色素体もまた新規に生成することが、ごく当たり前のこととして認められなければならないようになった。

ところで *Schimper* (1885) が色素体についてのその古典的な著書で証明しているように、クロロフィルがそれぞれの場合に新規に生成されるとしても、それを含む構造体である色素体は植物の

無色の部分にはじめからすでに小さな無色の白色体として存在しており、言い換えれば、色素体は新規に生成することはないのであるから、古い説には根拠がない。葉緑体が分化の産物、つまり細胞の器官であると見なす習慣は深く根付いており、すでに完全に空中を漂って消えかけているこうした説が、シンパーの発見の後にも、いつまでも正しいかのようにみなされている。

現在こうした見方を支持する理由を問いただしても、だれも答えられない。それも不思議はない。何も理由はないのだから。

色素体が無色の原形質から分化したものではなく、無色の白色体として最初からずっと存在していたということは、証明され、一般に認められた事実なのである。色素体が器官であるという説の支持者はしたがって、今日の色素体が新規に生成しないとしても、かつて原形質から色素体を分化させる能力を細胞がもっていたことがあり、その後色素体が分裂によって増殖することで途切れない連続性を保ってきており、今日の色素体がこうした始原色素体 *Urchromatophore* の直接の子孫であるという仮説に逃げ道を求めることになる。このような形で、色素体分化説には救いが残っている。しかしこれは、今日なお色素体分化が続いているという全く根拠のない説を、過去に分化が起きたという説で置き換えているだけである [ここでいう「色素体の分化」は、細胞質から新規にできることを意味しており、現在使われる原色素体から葉緑体が分化するというような意味ではないので注意]。

こうした仮説は、以下の二つの理由からまったく不十分なものである。なによりも、かつて細胞質から色素体を生み出す能力をもっていた細胞<sup>[1]</sup>が、今日その能力を完全に失ったという理由がわからない。

しかし、こうした仮説が受け入れられない主な理由は、それが論理的に誤っているからである。色素体の本質についてのこのような見方を支持しようとするのは、生殖についての正しい考え方をもっていないことを同時に示すことになる。こうした見方の支持者がどのような主張をしているのだろうか。彼らは色素体が細胞の器官である

と主張しているのである。

しかし器官とはどういう意味だろうか。

器官とは、ある特定の機能的目的のために特別にある、生物の特定の部分であり、毎回、自然に（個体発生的に）または外的な影響により、胚種原形質 *Keimplasma* に隠れて存在していた構造から新規に生成する。このような意味で、目や心臓や葉は、器官である。同様に、微生物の繊毛、仮導管の境界壁孔 *Hoftüpfel*、着生ケイ藻の柄 *Stiele* も器官である。しかし、胚種原形質に起源をもたず、世代間で直接受け渡される連続的なものは、器官とは言えない。上に述べたような器官の概念の定義をしっかりともっていなければ、言葉と思想の混乱にやむなく迷い込み、誤った結論に導かれてしまうのである。

ここで、細胞質 *Zellplasma* [*Zell* があるときには細胞質と訳す] から色素体を分化させる能力をもった古代の細胞を考えてみよう。しかしこうした能力は一度も生じたことがない。むしろ、色素体を世代から世代にわたり次第に作り上げる能力があったと認めなければならない。しかしそうすると、この過程が実現するためには、原形質 *Protoplasma* [ここだけこの言葉が使われている] がもつ分化能力が遺伝するものでなければならなくなる。なぜなら、このようにして初めて、その能力の形成過程のそれぞれの段階から新たな段階が実現できるからである。言い換えれば、色素体が事実上細胞質から分化できる場合には、遺伝するものになっていなければならない。

遺伝するとはどういうことだろうか。すなわち、器官が遺伝する場合、遺伝的素質 *Determinant* など何らかの物質の形で潜在的に胚種原形質に含まれていて、それが子孫の細胞に伝えられたときに、再び器官を作るもとになることができる、ということである。そしてひとたび何らかの形質つまり器官 [この言葉の言い換えは、「器官を作るという形質」を意図した意味と思われる] が胚種原形質に含まれているならば、その器官は世代ごとに胚種原形質の構造の必然的な結果として自然に出現する。したがって、細胞質の部分から色素体が分化することが過去のあるときにできたのなら、植物のどの細胞でも、あるいは少なくとも

も卵や花粉では、細胞質から色素体が分化することが今でも起きるはずである。もしもそういうことが起きないのなら、これは、色素体が原形質から決して自然に生成されたことがないことの、そして、色素体が分化の産物ではないことの確実な証明である。言い換えれば、色素体は器官ではなく、器官であったこともないのである。

しかし、色素体が器官ではなく、器官であったこともないのであれば、ただ一つの可能性が残る。それは、色素体が生物、つまり共生体と考えられるということである。こうして我々は、純粋な演繹的推論によって、このような結論に到達した。今度は帰納的方法に転じてみよう。

すでに述べたように、事実に基づいて色素体が器官であることを示す根拠はまったくない。それでは、色素体を共生体と見なす何らかの根拠があるのかどうか検討してみよう。

## II. 色素体を共生体と見なす根拠

こうして、色素体は細胞質から徐々に分化形成された器官ではない。それは無色の原形質に持ち込まれ、その細胞と共生関係になった外来性のものであり、外来性の生物である。このような考えを正当化する根拠は、以下のようなものである。

### 1. 色素体の連続性

すでに述べたように、色素体は決して新規に形成されることはなく、すでに存在している色素体の分裂によって生まれ、その色素体もまた、すでに存在していたものから生ずるということで、つまり我々は、ある論理的に必然的な結論に到達する。それは、最初の色素体が無色の生物に移住した *einwandern* ということである。言い換えれば、色素体のこのような連続性は、それが外来性のもので、つまり共生体であることの直接的証明になる。

そこで、こうした連続性は十分に証明されたものなのかという疑問が浮かぶ。この命題 *Satz* が正しいのかを疑う声も確かにときおり聞かれる。Schimper が無色の色素体 (白色体) の存在を卵細胞で観察したのはごく少数の被子植物だけではなく、本当にこの事実を確実なものにするには、多数の試料について同様の観察をするべきだ

という批判もときおりある。しかしこうした懐疑論は正しくない。実際、色のある [緑色の] 色素体をもつ配偶子、さまざまな緑藻、褐藻、紅藻の卵細胞、さらにケイ藻の増大胞子 *Auxospore*、接合藻類の接合胞子、また色のある色素体を含むあらゆる同型遊走子 *Isospore* や遊走子 *Zoospore*、とくにコケ植物やシダ植物の胞子がみな緑色であって色素体を含むという数多くの例などを考慮すると、色素体が世代から世代に直接受け渡されており、その連続性についてもはや疑いの余地がないという膨大な数の事実を手に行っているのである。

疑う気になれば結局何でも疑える。しかし色素体の連続性を疑うことは、すべての緑色の葉が二酸化炭素を同化する能力をもつのかを疑うのと同じくらい正しくないであろう。というのは、色素体の連続性を直接観察できる例とほぼ同じくらいの数の緑色植物についてしか、同化能力は実験的に証明されていないはずだからである。

### 2. 色素体をもつ細胞核からの高度な独立性

多くの研究によって、核が細胞で行われる構成的・代謝的現象の中心と見なされることが確立している。もしも何らかの仕方で核を細胞から取り除くと、あらゆる合成的・形態的現象は消滅する。有孔虫であれば殻が、植物であれば細胞膜 [細胞壁を指す] が、微生物であれば繊毛が、もはや形成できなくなり、アメーバの食胞は、全然かごく不完全にしか消化できなくなる<sup>[2]</sup>。除核原形質では、運動、呼吸など分解的代謝現象だけがおこる。したがってこれらの観察が示すのは、核のない原形質は物質を合成することができなくなることで、それとともに、細胞内のあらゆる器官は化学的にも形態的にも核に依存しているということである。こうした化学的・形態的という二種類の現象は、密接に結びついている。なぜならクロード・ベルナルが明確に述べたとおり、形態的現象は、その基礎にある化学的現象の目に見える表れ以外の何物でもないからである。そしてそのために、除核原形質では物質合成も形態的合成もできない。

この法則に対する明白な例外こそが色素体で

ある。原形質分離によって緑色細胞の原形質の一部をくびりとると、それは核のない状態になるが、そこにある色素体は、核のある部分にあるものと同様に、ごく普通に生存する(Klebs 1887)。それは成長し、分裂により増殖し、二酸化炭素を同化し、デンプン粒を合成する(まず糖をつくる)。一言で言うならば、色素体は核に依存する器官としてではなく、全く自律的な生物のようにふるまう。原形質の外にあってさえ、色素体はしばらくの間生き続け、バクテリア法[光合成で酸素が発生するところに好気性細菌があつまることを利用した昔の実験法]で容易に証明されるように、二酸化炭素を同化する。Chodat と Bach (1904)が示したように、オキシゲナーゼやその他の酵素は、核ではなく白色体に存在する。脂質合成は植物界では頻繁に見られる現象であるが、色素体は細胞質に存在するのは全く異なる特別な脂質を合成する。Schimper (前掲書 p195)は、「色素体と細胞質(これは核に依存している:メレシコフスキー)では異なる化学的過程が行われているという、もう一つの証明」と述べている[引用ページは正しくは 188 ページ。シンパーは、デンプン、色素の合成と並んで、細胞質のものとは異なるアルコール可溶性の油滴(今日のプラスチックグロビュール)の合成を色素体の特徴とした]。

こうして色素体は核とは独立に成長し、増殖し、物質をつくる合成経路をもつ。つまりこうしたことから、色素体は器官というよりは独立した生物としてふるまい、したがって、独立した生物あるいは共生体と見なすべきものである。

### 3. 色素体と動物寄生クロレラとの完全な類似

色素体は動物寄生クロレラと完全な類似性を示す。

*Amoeba viridis* Leydy という微生物を観察すると、そこに含まれる動物寄生クロレラと何らかの緑藻の色素体との間には全く目立った違いはないことがわかる。どちらの場合にも、問題のものは核とは独立しており、成長し、分裂し、自立した生物のように振る舞う。動物寄生クロレラは動物組織から新規に作られることはなく、他のす

に存在している個体の分裂によって生じる。この類似はさらに拡張でき、*Hydra viridis* の場合、この構造体 *Gebilde* がすでに親細胞の卵にも見いだされ、卵を通じてある世代から次の世代へと伝達される。こうしてこの場合、前に色素体において見られたのと同じような動物寄生クロレラや褐虫藻の連続性が見られる。

これほど完全な類似があるので、色素体を、まさに動物寄生クロレラと同様に、無色の細胞と共生関係にある自律的な生物と考えることがきわめてもっともらしくなる。

両者の間の唯一の違いは、動物寄生クロレラが動物細胞の外でも生存して増殖できることで、一方、色素体はやがて死滅してしまう<sup>[3]</sup>。しかしこの相違点は、次のようなことを考えると、上述の類似性に矛盾するものではない。すなわち、色素体が太古の昔からすでに最初の植物細胞の原形質に入り込んでいて、何百万年もの長い時間、特殊な生存環境を経ているのに対し、動物寄生クロレラは比較的最近、微生物やヒドラ、カイメンなどの動物との共生関係に入ったもので、近縁種でもクロレラを持っているものと持っていないものがあるということがあるくらいだからである。したがって色素体が自律的に生存する能力をずっと以前に失っていても不思議はない。

### 4. 独立生活をする色素体と見なすことのできる生物も存在する

ここで提案する説は、共生体と似ていながら自由生活をしている何らかの生物の存在を示すことができれば、よりもっともらしくなるだろう。ここで、藍藻の下等な種をそうした生物と見なすことができる。というのは、色素体と *Aphanocapsa* や *Microcystis* といった藍藻 *Cyanophyceae* [現在は原核生物であるシアノバクテリア。真核・原核の区別が導入されたのは後のエドゥアール・シャットンによる] との間の違いはごくわずかで、以下の表のようにまとめられる。

この表からわかるように、これら二つの構造体の間の類似は顕著に大きい。わずかな違いは両者が太古の昔から置かれた環境の違いにより十分に説明できる: 藍藻は水中で自由生活をし、色素

藍藻( <i>Aphanocapsa</i> 、 <i>Microcystis</i> など)	色素体
1. 細胞は小さく、均一な緑色で、球形または卵形、きわめて単純な構造をもつ <sup>[4]</sup> 。	1. 小さく、緑色(元来は <i>Cyanomonas</i> のように青緑色)で、球形または卵形の形をしており、単純な構造をもつ。
2. 緑色色素は均質に原形質に分布、または非常に小さな水滴状の構造に分布している <sup>[5]</sup> 。	2. 緑色色素は均質にストロマに分布、または非常に小さな水滴状の構造に分布している。
(改訂前の記述)	
3. 真正な核は含まれないが、核の前駆体のように見える一定の構造(核様体 <i>Nucleinkörper</i> ) だけがある。	3. 真正な核は含まれないが、変化した原始的な核と思われる一定の構造(ピレノイド) だけがある。
3. 真正な核は含まれないが、無色の中心集塊 <i>Zentralmasse</i> だけがあり、見えない小さな染色体がおそらく含まれている。	3. 真正な核は含まれないが、ときおり、無色の中央集塊(ピレノイド) だけがあり、これは藍藻の中央集塊に対応するように見える。
(改訂前の記述)	
4. 栄養: 光のもとで二酸化炭素の同化。	4. 栄養: 光のもとで二酸化炭素の同化。
4. 栄養: 光のもとで二酸化炭素の同化。タンパク質の合成。	4. 栄養: 光のもとで二酸化炭素の同化。タンパク質の合成。
5. 増殖: 分裂による。	5. 増殖: 分裂による。

体は細胞質に埋め込まれている。

共生という特殊化した生活条件のもとで、自由生活生物とは異なり、外膜[細胞壁のこと]はもはや必要なくなり、そのために失われてしまった。*Microcystis* や *Aphanocapsa* などの藍藻に存在して、未発達な核構造を思わせる核様体 *Nucleinkörper* [この部分の記述は、3項の改訂によりあてはまらなくなっている]は、時間とともにピレノイドに変化した。さらに最終的には高等植物において不要になり、消失した。色素の性質も多少変化し、原形質の影響で、純粋な緑色になった<sup>[6]</sup>。知られているように、藍藻では色素の色の変化はごくわずかである(Gerassimoff 1902)。

両者の外見、構造、繁殖などが大いに似ている点で、色素体が原形質に取り込まれた藍藻であることは、きわめてもったらしい。そのほかの色素体(白色体と有色体)も変化した色素体(葉緑体)と考えられるという Schimper の説は十分に証明されている。

##### 5. 藍藻が事実上、細胞質で共生体として生きている

色素体が器官ではなく細胞に入り込んだ外来生物と見なされることには十分な根拠があるこ

とを、我々は見えてきた(1項と2項)。さらに色素体は、その挙動において、確実に外来生物である動物寄生クロレラと完全な類似を示した。最後に、ほぼ確実に色素体の自由生活性の祖先と見なされる生物が自然界には存在する(下等な藍藻[単細胞性の藍藻]) ことを見た。我々の説が全面的かつ根本的に支持されたものと見なされるために、今や我々は、証明の鎖の環をもう一つ付け加えなければならない。すなわち、もう一つ残ったのは、実際に藍藻が細胞質に入り込み、そこで共生体として生き延びられることを示すことである。

そうした事実は今や確かに知られている。一つの例は、根足虫類 *Rhizopod* の *Paulinella chromatophora* (Lauterborn 1895)であり、そこでは藍藻が寄生している。この藍藻の緑青(ろくしょう)色 *spangrüne Farbe* が緑色に変化したとすれば、本当の色素体と思うだろう。これと似た例が *Cyanomonas americana* Davis (Davis 1894)であり、これは青緑色の構造物をもつべん毛藻である。最後に挙げるのは、藍藻の驚くべき例で、*Rhizosolenia styliformis* というケイ藻と共生している *Richelia intercellularis* Schm.である(Ostenfeld & Schmidt 1901)。この藍藻が、全面をシリカの殻

で覆われたケイ藻の原形質にどのようにして入り込むことができたのかはわからない(たぶん、胞子の段階でだろう)。しかしこうした事実は、いかに容易に、藍藻が細胞膜〔細胞壁〕で囲まれた細胞に入り込んで共生できるのかを示している。

### III. 共生説の意義

ここで展開した説は、私には大きな意義を持つと思われ、特に二つの方向の意義がある。

A. この説から出発することによってこそ、植物界の起源と系統を正しく理解することが可能になる。

1. この説によれば、植物細胞は藍藻が入り込んだ動物細胞に他ならない。したがって、植物界は動物界から派生したものである。始原植物は、藍藻が入り込んだアメーバかべん毛虫のようなものに他ならない。

2. さまざまな藍藻がさまざまなアメーバやべん毛虫に入り込む過程は、繰り返し起きた(より新しい時代に動物寄生クロレラや褐虫藻が入り込んだように)ので、植物界の起源は高度に多系統である。

3. 藍藻には緑色、黄色、紅色のものがあるので、藍藻の直接の祖先に細菌がいるように、植物界の三大系統である緑藻、褐藻、紅藻が、互いに独立の起源をもつと思われる。実際に我々は、緑色と黄色と紅色のべん毛藻を知っており、これらのべん毛藻からより高等な植物が進化したと考えることに、もはや誰も疑いをもたない。遊走子や配偶子は、精子も含め、まさにこうしたべん毛藻ステージを表している。その後の植物界の進化において、このようなべん毛をもった形態が支配的なステージはますます抑制されていき、それまでほとんど目立たなかった栄養ステージ(持続する細胞)が前面に現れた。

藍藻と動物細胞との二者共生の起源に関する問題の説明については保留し、今後の報告としたい。

ここではごく簡単にこのことだけを述べておきたい。すなわち、地球上の生命はおそらく多系

統の起源をもち、なかでも、二度にわたって生じたと私は確信している。一度目は、地球の表面がまだ高温の水で覆われていた時に、極小細菌の形で生じ、そこからマイクロコッカス〔現在の *Micrococcus* とは別の一般的な名称と思われる〕やさらにその他の細菌、さらに藍藻(側系統として)、ついには真正の菌類(Phycomycetesを除く)を生み出した。次に二度目は、すでに水が冷たくなり、有機栄養分が存在するようになってからである。今度は、実にさまざまなアメーバ様の原形質(小さなモネラの形をもつ)が、細胞質と相同なものとして出現した。この中に小さなマイクロコッカスが入って共生し、細胞核(染色体?)を作り出した。この動物細胞を、単純な共生体と考えることができる(細胞質と核=マイクロコッカス)。植物細胞は二重の共生である(動物細胞と藍藻)。しかし私は、動物界と植物界の他に、両者とは異なる第三の特別な生物界として菌類界を区別することにする。というのは、菌類においては、*Bacillus Bütschlii*〔原文のまま〕において観察される機会があったように(Schaudinn 1902)、核が分化の産物として形成されるからである〔Fritz Schaudinn の報告の原論文は参照できなかったが、引用している文献によると、この細菌は 20 μm 以上の長さをもつ巨大菌として発見され、内生胞子をつくる。発芽すると、細胞分裂の途中で顆粒状の染色体(?)が現れ、長軸方向に伸びたらせん状の糸のまわりに集合し最後に両極に分離する〕。

B. 共生説はあらゆる種類の植物についてのより深い理解をもたらす。植物を特徴づけ、動物と区別する特性は、この説に照らしてみるならば、二酸化炭素を同化する藍藻と動物細胞との共生の当然の帰結であることがわかる。

植物と動物とを区別するものは何だろうか?

1. 植物細胞は堅いセルロースの膜〔細胞壁〕をもつが、動物はそうしたものをもたない。

2. 動物細胞は有機栄養を利用し、それを堅い粒子の形で摂取することができる。植物細胞は液体・気体の栄養を摂取し、すでにできた有機物を利用しない。

3. 植物には筋肉も神経もなく、そのため心的

生活 psychisches Leben [精神活動] をもたず、本質的に受動的である。動物は最高度に能動的である。

現在支配的な説、すなわち、色素体が無色の細胞から生じた分化の産物であるという説の立場からは、生物界の進化がなぜ、どのようにして、動物界と植物界という、これほど根本的に異なる二つの方向に分かれてしまったのかを理解するのは難しいであろう。

さまざまな特性をもった植物界が形成されたという問題は、藍藻の進入によって、容易にまた明確に解決される。上述の三つの相違点の第一は、藍藻の進入の当然の帰結と見なされる。その他の点も、一つのことから別のことがきわめて論理的に生み出されるように、この第一の点から得られる。それは以下の考察から容易にわかる。

1. 色素体は二酸化炭素を同化し炭水化物を合成することができ、炭水化物は容易にセルロースへと重合する。そのため、植物細胞は堅いセルロース膜をもっている。これは、動物の外骨格や内骨格に代わる役割をもつ強い膨圧を細胞内に形成することを可能にし、またそれが有利にも働く。

2. 堅い細胞外皮は、逆に、堅い栄養物を摂取することを不可能にする。そのため植物細胞は、水に溶ける物質、すなわち結局はほとんど無機的な性質のものから栄養をとるようになった。

3. 植物細胞はなんらの努力をすることなく、色素体がすすんで供給してくれる大量のできあがった有機栄養（炭水化物およびタンパク質）により養われている。それらのおかげで、植物細胞は、有機栄養を得るために動物細胞が行うあらゆる努力をしなくて済んでいる。このようにして、植物界の受動的で静的な性質が生じたが、それとともに、筋肉や神経組織がなく、したがって心的生活ももたないことになった。

泉のそばの岸辺に静かに生えている椰子の木と、そのそばの茂みに身を隠しているライオンを想像してみよう。ライオンは筋肉を緊張させ、その目は血に飢え、カモシカに飛びかかって餌食にする準備ができています。これらのイメージの最も深い神秘にまで入り込み、椰子とライオンというまったく異なる二つの現象を生み出した根本原

因を推量し、理解することを可能にするのは、共生説だけである。椰子の木はとても静かに受動的に振る舞うが、それは共生体だからであり、自分のために働き栄養分を与えてくれる、小さな多数の労働者、つまり緑の奴隷たち（色素体）をもっているからである。ライオンは自ら栄養分を得なければならぬ。

もしもライオンの細胞のそれぞれに色素体を満たしたとすると、ライオンも直ちに椰子の木のそばで静かに横たわるであろうし、そのとき、ライオンは満足に感じているか、せいぜいミネラル分を含んだ水を求めているだけであろう。

## 原注

[1] こうした能力を始原細胞 *Urzelle* 一般に認めようとする理由もない。

[2] しかし Gruber (1904) を参照のこと。彼は *Amoeba viridis* のカビの感染により核が消失した個体において、それでも緑藻をとりこみ、見たところ普通に消化するようすが見られたと述べている。それはそれ以前に Dangeard (1894/5) によって観察されたのとほぼ同様だった。

[3] この問題に熱心に取り組んでおり、私と同時に色素体の自律的性質を確信するに至ったと伝えられる Famintzin 教授によると、動物寄生クロレラについて以前に行われた(1889)ようには、色素体を細胞の外で育てることは、これまで成功していない。

[4] 私の考えでは、藍藻に色素体があるということは聞いたことがない。むしろそれ自体が色素体である。というのも、植物細胞なら細胞質で占められているはずの原形質の最外層も、他と同じように着色しており、薄い透明な外層がときおり識別できる場合にも、これはむしろ細菌の細胞膜 [細菌の厚い細胞壁?] に相同なものである。Kohl (1903) によって色素体と考えられた小さな緑色の水滴状のものは、我々から見ると、色素体の中に色素体があると述べていることにしかない。というのは、A. Meyer (1895) によってまさしく明確に指摘されたように、高等植物でもそうした緑色の水滴状のものが無色のストロマに埋め込まれているからである。

[5] これらのグループの高等なものは、Kohl、Olive、Philipps らの研究により、たしかに真正な核が確認されている。

[6] 色素体が元来は青緑色であっただろうということは、*Cyanomonas americana* の例で示される。詳細は後述。純粋な緑色の藍藻がないということも、これを確からしくしている。

### 文献 (ほぼ原文のまま)

- Chodat et Bach, Botanische Centralblatt 1904.  
Dangeard, Le Botaniste 1894,5.  
Davis, Oltmanns' Morphologie und Biologie der Algen 1904.  
Famintzin, Beitrag zur Symbiose von Algen und Tieren. Mémoires de l'Académie des Sciences de St. Pétersbourg. vol. 36, No. 16, 1889.  
Gruber, Über *Amoeba viridis*. Zeitschrift für Morphologie und Systematik, 1904.  
Klebs, Untersuchungen aus dem botanische Institut zu Tübingen, vol. 2, 1887.  
Kohl, Untersuchungen über Bau und Kernteilungen der Cyanophyceen, 1903.  
Lauterborn, Protozoenstudien. Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie, vol. 59, 1895.  
Meyer, A. Untersuchungen über die Stärkekörper. Jena, 1895.  
Mereschkowsky. Loi de translation des stades. Journal de Botanique, 1903.  
Ostenfeld og J. Schmidt, Plankton from the Red Sea and the Gulf of Aden, Vidensk. Meddel. fra den naturh. Forening in Kbhvn. 1901.  
Schaudinn, Archiv für Protistenkund 1902.  
Schimper, Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, vol. 16, 1885.  
Wilson, The cellule, 1902.  
(修正における文献の追加)  
Famintzin, A., Über Chlorophyllkörper der Samen und Keimlinge. Mélanges biologiques. vol. 13. St. Petersburg 1893.  
Fischer, A., Die Zelle der Cyanophyceen. Botanische Zeitung 1905.

### 3. 追補<sup>5)</sup>の全訳

標記論文を雑誌編集部に送ったすぐあとに、藍藻の構造に関する A. Fischer (1905)の重要な研究を入手し、ここで私の論文に対する注記を追加する必要がでてきた。

同時にまた、論文に見いだされたいくつかの誤りや不正確な点を修正する機会が必要となった。本来それらは校正の段階で行うつもりであったが、不幸にしてそれができなかった。そのため、たとえば文献リストが不完全で、不正確な部分もあった<sup>[7]</sup>。

まず Fischer (1905)の新たな研究では、永らく

問題となっていた藍藻における核と染色体の存在が、明確に、完全に疑いなく最終的に否定された。このような状況のため、藍藻と色素体を比較した箇所、つまり 600 ページの第 3 項を以下のように変更することが必要になった[すでに本文中で変更済みなので、ここでは省略]。

同時に第 4 項も以下のように変更したい[ここでは省略]。

色素体がタンパク質合成という性質をもつと私が考える根拠については、次の論文で明らかにしたい<sup>[8]</sup>。

色素体の連続性の問題に関しては、以下のようなコメントを述べたい。あらゆる種子植物は、その色素体をすでに種子の中に格納して準備しているが、色素体は無色であり、後になって緑化する。この重要な事実は、シンパーの後も長いこと論争が行われており、ザックス、ハーバーラント、ミコッシュ、ベルツングなどの多くの観察者は、成熟した種子に色素体は存在せず、発芽の際に無色の原形質から直接新規に形成されるという意見である。A. Famintzin (1893)の基礎的研究により初めて次のことが証明された。1. 成熟種子には、小さく収縮した形で色素体が存在すること 2. もっぱら、これらの色素体から芽生えの色素体が成長する。我々はこれらの事実を、色素体の途切れない連続性の仮定に対する、新たな価値あるサポートと考える。

印刷の修正と文献の追加 [本稿では省略し、本文に反映させた]

[7] 論文を送った段階では、Oltmanns の著書のタイトルが手許になかったため、曖昧なまま記載し、校正の段階で修正するつもりだった。同時にまた、Famintzin 教授のもう一つの論文も、ここで扱っている問題にとって、より重要なので、引用するはずだった。

[8] 色素体をもつ生物 (緑色植物) は、タンパク質を合成する。色素体をもたない生物 (動物) は、タンパク質を栄養として必要とする。色素体においてしばしば見られるタンパク質の結晶。同化組織において推定されるタンパク質の生成 (緑色細胞において)。

#### 4. 解説

蛇足ながら、簡単にコメントを加えておきたい。

(1) 著者のメレシコフスキー (1855-1921) については、参考となる資料が少ないが、論文<sup>11)</sup>にはかなり詳しく紹介され、完全な論文リストも掲載されている。彼は当時ロシア帝国領だったワルシャワの生まれで、1875年からサンクトペテルブルク大学で動物学を学び、しばしば調査に出かけて新種の原生動物を発見した (1880年卒業)。しばらく研究助手をし、また、パリ、ロスコフ、ベルリンなどの研究所も訪れ、ベルリンではフィルヒョウに会っている。人類学にも関心を示し、動物色素の研究で、1883年に私講師となった。その後クリミアなど各地を転々としながら研究を続けた。さらに1898年から4年間カリフォルニアにわたり、ケイ藻の分類などの研究を続けた。1902年、カザン帝国大学の博物館職員となり、1903年にケイ藻の研究で植物学の修士号を得た。1904年、植物学の私講師となり、地衣類の研究から共生の問題に入った、1906年、植物学の博士号取得、1908年植物学の特任教授となる。しかし1914年に性的な不祥事で退職し、ニースを経てジュネーブに移住。その後、唯心論、宇宙論に関心をもち (本文 III にもそのことがすでに表れている) が、病気になり自殺した。何度も外国に行っているのも、不祥事が原因とされる<sup>11)</sup>。

1905年当時、メレシコフスキーはすでに50歳であったが、私講師 *Privatdozent* という身分であった。論文<sup>8)</sup>の見方によれば、その彼が、カザンという田舎大学から、生物学の中心地であるドイツに意欲的な論文を投稿したとされるが、上記のように彼は井の中の蛙であったわけではない。これに対して、ファミンツィン(1835-1918)は首都のサンクトペテルブルク大学の教授であり、すでに1880年代から単離葉緑体を培養する試みをしており、メレシコフスキーの知識のなさを馬鹿にしていたようである<sup>11)</sup>。その後、メレシコフスキーも教授となり、1910年には大部の論文<sup>12)</sup>を、また1920年にも集大成の論文<sup>13)</sup>を発表している。こうした意味では、彼は完全に無視された存在ではなかったようである。ただ、Sappらの意見<sup>11)</sup>

では、当時存在したさまざまなデータをうまくまとめ上げて、共生説や生命起源論を作り上げただけとされる。もっともマーギュリスの著書<sup>1)</sup>も、データを集めただけといえいえるので、こうした理論系の業績の評価は難しい。現在、カザン大学のホームページを見ても、卒業生にトルストイやレーニンの名が挙げられているものの、残念ながらメレシコフスキーの名はない。

(2) 色素体については、当時すでに Schimper の立派な研究<sup>14)</sup>があり、多くの色素体の間の比較により、すべての色素体が相同なもので、「色素体は究極的には別の色素体から生じ、決して細胞質から新規合成されることはない」(文献<sup>14)</sup> p. 5)ことが確立していた。また、いくつかの文献で触れられている細胞内共生説への示唆は、1883年の論文<sup>15)</sup>の112-113ページの注釈2)にある。「色素体が卵細胞で新規合成されないことが決定的に証明されているとするならば、色素体とそれを含む生物との関係は、どちらかと言えば、共生を思い起こさせる。ひょっとすると緑色植物は本当に、無色の生物とクロロフィルを均一に含む色素体の祖先との融合によってできたのかもしれない。Reinke (*Allg. Botanik*, p 62)によれば、葉緑体は条件によっては独立して生きることができる。公開を快諾していただいた私信によれば、腐りかけたカボチャにおいて、プレオスポラ (子囊菌の一種) の菌糸に巻きつかれた葉緑体が、死んだ細胞の中で成長し、分裂して増殖する現象を彼は観察した。」ここに書かれている内容は、メレシコフスキーの論文<sup>4)</sup>の内容の一部の内容にきわめて近いことも注目される。なお、シンパーの業績も、日本ではあまり紹介されていないので、いずれ機会を見て、簡単にでも紹介したい。

(3) 細かい点だが、改訂後<sup>5)</sup>に述べられている藍藻細胞内の無色の構造体は、おそらくカルボキシソームと思われる。カルボキシソームとピレノイドはどちらもルビスコをもつという意味で、確かに相同な顆粒ということができるが、核や核様体とは関係がなくなった。

(4) Martin and Kowallik (1999)<sup>8)</sup>でも注目されている、藍藻や色素体のタンパク質合成に関しては、Mereschkowsky (1910)<sup>12)</sup>で展開されている。しか

しその根拠は、原注 [8] にもあるとおり、植物が無機栄養からタンパク質やデンプンをつくり、動物がそれらを使うこと、植物の宿主側細胞部分が動物と同じと見なされること、の二点であり、物質としてのタンパク質合成をとらえた表現ではない。それでもこれは、20世紀後半に色素体と藍藻の類似性を考察する際に、リボソームの存在が挙げられたことに対応する。

(5) DNA が色素体内に存在することを報じた Ris and Plaut (1962)<sup>3)</sup>において Mereschowsky (1905)<sup>4)</sup>と Famintzin (1907)<sup>6)</sup>が引用されている。Margulis (1967)<sup>2)</sup>では、DNA の存在が共生説の主な根拠となっており、色素体に関する限り Ris and Plaut<sup>3)</sup>の受け売りである。Margulis<sup>1,2)</sup>はこれらの著者を正しく引用しておらず、Wilson (1925)<sup>7)</sup>の孫引きのみである。Archibald<sup>9)</sup>には、このほかにも色素体の細胞内共生起源説を述べた著書や論文がいくつも挙げられている。

(6) 現在、色素体のシアノバクテリア起源説は広く信じられているが、ゲノムに相同遺伝子を多数含むこと、類似の遺伝子発現系をもつこと、酸素発生型光合成を行うこと、などの類似点はその根拠となっている。しかし遺伝子発現系に関しては、非常に多くの相違点がある<sup>16)</sup>。また、一時は類似点とされた糖脂質の存在も、現在では合成系が全く別であることがわかり、共生起源説の根拠としては使えなくなっている<sup>17)</sup>。むしろ、酸素発生型光合成をするという共通の性質に引きずられて、このように類似の形質をもつに至った収斂進化に似たケースがどのくらいあるのかも検討する必要がある。改めて、細胞内共生とはどんな現象ととらえるべきなのだろうか。膜などの成分は遺伝しないので、最初に共生したとしても、結局遺伝子だけが伝達されると考えると、水平伝播とはどこが違うのか、ますますわからなくなる。

(7) 面白いことに、II. 5.において共生の実例としてあげられているのは、共生ではなく、いずれも後に詳しく解析されることになる細胞内共生の例である。Paulinella は 1895 年に発見された<sup>18)</sup>が、今では、通常の藻類や植物の葉緑体とは独立した一次共生の例として知られる<sup>19)</sup>。この葉緑体は永らく *Cyanophora* のものと並んでシアネラ

と呼ばれ、共生の実例と見なされてきた。ちなみに *Cyanophora* の発見は遅く、1924 年である<sup>20)</sup>。*Cyanomonas* は現在では *Chroomonas* の一種とされるクリプト藻<sup>21)</sup>であり、青緑色の二次共生藻である。この葉緑体も独立して生活できない。最後のケイ藻の中のシアノバクテリア様構造は spheroid body と呼ばれるもので、第三の一次共生として、ゲノム解析が最近報告された<sup>22)</sup>。メレシコフスキーの仮説は、このようにして、最新の細胞内共生研究にもつながっている。

## 謝辞

本研究は、文部科学省科学研究費：挑戦的萌芽研究「現代生命科学に基づく新たな生命基礎論構築の試み：創発の現代的解釈に向けて」(15K12433)の一環として行われた。原稿の表現の誤りなどを指摘していただいた査読者の方と、研究室の平嶋孝志氏に感謝します。

Received July 21, 2016; Accepted July 22, 2016; Published August 31, 2016

## 参考文献

1. Margulis, L. (1970) *Origin of Eukaryotic Cells*, Yale University Press, New Haven.
2. Sagan (Margulis) L. (1967) On the origin of mitosing cells. *J. Theor. Biol.* 14, 225-274.
3. Ris, H. and Plaut, W. (1962) Ultrastructure of DNA-containing areas in the chloroplast of *Chlamydomonas*. *J. Cell Biol.* 13, 383-391.
4. Mereschowsky, C. (1905) Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. *Biol. Zentralblatt* 25, 593-604.
5. Mereschowsky, C. (1905b) Nachtrag zu meiner Abhandlung: Über Nature und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. *Biol. Zentralblatt* 25, 689-701.
6. Famintzin, A. (1907) Die Symbiose als Mittel der Synthese von Organismen. *Biol. Zentralblatt* 27, 353-364.
7. Wilson, E. B. (1925) *The Cell in Development and Heredity*. The 3rd edition. Macmillan, New York. (本文でも初版が引用されている)
8. Martin, W. and Kowallik, K. (1999) Annotated English translation of Mereschowsky's 1905 paper

- 'Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche'. *Eur. J. Phycol.* 34, 287-295.
9. Archibald, J. M. (2015) Endosymbiosis and eukaryotic cell evolution. *Curr. Biol.* 25, R911-R921.
  10. Pelletier and Cavenou (1817) Notice sur la matière verte des feuilles. *J. Pharmacie* 3, 486-491. (原論文に著者名のイニシャルが書かれていない)
  11. Sapp, J., Carrapiço, F. and Zolotonosov, M. (2002) Symbiogenesis: The hidden face of Constantin Merezhkowsky. *Hist. Phil. Life Sci.* 24, 413-440.
  12. Mereschkowsky, C. (1910) Theorie der zwei Plasmaarten als Grundlage der Symbiogenesis, einer neuen Lehre von der Entstehung der Organismen. *Biol. Zentralblatt* 30, 278-288, 289-303, 321-347, 353-367.
  13. Mérejkowsky, C. (1920) La plante considérée comme un complexe symbiotique. *Bull. Soc. Sci. Nat. Ouest France* 6, 17-98. (使う言語により名前の綴りが異なる)
  14. Schimper, A. F. W. (1885) Untersuchungen über die Chlorophyllkörner und die ihnen homologen Gebilde. *Jahrb. wiss. Bot.* 16, 1-247.
  15. Schimper, A. F. W. (1883) Über die Entwicklung der Chlorophyllkörper und Farbkörper. *Bot. Z.* 41, 105-162.
  16. Sato, N. (2001) Was the evolution of plastid genetic machinery discontinuous? *Trends Plant Sci.* 6, 151-156.
  17. Sato, N. and Awai, K. (2016) Diversity in biosynthetic pathways of galactolipids in the light of endosymbiotic origin of chloroplasts. *Front. Plant Sci.* 7, article 117.
  18. Lauterborn, R. (1895) Protozoenstudien. II. *Paulinella chromatophora* nov. gen. nov. spec., ein beschalter Rhizopode des Süßwassers mit blaugrünen chromatophorenartigen Einschlüssen. *Z für wiss. Zool.* 59, 537-544. (本文でも引用されている。また学名はローマン体で表記されている。)
  19. Nowack, E. C. M., Melkonian, M. and Glöckner, G. (2008) Chromatophore genome sequence of *Paulinella* sheds light on acquisition of photosynthesis by eukaryotes. *Curr. Biol.* 18, 410-418.
  20. Korschikov, A. A. (1924) Pristologische Beobachtungen. *Russ. Archiv. Pristolog.* 3, 57-74. (本文はロシア語, ドイツ語の要約つき)
  21. Hill, D. R. A. (1991) *Chroomonas* and other blue-green cryptomonads. *J. Phycol.* 27, 133-145.
  22. Nakayama, T., Kamikawa, R., Tanifuji, G., Kashiyama, Y., Ohkouchi, N., Archibald, J. M. and Inagaki, Y. (2014) Complete genome of a nonphotosynthetic cyanobacterium in a diatom reveals recent adaptations to an intracellular lifestyle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 11407-11412.
- 注: ここに挙げた古い文献はすべてさまざまなオンライン図書館から入手可能である。ブラウザで論文名を丸ごと入力して検索すると、見つけることができる。

## Origins of Endosymbiotic Theory of Plastids: Japanese Translation of the Mereschkowsky's Paper in 1905 with Introductory Notes

Naoki Sato\*

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



解説特集

「光合成生物が有する光受容体」

Editors: 成川 礼 (静岡大学 理学部生物科学科)  
岡島 公司 (慶応義塾大学 理工学研究科)

序文	成川 礼 (静岡大) 岡島 公司 (慶応大)	120
解説	光合成生物における開環テトラピロール結合型光受容体 成川 礼 (静岡大)	122
解説	フラビン結合型光受容体の多様な光反応とシグナル伝達機構 岡島 公司 (慶応大)	138
解説	微生物型ロドプシンの多様な機能 吉澤 晋 (東京大)	149

## 解説

序文<sup>‡</sup>

静岡大学 理学部生物科学科

成川 礼<sup>1</sup>

慶応義塾大学 理工学研究科

岡島 公司<sup>2</sup>

光は生命が誕生した当初より、太陽から地球全体に持続的に注がれています。そのため、光は生物にとって最も重要な環境因子の一つと捉えられます。光は生命にとって、どのような因子としてかかわっているのでしょうか？大きく二つ、光をエネルギーとして利用する場合と情報として利用する場合に分類できると思います。光合成は、まさに光のエネルギー利用ですが、光合成生物はどのような光でも効率良く利用できるわけではありません。それぞれの生物が有する光合成色素や光合成装置の特徴に応じて、利用しやすい光質や光量が存在しています。光合成生物は、環境中では他の個体と光を奪い合っており、光環境の情報を正確に知ること、自分と競合している光合成生物の存在の感知や対処が可能になります。光合成生物の光応答現象として、陸上植物の光屈性、葉緑体定位運動、避陰応答、藻類の光驚動反応・走光性、シアノバクテリアの補色順化などが古くから知られ、研究されてきています。これらの光応答現象に共通する仕組みとして、色素が結合したタンパク質・光受容体が特定の光質や光量を感知し、その光情報に応じた細胞・個体レベルでの現象が発現されるという一連の光応答機構が挙げられます。

具体的には、陸上植物の光屈性や葉緑体定位運動はフラビンを結合し青色光や光量を感知するフォトトロピンによって制御され<sup>1)</sup>、避陰反応は開環テトラピロールを結合し赤色光と遠赤色光の量比を感知するフィトクロムによって制御されています<sup>2)</sup>。ミドリムシの光驚動反応においては、フラビンを結合し青色光を感知する PAC (Photoactivated Adenylyl Cyclase)<sup>3)</sup>、クラミドモナスの走光性においては、レチナールを結合し緑色光を感知するチャネルロドプシンがそれぞれ制御しています<sup>4-6)</sup>。シアノバクテリアの補色順化は、開環テトラピロールを結合し緑色光と赤色光の量比を感知するシアノバクテリオクロムによって制御されています<sup>7,8)</sup>。このように、光合成生物の光応答現象を制御する光受容体は、結合する色素種に従って、開環テトラピロール結合型光受容体、フラビン結合型光受容体、レチナール結合型光受容体の3つに大別されます。そこで本特集では、これら3種類の色素を結合した光受容体を扱う記事を集めました。成川が開環テトラピロール結合型光受容体、岡島がフラビン結合型光受容体、吉澤晋さんがレチナール結合型光受容体の記事をそれぞれ担当しました。吉澤さんの記事では、光を情報として感知するだけでなく、光エネルギーとして利用するロドプシンも多数存在するため、それらを含めた内容となっています。これらの光受容体群は近年、光で細胞を制御するオプトジェネティクスや細胞内の分子動態を可視化する蛍光イメージング分野において、応用利用が盛んになっています。今後、光合成分野における研究においても、これらの分子を実際に扱うこともあるかもしれません。光応答機構は光合成とも密接に関わっており、本特集が会員の皆様の今後の研究の一助とな

<sup>‡</sup>解説特集「光合成生物が有する光受容体」<sup>1</sup>連絡先 E-mail: narikawa.rei@shizuoka.ac.jp<sup>2</sup>連絡先 E-mail: okajima@phys.keio.ac.jp

れば幸いです。

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

#### 参考文献

1. Christie, J. M., Reymond, P., Powell, G. K., Bernasconi, P., Raibekas, A. A., Liscum, E., and Briggs, W. R. (1998) *Arabidopsis* NPH1: A flavoprotein with the properties of a photoreceptor for phototropism. *Science* 282, 1698–1701.
2. Somers, D. E., Sharrock, R. A., Tepperman, J. M., and Quail, P. H. (1991) The *hy3* long hypocotyl mutant of *Arabidopsis* is deficient in phytochrome B. *Plant Cell* 3, 1263–1274.
3. Iseki, M., Matsunaga, S., Murakami, A., Ohno, K., Shiga, K., Yoshida, K., Sugai, M., Takahashi, T., Hori, T., and Watanabe, M. (2002) A blue-light-activated adenylyl cyclase mediates photoavoidance in *Euglena gracilis*. *Nature* 415, 1047–1051.
4. Sineshchekov, O. A., Jung, K.-H., and Spudich, J. L. (2002) Two rhodopsins mediate phototaxis to low- and high-intensity light in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 8689–8694.
5. Foster, K. W., Saranak, J., Patel, N., Zarilli, G., Okabe, M., Kline, T., and Nakanishi, K. (1984) A rhodopsin is the functional photoreceptor for phototaxis in the unicellular eukaryote *Chlamydomonas*. *Nature* 311, 756–759.
6. Nagel, G., Ollig, D., Fuhrmann, M., Kateriya, S., Musti, A. M., Bamberg, E., and Hegemann, P. (2002) Channelrhodopsin-1: A light-gated proton channel in green algae. *Science* 296, 2395–2398.
7. Kehoe, D. M., and Grossman, A. R. (1996) Similarity of a chromatic adaptation sensor to phytochrome and ethylene receptors. *Science* 273, 1409–1412.
8. Hirose, Y., Narikawa, R., Katayama, M., and Ikeuchi, M. (2010) Cyanobacteriochrome CcaS regulates phycoerythrin accumulation in *Nostoc punctiforme*, a group II chromatic adapter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 8854–8859.

光合成生物における開環テトラピロール結合型光受容体<sup>‡</sup>静岡大学 理学部生物科学科  
成川 礼\*

開環テトラピロールはヘムが開裂したビリベルジンを起点として、様々な酵素によって生合成される色素の総称である。開環テトラピロールは光合成生物において、大きく二つの生物機能を担っている。光合成における光捕集機能と光情報の感知機能である。本稿では、光情報の感知を担う光受容体に焦点を当てて、光合成生物における開環テトラピロール結合型光受容体群の生理機能、分子構造、光感知機構について概説する。開環テトラピロール結合型光受容体は、フィトクロムとシアノバクテリオクロムに大別されるので、それぞれについて項目を分けて記載する。また、光受容体は近年、細胞を光で制御するオプトジェネティクスや細胞内の分子動態を可視化する蛍光分子イメージングへの応用利用が盛んであるため、その現状についても簡単に触れる。

## 1. はじめに

光合成生物は光エネルギーを利用することで独立栄養的に生育できる。しかしながら、どのような光でも利用できるわけではなく、それぞれの生物が有する色素や光合成装置の特徴に応じて、利用しやすい光質・光量が存在している。そこで、多くの光合成生物は、光の色や強さを見分けるための光受容体を備えている。本稿では、そのような光受容体の中でも、開環テトラピロールを結合する光受容体に焦点を当てて、その生理的役割や光を感知する分子機構について概説し、それらを利用した応用研究の現状についても簡単に触れたい。また、開環テトラピロールは構造の異なる様々な色素を含むため、それらの種類と生合成についても解説する。

## 2. 開環テトラピロールとは？

開環テトラピロールは、“環が開いた四つのピロール”という字面の如く、4つのピロール環が直鎖状に並んだ構造をしている。クロロフィルやヘムは環が閉じているため、閉環テトラピロールと総称される。開環テトラピロールはビリン色素

とも呼ばれている。ビリンは、ヒトの胆汁（バイル）から名付けられた総称である。ヒトなどの動物において、ヘムからの分解産物として、ビリン色素は同定された。そのうち、ビリベルジン（BV）がヘムからの最初の分解産物に相当し、ビリルビン（BR）が主要な胆汁色素である。ヘムがヘムオキシゲナーゼにより、BVへと変換され、BV還元酵素（BVR）により、BRへと変換される。近年、ウナギの筋肉からBR結合蛍光タンパク質が発見され、ビリルビンの定量試薬として開発が進められている<sup>1)</sup>。

陸上植物、真核藻類、シアノバクテリアにおいても、ヘムオキシゲナーゼが存在し、ヘムからBVが合成される経路はヒトと共通だが、その後の経路はそれぞれの生物種毎に異なっている。開環テトラピロール生合成経路を図1に示す。陸上植物においては、フィトクロムが結合する色素として、BVからHY2という酵素により、フィトクロムビリルビン（PΦB）が合成される<sup>2,3)</sup>。PΦBは、BVのA環部分が還元され共役系が短くなるため、BVよりも短波長の光質を吸収する。一方、藻類やシアノバクテリアの主要な開環テトラピロール色素としては、フィコシアノビリルビン（PCB）が知られている。PCBは、光捕集タンパク質複合体・フィコビリソームと光受容体・フィトクロム、

\*解説特集「光合成生物が有する光受容体」

\*連絡先 E-mail: narikawa.rei@shizuoka.ac.jp

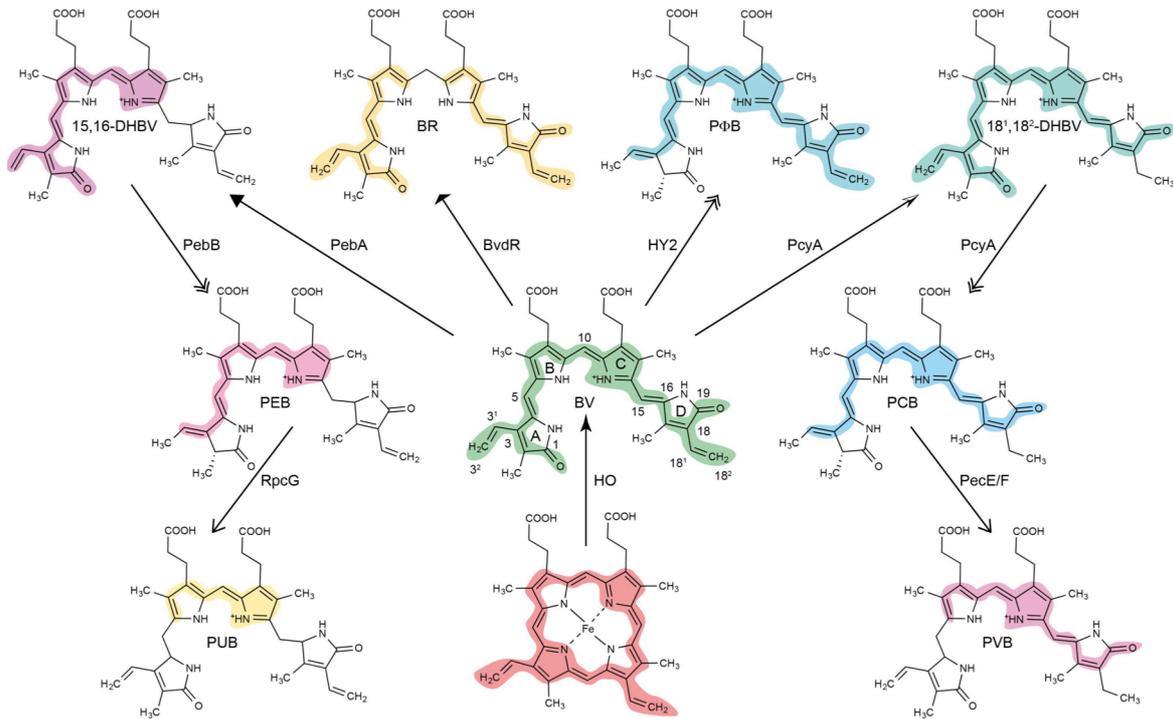


図 1. ヘムを起点とした開環テトラピロールの生合成経路

それぞれの色素の共役系が繋がった領域を、その色素の見た目の色に合わせて着色している。BV 構造において、A, B, C, D 環と主な炭素番号を記載した。

シアノバクテリオクロムの主要な色素であり、PcyA という酵素によってその合成が触媒される。PCB は、A 環に加えて、D 環のビニル基が還元されているため、PΦB よりもさらに短波長の光質を吸収する。PcyA の触媒により、まずは D 環のビニル基の還元により、18<sup>1</sup>,18<sup>2</sup>-ジヒドロビルベルジン (DHBV) が反応中間体として生成され、その後に A 環が還元され PCB が合成される<sup>4)</sup>。また、フィコビリソームのマイナーな色素として、他にもフィコエリスロビリリン (PEB)、フィコビオロビリリン (PVB)、フィコウロビリリン (PUB) が知られている。PVB はシアノバクテリオクロムの色素としても利用される<sup>5)</sup>。PEB は BV を起点として、C 環と D 環の間の二重結合の還元と A 環の還元が連続的に起こることで合成される。前者の反応を PebA、後者の反応を PebB が担っており、15,16-DHBV が、反応中間体として存在している<sup>6)</sup>。C-D 環をつなぐ二重結合が還元されることで D 環が共役系から外れ、PEB はより短波長の緑色光を吸収する。一方、PVB と PUB は、それぞれ PCB と PEB を起点として、A 環と B 環

の間の二重結合が還元されることで合成される。PVB は PecE/F という酵素の反応により、A-B 環をつなぐ二重結合が還元されることで A 環が共役系から外れ、緑色光を吸収する色素となるが<sup>7)</sup>、PUB は RpcG という酵素の反応により、D 環に加えて A 環も共役系から外れることで青色光を吸収する色素となる<sup>8)</sup>。

ヘムオキシゲナーゼ以外の酵素は全て還元酵素であり、配列の相同性から三種類に大別される。最も大きいグループは、PcyA, PebA, PebB, HY2 で構成される。これらは全て、フェレドキシン依存的な還元酵素である。PcyA, PebB, HY2 はどれも A 環の同じ箇所の還元を触媒するため、これらが起源を同一にするのは理に適っている。最近では、シアノバクテリアに感染するファージから、PebA と PebB の両方の触媒活性を併せ持つ PebS という酵素も同定されている<sup>9)</sup>。言わば「PcyA の PEB 版」である。第二のグループは PecE/F と RpcG で構成される。これらはどちらも A 環と B 環の間の二重結合の還元を行うが、前者は PCB、後者は PEB を基質として、それぞれ PVB と PUB

を合成する。さらに、合成した色素をフィコビリタンパク質に結合させるリアーゼ活性を併せ持つという固有の性質があり、これらが同じグループに属するのも、やはり妥当といえる。一方、ピリベルジンを起点として、B環とC環の間の二重結合を還元する BVR は、上記二つのグループとは相同性を持たない。これら3つのグループは進化的に異なる起源であると考えられる。BVR は元々、ヒトなどの動物で同定された酵素であるが、ホモログはモデル生物である *Synechocystis* sp. PCC 6803 や *Anabaena* sp. PCC 7120 などにも存在し、*S. 6803* におけるホモログ・BvdR が確かに BV から BR を合成することが生化学的に確かめられているものの、その生理的役割は未知である<sup>10)</sup>。

### 3. 光捕集としての役割と情報感知としての役割

上述したように、開環テトラピロールには多様な色素種が存在し、生物種によって保持する種類も異なる。これらの開環テトラピロールは光合成生物において、大きく二つの生物機能を担っている。光合成における光捕集と光情報の感知である。これまでに分かっている範囲では、PCB、PEB、PVB、PUB の4つが光捕集に利用され、BV、PΦB、PCB、PVB の4つが光情報感知に利用されている。PEB や PUB には、C環とD環の間の二重結合が存在しないことが共通の特徴であるが、この特徴が光情報感知に利用されていないことの大きな要因といえる(図1)。後述するが、これまでに分かっている全ての開環テトラピロール結合型光受容体において、光を感知する上で、C環とD環の間の二重結合の回転、すなわち、Z/E異性化が必須の反応である。この二重結合が消失している PEB や PUB が光受容体において機能するには、全く別の様式を採る必要がある。例えば、PEB を光受容体の色素として結合し、A環とB環の間の二重結合の回転が起こるようなものが発見されても良いような気がするが、現状、そのような例は報告されていないということである。このことから、次項以降では、BV、PΦB、PCB、PVB を結合する光受容体の詳細について解

説する。開環テトラピロールを結合する光受容体は、フィトクロムとシアノバクテリオクロムに大別されるので、それぞれを項目毎に記述する。

### 4. フィトクロムとは？

フィトクロムは陸上植物において、1959年に発見されて以来、精力的に研究されている光受容体である<sup>11)</sup>。陸上植物においては、種子の光発芽、芽生えの緑化、避陰反応、花成における日長感受など、さまざまな生理応答を制御している。その後、ゲノム解析の進展とともに、シアノバクテリア、真核藻類、真菌、光合成細菌、非光合成細菌などからも続々とフィトクロム分子が発見された。フィトクロムは、開環テトラピロールを共有結合し、赤色光吸収型(Pr)と遠赤色光吸収型(Pfr)の間を可逆的に光変換することで、赤色光と遠赤色光の量比を感知する光受容体である。生物種などによって、結合する色素が異なり、結合色素に応じて吸収する光質も変わっている。ここでは光合成生物に焦点を絞り、陸上植物、真核藻類、シアノバクテリアのフィトクロムについて解説する。

#### 4.1. 生理的役割

陸上植物のフィトクロムは、上述したように多くの生理応答の制御に関与している。近年では、フィトクロムがRNAの選択的スプライシングを制御していることも明らかとなっている<sup>12)</sup>。陸上植物のフィトクロムの生理的役割の詳細については、これまでに多くの総説が書かれているので、そちらを参照されたい<sup>13)</sup>。ここでは、避陰反応を例にあげて簡単にその制御を説明する。植物は基本的に、根を張った場所から移動することができない。もし、自身の葉よりも高い位置に他の個体の葉が存在し、自身が利用できる光がない場合、茎を伸長させることで、光を獲得しようとする。太陽から地上に降り注ぐ光のスペクトルを測定すると、可視光がほぼ均等に存在しているが、葉に吸収されずに残った光のスペクトルを測定すると、赤色光と青色光は残っておらず、緑色光と遠赤色光が主要な光質となる<sup>14)</sup>。つまり、遠赤色光が赤色光よりも多く植物体に照射されて

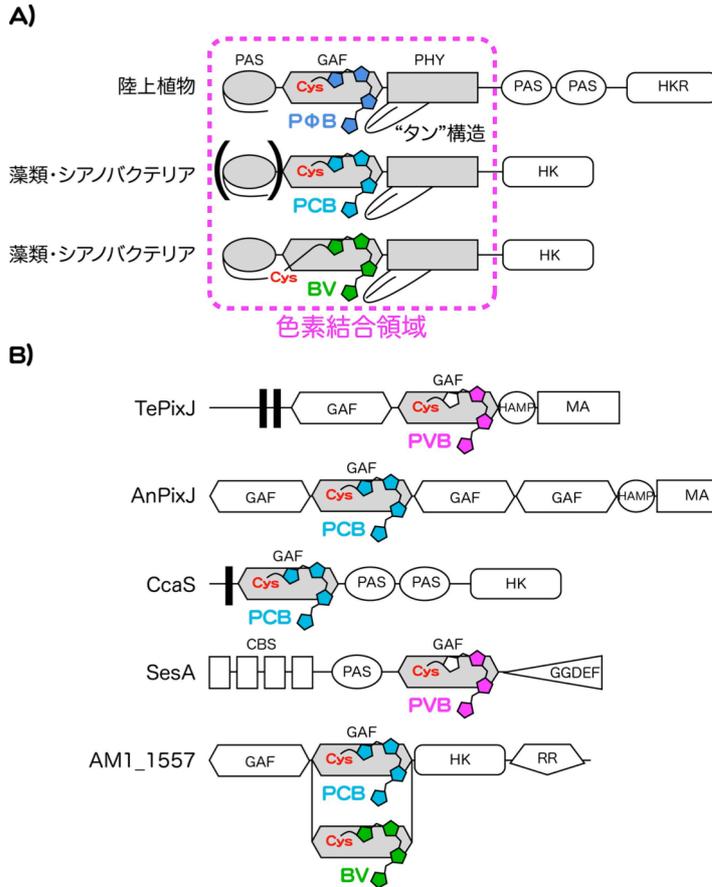


図 2. フィトクロム (A) とシアノバクテリオクロム (B) のドメイン構成  
 PAS: PAS (Per/Arnt/Sim) ドメイン、GAF: GAF (cGMP phosphodiesterase/Adenylate cyclase/FhlA) ドメイン、PHY: フィトクロム特異的ドメイン、HKR: ヒスチジンキナーゼ様ドメイン (陸上植物においては、ヒスチジンキナーゼではなく、セリン/スレオニンキナーゼ活性を持つ)、HAMP: HAMP (present in Histidine kinases, Adenyl cyclases, Methyl-accepting proteins and Phosphatases) ドメイン、MA: メチル基受容ドメイン、HK: ヒスチジンキナーゼドメイン、GGDEF: GGDEF モチーフを持つドメイン、RR: レスポンスレギュレータードメイン

いる状況というのは、自身より高い位置で他のクロロフィルを持つ個体が光を吸収している可能性が高いということになる。そのような場合、植物は茎を伸長し、高い位置で葉を展開する<sup>14)</sup>。一方、赤色光が遠赤色光と同程度に照射されている場合は、光合成するために十分な光が届いているため、茎を伸ばすことなく、その場で葉を展開する。このような応答を制御するために、フィトクロム (主に PhyB) が赤色光と遠赤色光の量比を感知している<sup>15)</sup>。

真核藻類については、ゲノム解析により、いくつかの種でフィトクロムが存在することは推定されていたが、その生理的役割はほとんど分かっていない。最近、珪藻 *Phaeodactylum tricornutum* のフィトクロムが BV を結合し遠赤色光照射によって自己リン酸化活性が誘導されること、野生型において遠赤色光によって転写が活性化される遺伝子群が、フィトクロム遺伝子の破壊株ではその転写活性が誘導されないことが報告された<sup>16)</sup>。

シアノバクテリアにおいては、ゲノム配列が明らかになるまで、フィトクロムの存在については長らく不明であった。1996 年にモデルシアノバクテリア・*S. 6803* のゲノム配列が、全生物の中では世界で四番目、光合成生物の中では世界で初めて決定された<sup>17)</sup>。このゲノム配列から、植物のフィトクロムと相同なタンパク質・Cph1 が見いだされ、実際に赤色光と遠赤色光で可逆的に光変換することが示されている<sup>18,19)</sup>。Cph1 の遺伝子破壊株は作出されているが、未だにその生理的役割については、はっきりとは分かっていない。フィトクロム型ドメインとシアノバクテリオクロム型ドメインを併せ持つ Cph2 という分子は、走光性を制御していることが分かっている<sup>20,21)</sup>。近年、遠赤色光下でクロロフィル *f* という遠赤色光を吸収できるクロロフィルを蓄積し、反応中心タンパク質をダイナミックに再構築することで、遠赤色光下で生育できるシアノバクテリアが続々と見つかり、その制御をフィトクロム・RfpA とその下流の因子・RfpB、RfpC が担っているこ

とが解明された<sup>22-24)</sup>。

#### 4.2. ドメイン構成

フィトクロムは、N 末端側に色素結合領域、C 末端側に光で活性が変化するアウトプット領域が存在する (図 2A)。殆どのフィトクロムはバクテリアの二成分制御系のヒスチジンキナーゼドメインを C 末端側に有し、その活性が光照射によって制御される。ただし、陸上植物の *PhyB* というフィトクロムの場合、C 末端側のキナーゼドメインを欠失しても、核に移行し全長のタンパク質と同様の制御を行うことができるため、C 末端領域はアウトプットとしては機能しないと考えられている<sup>25)</sup>。N 末端側の色素結合領域は、PAS・GAF・PHY ドメインの 3 つで構成される場合が多いが、*RfpA* など一部のフィトクロムは N 末端側の PAS ドメインを欠いている。

#### 4.3. 結合色素

これまでにフィトクロムへの結合色素としては、BV、PΦB、PCB が知られている (図 2A)。結合する色素種と高い相関がある要因が二つ存在する。一つは色素に安定的に共有結合するシステイン残基の位置である。N 末端 PAS ドメインの上流の特定の位置にシステイン残基が存在する場合、そのシステイン残基が BV と共有結合する。このタイプのフィトクロムは主に、真菌類やバクテリアに分布している。GAF ドメイン内部の特定の位置にシステイン残基が存在する場合、そのシステイン残基は PΦB か PCB と共有結合する。第二に、PΦB と PCB のどちらを結合するかについては、その生物の持つ生合成系に依存すると考えられる。これまでに、PΦB と PCB の両方の生合成経路を併せ持つ生物は知られていない。陸上植物は PΦB を合成する HY2 を有し、そのフィトクロムは PΦB を結合する。一方、シアノバクテリアでは PCB を合成する *PcyA* を有し、そのフィトクロムは PCB を結合する。陸上植物のフィトクロムを大腸菌での共発現系において PCB と再構成すると、効率良く結合し可逆的な光変換を示す<sup>26)</sup>。同様に、シアノバクテリアのフィトクロムも大腸菌での共発現系におい

て PΦB と再構成すると、効率良く結合し可逆的な光変換を示す<sup>27)</sup>。陸上植物では HY2 に相当する遺伝子を破壊し、シアノバクテリア由来の *PcyA* を導入することで、フィトクロムが制御する光応答現象をレスキューできることも示されている<sup>28)</sup>。一部のシアノバクテリアには、GAF ドメイン内部にはシステインを持たず、N 末端側のシステインのみを持つフィトクロムも存在している。シアノバクテリア *Fremyella diplosiphon* の N 末端側のシステインを持つ *CphB* を、*F. diplosiphon* においてヒスタグ融合タンパク質として発現し精製した研究により、生体内でも実際に BV を結合することが示された<sup>29)</sup>。シアノバクテリアの細胞内では、フィコビリソームの主要な色素である PCB に比べ、BV は僅かしか存在しないと考えられるが、この研究から BV も機能的な色素として、シアノバクテリアの細胞内に存在しているといえる。

近年、真核藻類におけるフィトクロムの解析も進んでおり、それらが BV、PCB、PΦB を結合することが明らかとなっているが、今のところ、実際の生物からフィトクロムを単離し、その色素種を同定した報告はない<sup>16,30)</sup>。

#### 4.4. Z/E 異性化とそれに伴う構造変化

多くのフィトクロムは Pr 型と Pfr 型の間で可逆的に光変換する。光照射によって C 環と D 環の間の二重結合の回転、すなわち、Z/E 異性化反応が起こる。Pr 型が Z 型に、Pfr 型が E 型に相当する。これ以降、Z 型が感知する光質が X 色光、E 型が感知する光質が Y 色光である場合、X/Y 色光変換と記載する。基本的には Pr 型が安定な基底状態であり、Pfr 型が光励起状態である。一部のバクテリア由来のフィトクロムでは、Pfr 型が基底状態であり、Pr 型が光励起状態となっている<sup>31)</sup>。2005 年にバクテリア由来のフィトクロムの色素結合領域の結晶構造が決定されたことを皮切りに、様々な生物由来のフィトクロムの色素結合領域の結晶構造が報告されている<sup>32,33)</sup>。Pr 型が基底状態であるフィトクロム群においては、Pr の結晶構造が、Pfr 型が基底状態であるフィトクロム群においては、Pfr 型の結晶構造がそれぞ

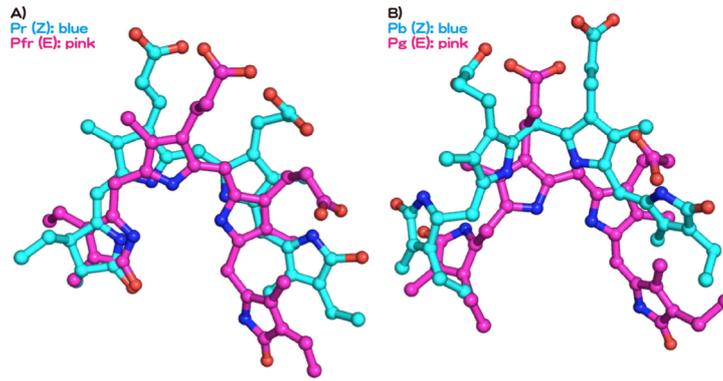


図 3. フィトクロム (A) とシアノバクテリオクロム (B) の“Flip-and-Rotate”モデル

れ決定されている。これらの構造を比較することで、光照射によって様々な構造変化が起こることが明らかとなっている。色素に着目すると、“Flip-and-Rotate”モデルと呼ばれる構造変化が起きている<sup>34)</sup>。つまり、Z/E異性化(Flip)とそれに伴う色素全体の回転(Rotate)が起きている(図3A)。このような色素の構造変化によって、色素結合領域全体の構造変化が引き起こされる。特に、PHYドメインからGAFドメインへと伸びた“タン(舌)”構造が顕著に変化する(図2A、図4A)。Pr型においては、二つの逆平行シート構造だった“タン”領域が、Pfr型ではヘリックスとループ構造へと変化する。これまでに決定されているPr/Pfrの全ての構造に共通して、このような差異がみとめられている<sup>33)</sup>。

陸上植物やシアノバクテリアの主要なフィトクロムは、典型的な赤/遠赤色光変換を示すが、真核藻類においては、特異な分光特性を示すフィトクロムが数多く同定されている<sup>30)</sup>。ブラシノ藻、褐藻、灰色藻由来のフィトクロムについて、PΦBやPCBの合成経路と共発現することで、遠赤/緑色光変換型、青/遠赤色光変換型、赤/青色光変換型、橙/遠赤色光変換型、黄/遠赤色光変換型などの非常に多様な分光特性のフィトクロムが得られている。短波長の緑色光や青色光を吸収する仕組みとしては、5.4にて後述する“第二のシステイン残基の脱着”が起こると推定されているが、詳細な解析はされていない。

## 5. シアノバクテリオクロムとは？

シアノバクテリオクロムとは、著者が所属して

いた東京大学池内研究室により発見され名付けられた光受容体群である。上述したように、1996年に*S. 6803*のゲノム配列が公開され、フィトクロムに加え、フィトクロムの色素結合に中心的な役割を果たすGAFドメインに相同なドメインが多数見いだされた<sup>17)</sup>。また、それと同時期に、シアノバクテリア*F. diplosiphon*において、補色順化の光受容体としてRcaEが同定され、そのRcaEもフィトクロムのGAFドメインと相同なドメインを有することが明らかとなった<sup>35)</sup>。2000年には池内らのグループが、*S. 6803*において、走光性に関わる遺伝子クラスター・pixクラスターを同定し、そのクラスターの中に、やはりGAFドメインを持ち光受容体と推定される*syPixJ1*が存在していた<sup>36)</sup>。このように、ゲノム情報と遺伝学的解析から、フィトクロムに似た一群のタンパク質が光受容体として機能していることが強く示唆されたが、実際に光受容体として機能しているという決定的な証拠は得られていなかった。

そのような状況で2004年に世界で初めて、池内研究室の吉原博士らが、色素を結合したシアノバクテリオクロムの単離に成功した<sup>37)</sup>。吉原らは、上述したSyPixJ1タンパク質を*S. 6803*においてヒスタグ融合タンパク質として発現し、アフィニティカラムで精製することで、光変換するタンパク質を得た<sup>37)</sup>。SyPixJ1の全長は非常に大きく、膜貫通タンパク質であるため、少量しか得られず、またクロロフィルなどの色素が夾雑物として混入していたが、光合成色素は光の照射前後で吸収に変化がないため、様々な単色光を照射し、その後に吸収スペクトルを測定することで、

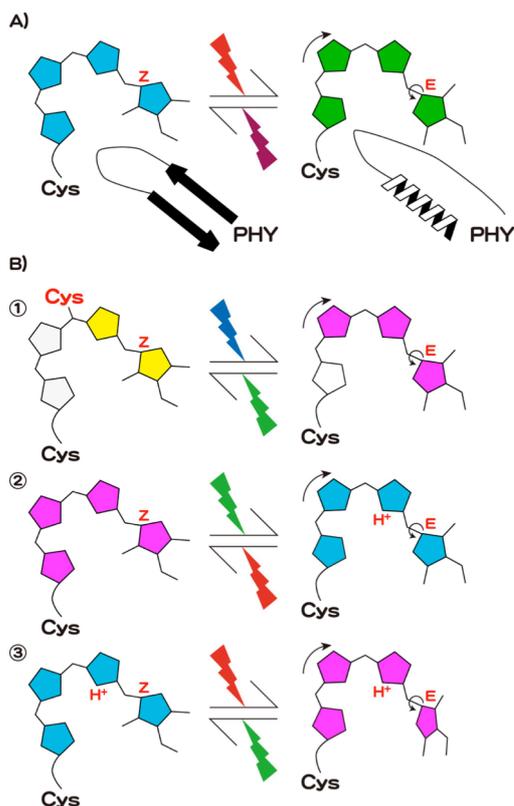


図 4. フィトクロム (A) と主なシアノバクテリオクロム (B) の光変換機構の模式図  
シアノバクテリオクロムは Cys の脱着 (B①)、プロトンの脱着 (B②)、D 環の大幅な歪みに伴う脱共役 (B③) などの多様なメカニズムにより吸収波長が制御されている。

SyPixJ1 が青色光と緑色光の間で可逆的に変換する光受容体であることが示された。フィトクロムとはドメイン構成が異なり、配列相同性も低く、感知する光質も全く異なるため、独立した光受容体として定義しシアノバクテリオクロムと総称することがこの論文で提案された。一時期、シアノクロムと総称するグループも存在したが、2016年現在ではシアノバクテリオクロムという名称が定着している。その後、よりタンパク質が安定であると期待される好熱性シアノバクテリア・*Thermosynechococcus elongatus* BP1 由来の SyPixJ1 ホモログ・TePixJ の色素結合 GAF ドメインを *S. 6803* で異種発現することで、大量の色素結合ホロタンパク質を精製することに成功し、SyPixJ1 と同様、青色光と緑色光で可逆的に変換することが分かった<sup>38)</sup>。これらのマイルストーン的な研究を皮切りに池内らのグループに加え

て、アメリカ、ドイツ、韓国などの研究グループも参入し、新規シアノバクテリオクロムの発見、分光解析、立体構造の解明、生理的役割の解明などが進んでいる。

### 5.1. 生理的役割

シアノバクテリオクロムは、これまでに補色順化、走光性、光依存的細胞凝集などを制御する光受容体として同定されている<sup>20,35,36,39-45)</sup>。*Nostoc punctiforme* ATCC 29133 の CcaS や *F. diplosiphon* の RcaE による補色順化の制御については、光合成研究の先行総説にて詳細に解説されているので、そちらを参照されたい<sup>46)</sup>。*F. diplosiphon* においては、RcaE が補色順化における主要な光受容体であると考えられてきたが、ごく最近、シアン光と黄色光で可逆的に光変換し、黄色光照射によってヒスチジinkinナーゼ活性が誘導される DpxA というシアノバクテリオクロムが、RcaE と協調して補色順化を制御していることが解明された<sup>45)</sup>。

走光性に関しては、これまで *S. 6803* において詳細な研究が進んでおり、SyPixJ1, PixA, Cph2, PixD などの光受容体が関わっていることが明らかとなっている<sup>20,36,43,47,48)</sup>。PixD 以外の3つの分子はシアノバクテリオクロム型 GAF ドメインを持ち、Cph2 に関しては、フィトクロム型の光受容領域も併せ持っている。どのタンパク質も紫～青色光を感知することができることは興味深い。本来、*S. 6803* は橙色～赤色光に対する正の走光性を示すため、基本的にこれらの光受容体は、紫～青色光が存在する時に走光性の方向を正から負に切り替える役割を持つと示唆されている。最近、*N. punctiforme* の運動性糸状体・ホルモゴニアの走光性が PtxD というシアノバクテリオクロム型光受容体に制御されていることが報告された<sup>49)</sup>。PtxD は7つのシアノバクテリオクロム型 GAF ドメインを有し、それらの分光特性もそれぞれ異なることから、非常に複雑な光制御機構が示唆される<sup>50,51)</sup>。

光依存的細胞凝集に関しては、温泉から単離されたシアノバクテリア・*T. vulcanus* RKN を用いて詳細な解析が進んでいる。*T. vulcanus* を 31°C

の低温光条件下で培養すると、多くの細胞から構成された凝集塊を形成する<sup>52)</sup>。この凝集はセルラーゼによって速やかに解消され、セルロース合成酵素遺伝子を破壊した株ではそのような凝集が観察されないことから、セルロース合成を介して細胞凝集が起こることが明らかとなっている。さらに、この細胞凝集は青色光下で起こり、緑色光下では起こらないこと、青色光で活性化される c-di-GMP 合成酵素・SesA が主要な光受容体であることが明らかになり、合成された c-di-GMP がセルロース合成酵素の PilZ ドメインに結合することで、セルロース合成を誘導していることが示唆されている<sup>41)</sup>。さらに、c-di-GMP の合成・分解に関わる二つの光受容体 (SesB、SesC) がこの現象に関与することで、感知する光質のファインチューンをしていることも明らかとなっている<sup>42)</sup>。これら三つの光受容体は全て、シアノバクテリオクロム型 GAF ドメインを持ち、協調して制御することで厳密な光質制御が実現できている。

## 5.2. ドメイン構成

上述したように、フィトクロムの場合、PAS、GAF、PHY の三つのドメインあるいは GAF、PHY の二つのドメインが色素結合と正常な光変換に必要なものであるが、シアノバクテリオクロムの場合、GAF ドメインのみで色素を結合し、正常な光変換を示す (図 2B)。シアノバクテリオクロムの全体構造としては、N 末端側に GAF ドメインが存在し、C 末端側に酵素活性を示すアウトプットドメインが存在することが多い。また、GAF ドメインはタンデムに並ぶ傾向があり、*N. punctiforme* のシアノバクテリオクロムでは、7 つの GAF ドメインがタンデムに並んでいる例も報告されている。C 末端側のアウトプットドメインとしては、二成分制御系のヒスチジンキナーゼドメイン、走化性のアウトプットとして知られる MA ドメイン、c-di-GMP の合成・分解を触媒する GGDEF・EAL ドメインが主である。これらのアウトプットドメインの活性が、光照射によって変化することで、光受容体として機能している。二成分制御系や c-di-GMP 合成・分解については、*in vitro* の

生化学的な解析によりその活性が実際に光で制御されていることが示されている<sup>39,41,42,45,53)</sup>。

## 5.3. 結合色素

シアノバクテリオクロムには、上述したように開環テトラピロールが共有結合している。植物やシアノバクテリアのフィトクロムは、GAF ドメインの内部に保存されたシステイン残基が存在するが、シアノバクテリオクロムの GAF ドメインの同じ位置にも高度に保存されたシステイン残基が存在する。このシステイン残基が A 環の C3<sup>1</sup> と共有結合を形成することで、色素がタンパク質に安定的に結合する<sup>54)</sup>。シアノバクテリオクロムに結合する色素種は、これまでに PCB、PVB、PΦB が知られていたが、PΦB に関しては、シアノバクテリアがその生合成経路を持たないため、生理学的に機能する結合ではないと考えられている<sup>51)</sup> (図 2B)。PVB が結合する場合でも、まずは PCB が GAF ドメインに結合し、その後、GAF ドメイン自身の活性により、PCB が PVB に異性化される<sup>55)</sup>。PVB 結合型は比較的短波長の紫外～緑色光を感知しているのに対し、PCB 結合型は比較的長波長の青～赤色光を感知している。

著者らの研究グループは最近、上記の色素に加えて、BV を結合することができるシアノバクテリオクロムを *Acaryochloris marina* MBIC11017 というユニークなシアノバクテリアから発見している<sup>56-58)</sup>。*A. marina* は光合成反応中心色素として、クロロフィル *a* よりも長波長の遠赤色光を吸収するクロロフィル *d* を用いているため、感知する光質も長波長シフトしている可能性を着想した。*A. marina* のいくつかのシアノバクテリオクロムを、PCB を産生する大腸菌と BV を産生する大腸菌のそれぞれで発現、精製した結果、PCB だけでなく BV とも結合できることを見いだしている (図 2B)。これらのシアノバクテリオクロムは PCB を結合すると赤色光と緑色光の間で光変換するが、BV を結合すると両方の吸収型が長波長シフトし、遠赤色光と橙色光の間で光変換を示す。これらの結果は、大腸菌において、開環テトラピロール合成経路と GAF ドメインとを共発

現した系で得られたものであるため、実際に *A. marina* の生体内でシアノバクテリオクロムがどの色素を結合し、どのような光質を感知しているかは不明である。現在、*A. marina* においてタグを融合した GAF ドメインの発現系を構築中であり、そのような実験により生体内での真の色素が何なのか答えが出るだろう。

#### 5.4. Z/E 異性化とそれに伴う構造変化

シアノバクテリオクロムもフィトクロム同様、光照射によって Z/E 異性化反応が起こり、基本的に Z 型がより安定な基底状態で、E 型が光励起状態である。しかしながら、多くのシアノバクテリオクロムは二つの吸収型が両方とも安定であり、E 型から Z 型への暗反転は非常に遅いことが多い。例外的に、後述する赤/緑色光変換型においては、暗反転の非常に早いものが見つかっている<sup>51)</sup>。光照射後、最初に Z/E 異性化反応が起こり、その構造変化を契機に、他の構造変化が引き起こされる。これまでの網羅的な生化学・分光解析の結果、Z/E 異性化の後に様々な反応が起こることで、多様な分光特性を示すものが同定されている。当初は、青/緑色光変換型、緑/赤色光変換型、赤/緑色光変換型など感知する光質で大まかに分類していたが、そのような分類では収まりきらない多様性が見いだされつつある。これまでに著者らが実際に解析してきた様々なシアノバクテリオクロムの光吸収型のスペクトル一覧を図 5 に示す<sup>43,55-57,59,60)</sup>。このように、紫外～遠赤色光をカバーする非常に幅広く多様な光吸収型が存在している。これらの多様な光吸収を実現するために、それぞれのシアノバクテリオクロムにおいて、独自の構造変化が生じている(図 4B)。光吸収を大まかに決定するのは、5.3.にて記載した結合色素の違いがまずは挙げられる。PVB、PCB、BV の順番で色素自身の吸収が段階的に長波長へと推移するため、それぞれを結合するシアノバクテリオクロムも基本的にその性質を反映する。

Z/E 異性化に続いて生じる構造変化の中でも、最も頻出しているのは、システイン残基の脱着反応である<sup>50,61,55,60,62,63)</sup>。上述したように、フィト

クロム・シアノバクテリオクロムに共通して高度に保存されたシステイン残基が、A 環の C3<sup>1</sup> と安定的に共有結合し、色素を固定しているが、それ以外に第二のシステイン残基を保持する一群が存在する。これらのシアノバクテリオクロムは、光変換により過渡的に B 環と C 環の間の C10 とシステイン残基が共有結合を形成することで、大幅に共役系が短くなり、短波長の光質を吸収するようになる(図 4B①)。結合色素が PCB である場合、橙～赤色光と青色光の間での可逆的な光変換<sup>50,60,62-65)</sup>、結合色素が PVB である場合、緑～シアン色光と紫外～青色光の間での可逆的な光変換が報告されている<sup>62-64,66)</sup>。興味深いことに、この「第二のシステイン残基」は、進化の過程で独立して少なくとも 3 回以上、開発されている。つまり、一次配列上、全く異なる位置に存在するシステイン残基がそれぞれ、過渡的に共有結合を形成することが分かっている。未解析のシアノバクテリオクロムが多く存在していることから、更なる「第二のシステイン残基」を利用したシアノバクテリオクロムの発見が期待される。これらの中で、SyPixJ1/TePixJ を含む DXCF というモチーフを保持したグループが最も豊富に存在し、詳細な解析も進んでいる。TePixJ の色素結合 GAF ドメインに関しては、青色光吸収型 (Pb)、緑色光吸収型 (Pg) の両方の立体構造が決定され、実際に Pb 型では C10 に第二のシステインが共有結合し、Pg 型では、そのシステイン残基は色素から脱離していることが解明されている<sup>54,67,68)</sup>。また、Z 型と E 型の構造を重ね合わせると、タンパク質に対する色素の相対的な位置がずれて回転している(図 3B)。これは、フィトクロムにおける“Flip-and-Rotate”モデルがシアノバクテリオクロムにも適用されることを意味するのかもしれない。将来、多くのシアノバクテリオクロムの構造が決定されることで、フィトクロムとシアノバクテリオクロムの共通の構造基盤が解明されるだろう。

システインの脱着とは全く異なる反応として、緑/赤色光変換型において、Z/E 異性化後に色素へのプロトンの脱着が起こることが明らかとなっている<sup>53)</sup>。緑/赤色光変換型の RcaE という

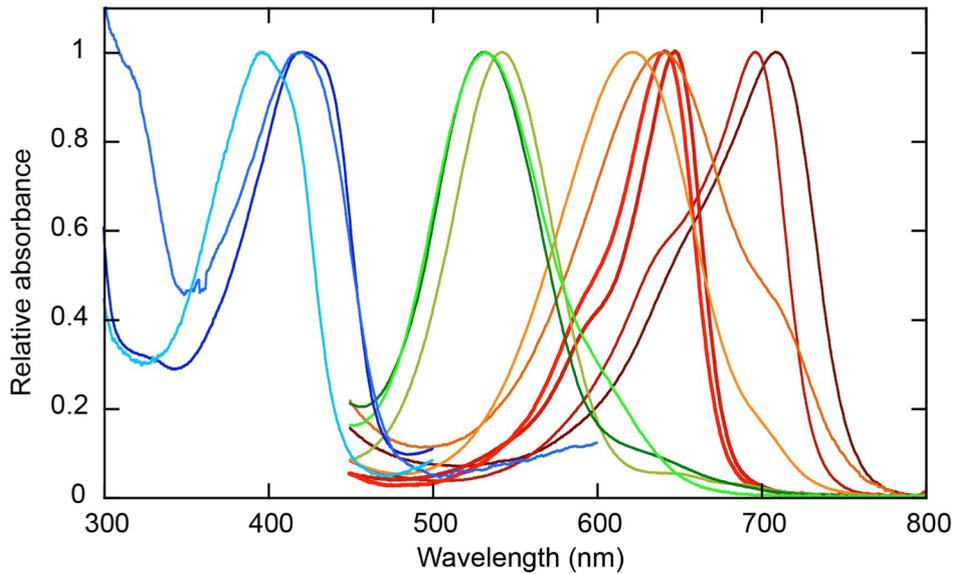


図5. これまでに著者らが単離したシアノバクテリオクロム GAF ドメインの二つの光吸収型の吸収スペクトルを、ピークの値で標準化して並べた図  
幅広い光質の吸収型が単離されていることが分かる。

タンパク質で詳細な解析が進んでおり、赤色光吸収型において、プロトンが B 環に付加することで共役系が安定し長波長を吸収することができ、緑色光吸収型において、プロトンが脱離することで共役系が不安定化し短波長を吸収することができる (図 4B②)。

システインの脱着もプロトンの脱着も起こらないシアノバクテリオクロムとして、赤/緑色光変換型がよく解析されている<sup>51,59,69,70</sup>。見た目の色変化は緑/赤色光変換型と良く似ているが、Z/E 型の吸収型が逆であり、その構造変化は全く異なっている。赤/緑色光変換型の場合、どちらの吸収型もプロトンが付加した状態であり、短波長化には異なるメカニズムが想定されている<sup>71,72</sup>。最近の詳細な分光学的・構造解析により、赤/緑色光変換型の赤色光吸収型はフィトクロムの赤色光吸収型と非常によく似ているが、赤色光照射により E 型に異性化すると、LUMO エネルギーが不安定な状態になることで短波長である緑色光を吸収ようになることが示唆されている<sup>54,73</sup>。また、部位特異的変異導入解析から、この短波長シフトは、D 環が A-B-C 環平面に対して大幅に歪み脱共役することに起因することも示唆されている (図 4B③)<sup>74</sup>。後者のメカニズムは、他の光変換型においても散見され、分光

特性の多様化の一翼を担っている<sup>74</sup>。

以上のように、シアノバクテリオクロムはフィトクロムと同様、Z/E 異性化が起こるが、その後システインの脱着、プロトンの脱着など様々な反応が起こることで、多様な分光特性が生じているということが分かるだろう。この総説を執筆している現在においても、遠赤色光を感知する新たな分光特性のシアノバクテリオクロムが同定される等、その多様性の広がりには未だ停留していない<sup>75</sup>。

## 6. フィトクロム・シアノバクテリオクロムの応用利用

### 6.1. オプトジェネティクスツールとしての利用

フィトクロムもシアノバクテリオクロムも、光照射に伴った構造変化が下流のアウトプット活性の変化を誘導することで、光情報を他の情報へと変換する。二成分制御系のヒスチジンキナーゼの活性や c-di-GMP などのセカンドメッセンジャーの合成・分解活性が光照射によって誘導されることがよく知られ、解析が進んでいる<sup>18,39,41,42,76</sup>。ヒスチジンキナーゼの場合、その下流のレスポンスレギュレーターの転写活性が最終的に誘導あるいは抑制されることが分かっている。また光照

射により、相互作用パートナーとの親和性が変化する例も知られている。フィトクロムと PIF (Phytochrome Interaction Factor) との相互作用がよく調べられている<sup>77)</sup>。これらのシステムを、細胞を光で制御するオプトジェネティクスのツールとして応用する研究が盛んになっている。フィトクロムに関しては、フィトクロムと PIF の相互作用をベースとして、照射による膜局在化などのツールが開発されている<sup>78)</sup>。ごく最近、バクテリオフィトクロムの相互作用をベースとしたツールも報告されている<sup>79)</sup>。フィトクロムやシアノバクテリオクロムを利用し、遠赤色光/赤色光変換型、緑/赤色光変換型、紫/緑色光変換型の転写制御システムが既に開発されている<sup>80-83)</sup>。また、天然のタンパク質としては、フィトクロム・シアノバクテリオクロムの下流には cAMP 合成・分解系が存在しないため、フィトクロムをベースとして cAMP 合成・分解酵素ドメインとのキメラタンパク質を作出することで、照射により cAMP 量を制御するシステムも開発されている<sup>84-86)</sup>。特に、BV を結合したフィトクロムやシアノバクテリオクロムは、今後の応用ターゲットとして注目を集めている。BV はヘムの分解経路として哺乳類においても存在する内因性色素であり、また、BV は既知の開環テトラピロール種の中で最も長波長の光質を吸収する。BV が吸収する遠赤色～近赤外光は、哺乳類細胞に豊富に存在するヘム、メラニン、水によって吸収されづらい光質であり、動物個体の奥深くまで浸透する光質である。そのため、個体レベルで光制御を実現するためには非常に有用であると期待されている。

## 6.2. 蛍光プローブとしての利用

蛍光プローブとしても、やはり、上述した BV を結合した長波長の光質を吸収するバクテリオフィトクロム・シアノバクテリオクロムが注目を集めている。バクテリオフィトクロムを土台とした蛍光プローブは開発が進んでおり、実際に個体レベルでの応用利用が進んでいる。2009 年にバクテリオフィトクロムを土台として開発された IFT を皮切りに、光変換せずに安定して蛍光を発

するタンパク質群が、ランダム変異・部位特異的変異導入により開発されている<sup>87)</sup>。特に、2011 年に開発された iRFP に関しては、変異導入による量子収率の改善や、吸収・蛍光波長の改変が精力的に進められ、赤～近赤外光領域でのマルチカラーイメージングシステムが実現されている<sup>88-91)</sup>。一方、光変換機能を保持したまま、蛍光量子収率を挙げることに成功すれば、蛍光を On/Off することができるため、そのような開発例も報告されている<sup>92)</sup>。これを基に更なる改良を施すことで、超解像イメージングに適用可能な蛍光プローブが開発されるかもしれない。

## 7. おわりに

著者は博士号を取得するまでは開環テトラピロールとはあまり関係ない研究をしていた。情報伝達に関する研究に従事していたものの、ヘムを結合した酸化還元センサーやフラビンを結合した青色光受容体の解析を行っていた。博士課程の学生だった当時、先輩の吉原博士が SyPixJ1 の解析を、後輩の石塚博士が TePixJ の解析を行っていた。その頃はどんな色素が結合し、どの光質を感知するか皆目見当がつかず、手探りの毎日であった。著者は博士号取得後すぐにシアノバクテリオクロム研究に着手し、ちょうど 10 年が過ぎたところである。あの当時から 10 年以上が経過し、SyPixJ1 の分光特性の解明とフィトクロムの立体構造の決定を皮切りに、多様な光受容体が発見され詳細な光感知機構の解明が進んだ。当時の状況からは隔世の感を禁じ得ない。そして、これだけ研究が進んだ現状において、今もなお続々と新しい光受容体や光応答現象が発見されている。著者も今はもう独立し研究室メンバー総出で、シアノバクテリアの光受容体と光応答現象の解析、応用利用のための研究を行っている。恐らく今から 10 年後も、今の状況からは想像できないような知見が見いだされていることだろう。次の 10 年も少しでも著者らの研究グループが貢献できるよう祈りつつ、本稿を終わりにしたい。

Received July 3, 2016; Accepted July 12, 2016; Published August 31, 2016

## 参考文献

1. Kumagai, A., Ando, R., Miyatake, H., Greimel, P., Kobayashi, T., Hirabayashi, Y., Shimogori, T., and Miyawaki, A. (2013) A bilirubin-inducible fluorescent protein from eel muscle. *Cell* 153, 1602–1611.
2. Kohchi, T., Mukougawa, K., Frankenberg, N., Masuda, M., Yokota, A., and Lagarias, J. C. (2001) The *Arabidopsis* HY2 gene encodes phytochromobilin synthase, a ferredoxin-dependent biliverdin reductase. *Plant Cell* 13, 425–436.
3. Frankenberg, N., Mukougawa, K., Kohchi, T., and Lagarias, J. C. (2001) Functional genomic analysis of the HY2 family of ferredoxin-dependent bilin reductases from oxygenic photosynthetic organisms. *Plant Cell* 13, 965–978.
4. Frankenberg, N., and Lagarias, J. C. (2003) Phycocyanobilin:ferredoxin oxidoreductase of *Anabaena* sp. PCC 7120. Biochemical and spectroscopic. *J. Biol. Chem.* 278, 9219–9226.
5. Ishizuka, T., Narikawa, R., Kohchi, T., Katayama, M., and Ikeuchi, M. (2007) Cyanobacteriochrome TePixJ of *Thermosynechococcus elongatus* harbors phycoviolobin as a chromophore. *Plant Cell Physiol.* 48, 1385–1390.
6. Dammeyer, T., and Frankenberg-Dinkel, N. (2006) Insights into phycoerythrobilin biosynthesis point toward metabolic channeling. *J. Biol. Chem.* 281, 27081–27089.
7. Storf, M., Parbel, A., Meyer, M., Strohmam, B., Scheer, H., Deng, M. G., Zheng, M., Zhou, M., and Zhao, K. H. (2001) Chromophore attachment to biliproteins: specificity of PecE/PecF, a lyase-isomerase for the photoactive 3(1)-cys-alpha 84-phycoviolobin chromophore of phycoerythrocyanin. *Biochemistry* 40, 12444–12456.
8. Blot, N., Wu, X.-J., Thomas, J.-C., Zhang, J., Garczarek, L., Böhm, S., Tu, J.-M., Zhou, M., Plösch, M., Eichacker, L., Partensky, F., Scheer, H., and Zhao, K.-H. (2009) Phycourobilin in trichromatic phycocyanin from oceanic cyanobacteria is formed post-translationally by a phycoerythrobilin lyase-isomerase. *J. Biol. Chem.* 284, 9290–9298.
9. Dammeyer, T., Bagby, S. C., Sullivan, M. B., Chisholm, S. W., and Frankenberg-Dinkel, N. (2008) Efficient phage-mediated pigment biosynthesis in oceanic cyanobacteria. *Curr. Biol.* 18, 442–448.
10. Schluchter, W. M., and Glazer, A. N. (1997) Characterization of cyanobacterial biliverdin reductase. Conversion of biliverdin to bilirubin is important for normal phycobiliprotein biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 272, 13562–13569.
11. Butler, W. L., Norris, K. H., Siegelman, H. W., and Hendricks, S. B. (1959) Detection, assay, and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 45, 1703–1708.
12. Shikata, H., Hanada, K., Ushijima, T., Nakashima, M., Suzuki, Y., and Matsushita, T. (2014) Phytochrome controls alternative splicing to mediate light responses in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 18781–18786.
13. 松下智直. (2008) 植物の光情報受容体フィトクロムの細胞内シグナル伝達機構. 光合成研究 51, 17–23.
14. Franklin, K. A., and Whitelam, G. C. (2005) Phytochromes and shade-avoidance responses in plants. *Ann. Bot.* 96, 169–175.
15. Fraser, D. P., Hayes, S., and Franklin, K. A. (2016) Photoreceptor crosstalk in shade avoidance. *Curr. Opin. Plant Biol.* 33, 1–7.
16. Fortunato, A. E., Jaubert, M., Enomoto, G., Bouly, J.-P., Raniello, R., Thaler, M., Malviya, S., Bernardes, J. S., Rappaport, F., Gentili, B., Huysman, M. J. J., Carbone, A., Bowler, C., D'Alcalá, M. R., Ikeuchi, M., and Falciatore, A. (2016) Diatom phytochromes reveal the existence of far-red-light-based sensing in the ocean. *Plant Cell* 28, 616–628.
17. Kaneko, T., Sato, S., Kotani, H., Tanaka, A., Asamizu, E., Nakamura, Y. *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.
18. Yeh, K. C., Wu, S. H., Murphy, J. T., and Lagarias, J. C. (1997) A cyanobacterial phytochrome two-component light sensory system. *Science* 277, 1505–1508.
19. Hughes, J., Lamparter, T., Mittmann, F., Hartmann, E., Gärtner, W., Wilde, A., and Börner, T. (1997) A prokaryotic phytochrome. *Nature* 386, 663.
20. Wilde, A., Fiedler, B., and Börner, T. (2002) The cyanobacterial phytochrome Cph2 inhibits phototaxis towards blue light. *Mol. Microbiol.* 44, 981–988.
21. Moon, Y.-J., Kim, S. Y., Jung, K.-H., Choi, J.-S., Park, Y. M., and Chung, Y.-H. (2011) Cyanobacterial

- phytochrome Cph2 is a negative regulator in phototaxis toward UV-A. *FEBS Lett.* 585, 335–340.
22. Gan, F., Shen, G., and Bryant, D. A. (2014) Occurrence of far-red light photoacclimation (FaRLiP) in diverse cyanobacteria. *Life (Basel, Switzerland)* 5, 4–24.
  23. Zhao, C., Gan, F., Shen, G., and Bryant, D. A. (2015) RfpA, RfpB, and RfpC are the master control elements of far-red light photoacclimation (FaRLiP). *Front. Microbiol.* 6, 1303.
  24. Gan, F., Zhang, S., Rockwell, N. C., Martin, S. S., Lagarias, J. C., and Bryant, D. A. (2014) Extensive remodeling of a cyanobacterial photosynthetic apparatus in far-red light. *Science* 345, 1312–1317.
  25. Matsushita, T., Mochizuki, N., and Nagatani, A. (2003) Dimers of the N-terminal domain of phytochrome B are functional in the nucleus. *Nature* 424, 571–574.
  26. Mukougawa, K., Kanamoto, H., Kobayashi, T., Yokota, A., and Kohchi, T. (2006) Metabolic engineering to produce phytochromes with phytochromobilin, phycocyanobilin, or phycoerythrobilin chromophore in *Escherichia coli*. *FEBS Lett.* 580, 1333–1338.
  27. Gambetta, G. a, and Lagarias, J. C. (2001) Genetic engineering of phytochrome biosynthesis in bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 10566–10571.
  28. Kami, C., Mukougawa, K., Muramoto, T., Yokota, A., Shinomura, T., Lagarias, J. C., and Kohchi, T. (2004) Complementation of phytochrome chromophore-deficient *Arabidopsis* by expression of phycocyanobilin:ferredoxin oxidoreductase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 1099–1104.
  29. Quest, B., Hübschmann, T., Sharda, S., Tandeau de Marsac, N., and Gärtner, W. (2007) Homologous expression of a bacterial phytochrome. The cyanobacterium *Fremyella diplosiphon* incorporates biliverdin as a genuine, functional chromophore. *FEBS J.* 274, 2088–2098.
  30. Rockwell, N. C., Duanmu, D., Martin, S. S., Bachy, C., Price, D. C., Bhattacharya, D., Worden, A. Z., and Lagarias, J. C. (2014) Eukaryotic algal phytochromes span the visible spectrum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 3871–3876.
  31. Karniol, B., and Vierstra, R. D. (2003) The pair of bacteriophytochromes from *Agrobacterium tumefaciens* are histidine kinases with opposing photobiological properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 2807–2812.
  32. Wagner, J. R., Brunzelle, J. S., Forest, K. T., and Vierstra, R. D. (2005) A light-sensing knot revealed by the structure of the chromophore-binding domain of phytochrome. *Nature* 438, 325–331.
  33. Nagano, S. (2016) From photon to signal in phytochromes: Similarities and differences between prokaryotic and plant phytochromes. *J. Plant Res.* 129, 123–135.
  34. Yang, X., Kuk, J., and Moffat, K. (2009) Conformational differences between the Pfr and Pr states in *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophytochrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 15639–15644.
  35. Kehoe, D. M., and Grossman, A. R. (1996) Similarity of a chromatic adaptation sensor to phytochrome and ethylene receptors. *Science* 273, 1409–1412.
  36. Yoshihara, S., Suzuki, F., Fujita, H., Geng, X. X., and Ikeuchi, M. (2000) Novel putative photoreceptor and regulatory genes required for the positive phototactic movement of the unicellular motile cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 41, 1299–1304.
  37. Yoshihara, S., Katayama, M., Geng, X., and Ikeuchi, M. (2004) Cyanobacterial phytochrome-like PixJ1 holoprotein shows novel reversible photoconversion between blue- and green-absorbing forms. *Plant Cell Physiol.* 45, 1729–1737.
  38. Ishizuka, T., Shimada, T., Okajima, K., Yoshihara, S., Ochiai, Y., Katayama, M., and Ikeuchi, M. (2006) Characterization of cyanobacteriochrome TePixJ from a thermophilic cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus* strain BP-1. *Plant Cell Physiol.* 47, 1251–1261.
  39. Hirose, Y., Shimada, T., Narikawa, R., Katayama, M., and Ikeuchi, M. (2008) Cyanobacteriochrome CcaS is the green light receptor that induces the expression of phycobilisome linker protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 9528–9533.
  40. Hirose, Y., Narikawa, R., Katayama, M., and Ikeuchi, M. (2010) Cyanobacteriochrome CcaS regulates phycoerythrin accumulation in *Nostoc punctiforme*, a group II chromatic adapter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 8854–8859.
  41. Enomoto, G., Nomura, R., Shimada, T., Ni-Ni-Win, Narikawa, R., and Ikeuchi, M. (2014) Cyanobacteriochrome SesA is a diguanylate cyclase that induces cell aggregation in *Thermosynechococcus*. *J. Biol. Chem.* 289, 24801–24809.

42. Enomoto, G., Ni-Ni-Win, Narikawa, R., and Ikeuchi, M. (2015) Three cyanobacteriochromes work together to form a light color-sensitive input system for c-di-GMP signaling of cell aggregation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, 8082-8087.
43. Narikawa, R., Suzuki, F., Yoshihara, S., Higashi, S., Watanabe, M., and Ikeuchi, M. (2011) Novel photosensory two-component system (PixA-NixB-NixC) involved in the regulation of positive and negative phototaxis of cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 52, 2214-2224.
44. Song, J.-Y., Cho, H. S., Cho, J.-I., Jeon, J.-S., Lagarias, J. C., and Park, Y.-I. (2011) Near-UV cyanobacteriochrome signaling system elicits negative phototaxis in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 10780-10785.
45. Wiltbank, L. B., and Kehoe, D. M. (2016) Two cyanobacterial photoreceptors regulate photosynthetic light harvesting by sensing teal, green, yellow, and red light. *MBio* 7, e02130-15.
46. 広瀬侑. (2012) シアノバクテリオクロムと補色順化の研究の最近. 光合成研究 63, 5-13.
47. Okajima, K., Yoshihara, S., Fukushima, Y., Geng, X., Katayama, M., Higashi, S., Watanabe, M., Sato, S., Tabata, S., Shibata, Y., Itoh, S., and Ikeuchi, M. (2005) Biochemical and functional characterization of BLUF-type flavin-binding proteins of two species of cyanobacteria. *J. Biochem.* 137, 741-750.
48. Savakis, P., De Causmaecker, S., Angerer, V., Ruppert, U., Anders, K., Essen, L.-O., and Wilde, A. (2012) Light-induced alteration of c-di-GMP level controls motility of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Mol. Microbiol.* 85, 239-251.
49. Campbell, E. L., Hagen, K. D., Chen, R., Risser, D. D., Ferreira, D. P., and Meeks, J. C. (2015) Genetic analysis reveals the identity of the photoreceptor for phototaxis in hormogonium filaments of *Nostoc punctiforme*. *J. Bacteriol.* 197, 782-791.
50. Rockwell, N. C., Martin, S. S., Feoktistova, K., and Lagarias, J. C. (2011) Diverse two-cysteine photocycles in phytochromes and cyanobacteriochromes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 11854-11859.
51. Rockwell, N. C., Martin, S. S., and Lagarias, J. C. (2012) Red/green cyanobacteriochromes: Sensors of color and power. *Biochemistry* 51, 9667-9677.
52. Kawano, Y., Saotome, T., Ochiai, Y., Katayama, M., Narikawa, R., and Ikeuchi, M. (2011) Cellulose accumulation and a cellulose synthase gene are responsible for cell aggregation in the cyanobacterium *Thermosynechococcus vulcanus* RKN. *Plant Cell Physiol.* 52, 957-966.
53. Hirose, Y., Rockwell, N. C., Nishiyama, K., Narikawa, R., Ukaji, Y., Inomata, K., Lagarias, J. C., and Ikeuchi, M. (2013) Green/red cyanobacteriochromes regulate complementary chromatic acclimation via a protochromic photocycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 4974-4979.
54. Narikawa, R., Ishizuka, T., Muraki, N., Shiba, T., Kurisu, G., and Ikeuchi, M. (2013) Structures of cyanobacteriochromes from phototaxis regulators AnPixJ and TePixJ reveal general and specific photoconversion mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 918-923.
55. Ishizuka, T., Kamiya, A., Suzuki, H., Narikawa, R., Noguchi, T., Kohchi, T., Inomata, K., and Ikeuchi, M. (2011) The cyanobacteriochrome, TePixJ, isomerizes its own chromophore by converting phycocyanobilin to phycoviolobilin. *Biochemistry* 50, 953-961.
56. Narikawa, R., Nakajima, T., Aono, Y., Fushimi, K., Enomoto, G., Ni-Ni-Win, Itoh, S., Sato, M., and Ikeuchi, M. (2015) A biliverdin-binding cyanobacteriochrome from the chlorophyll *d*-bearing cyanobacterium *Acaryochloris marina*. *Sci. Rep.* 5, 7950.
57. Narikawa, R., Fushimi, K., Ni-Ni-Win, and Ikeuchi, M. (2015) Red-shifted red/green-type cyanobacteriochrome AM1\_1870g3 from the chlorophyll *d*-bearing cyanobacterium *Acaryochloris marina*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 461, 390-395.
58. Fushimi, K., Nakajima, T., Aono, Y., Yamamoto, T., Ni-Ni-Win, Ikeuchi, M., Sato, M., and Narikawa, R. (2016) Photoconversion and fluorescence properties of a red/green-type cyanobacteriochrome AM1\_C0023g2 that binds not only phycocyanobilin but also biliverdin. *Front. Microbiol.* 7, 588.
59. Narikawa, R., Fukushima, Y., Ishizuka, T., Itoh, S., and Ikeuchi, M. (2008) A novel photoactive GAF domain of cyanobacteriochrome AnPixJ that shows reversible green/red photoconversion. *J. Mol. Biol.* 380, 844-855.
60. Narikawa, R., Enomoto, G., Ni-Ni-Win, Fushimi, K., and Ikeuchi, M. (2014) A new type of dual-Cys cyanobacteriochrome GAF domain found in cyanobacterium *Acaryochloris marina*, which has an

- unusual red/blue reversible photoconversion cycle. *Biochemistry* 53, 5051–5059.
61. Rockwell, N. C., Njuguna, S. L., Roberts, L., Castillo, E., Parson, V. L., Dwojak, S., Lagarias, J. C., and Spiller, S. C. (2008) A second conserved GAF domain cysteine is required for the blue/green photoreversibility of cyanobacteriochrome Tlr0924 from *Thermosynechococcus elongatus*. *Biochemistry* 47, 7304–7316.
  62. Ma, Q., Hua, H. H., Chen, Y., Liu, B. Bin, Krämer, A. L., Scheer, H., Zhao, K. H., and Zhou, M. (2012) A rising tide of blue-absorbing biliprotein photoreceptors - Characterization of seven such bilin-binding GAF domains in *Nostoc* sp. PCC7120. *FEBS J.* 279, 4095–4108.
  63. Rockwell, N. C., Martin, S. S., and Lagarias, J. C. (2012) Mechanistic insight into the photosensory versatility of DXCF cyanobacteriochromes. *Biochemistry* 51, 3576–3585.
  64. Rockwell, N. C., Martin, S. S., Gulevich, A. G., and Lagarias, J. C. (2012) Phycoviolobilin formation and spectral tuning in the DXCF cyanobacteriochrome subfamily. *Biochemistry* 51, 1449–1463.
  65. Narikawa, R., Kohchi, T., and Ikeuchi, M. (2008) Characterization of the photoactive GAF domain of the CikA homolog (SyCikA, Slr1969) of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photochem. Photobiol. Sci.* 7, 1253–1259.
  66. Enomoto, G., Hirose, Y., Narikawa, R., and Ikeuchi, M. (2012) Thiol-based photocycle of the blue and teal light-sensing cyanobacteriochrome Tlr1999. *Biochemistry* 51, 3050–3058.
  67. Burgie, E. S., Walker, J. M., Phillips, G. N. J., and Vierstra, R. D. (2013) A photo-labile thioether linkage to phycoviolobilin provides the foundation for the blue/green photocycles in DXCF-cyanobacteriochromes. *Structure* 21, 88–97.
  68. Cornilescu, C. C., Cornilescu, G., Burgie, E. S., Markley, J. L., Ulijasz, A. T., and Vierstra, R. D. (2014) Dynamic structural changes underpin photoconversion of a blue/green cyanobacteriochrome between its dark and photoactivated states. *J. Biol. Chem.* 289, 3055–3065.
  69. Chen, Y., Zhang, J., Luo, J., Tu, J.-M., Zeng, X.-L., Xie, J., Zhou, M., Zhao, J.-Q., Scheer, H., and Zhao, K.-H. (2012) Photophysical diversity of two novel cyanobacteriochromes with phycocyanobilin chromophores: Photochemistry and dark reversion kinetics. *FEBS J.* 279, 40–54.
  70. Fukushima, Y., Iwaki, M., Narikawa, R., Ikeuchi, M., Tomita, Y., and Itoh, S. (2011) Photoconversion mechanism of a green/red photosensory cyanobacteriochrome AnPixJ: Time-resolved optical spectroscopy and FTIR analysis of the AnPixJ-GAF2 domain. *Biochemistry* 50, 6328–6339.
  71. Song, C., Velazquez Escobar, F., Xu, X.-L., Narikawa, R., Ikeuchi, M., Siebert, F., Gärtner, W., Matysik, J., and Hildebrandt, P. (2015) A red/green cyanobacteriochrome sustains its color despite a change in the bilin chromophore's protonation state. *Biochemistry* 54, 5839–5848.
  72. Rockwell, N. C., Martin, S. S., Lim, S., Lagarias, J. C., and Ames, J. B. (2015) Characterization of red/green cyanobacteriochrome NpR6012g4 by solution nuclear magnetic resonance spectroscopy: A protonated bilin ring system in both photostates. *Biochemistry* 54, 2581–2600.
  73. Song, C., Narikawa, R., Ikeuchi, M., Gärtner, W., and Matysik, J. (2015) Color tuning in red/green cyanobacteriochrome AnPixJ: Photoisomerization at C15 causes an excited-state destabilization. *J. Phys. Chem. B* 119, 9688–9695.
  74. Rockwell, N. C., Martin, S. S., Gulevich, A. G., and Lagarias, J. C. (2014) Conserved phenylalanine residues are required for blue-shifting of cyanobacteriochrome photoproducts. *Biochemistry* 53, 3118–3130.
  75. Rockwell, N. C., Martin, S. S., and Lagarias, J. C. (2016) Identification of cyanobacteriochromes detecting far-red light. *Biochemistry* in press.
  76. Tarutina, M., Ryjenkov, D. A., and Gomelsky, M. (2006) An unorthodox bacteriophytochrome from *Rhodobacter sphaeroides* involved in turnover of the second messenger c-di-GMP. *J. Biol. Chem.* 281, 34751–34758.
  77. Xu, X., Paik, I., Zhu, L., and Huq, E. (2015) Illuminating progress in phytochrome-mediated light signaling pathways. *Trends Plant Sci.* 20, 641–650.
  78. Levsikaya, A., Weiner, O. D., Lim, W. A., and Voigt, C. A. (2009) Spatiotemporal control of cell signalling using a light-switchable protein interaction. *Nature* 461, 997–1001.
  79. Kaberniuk, A. A., Shemetov, A. A., and Verkhusha, V. V. (2016) A bacterial phytochrome-based optogenetic system controllable with near-infrared light. *Nat. Methods* 13, 591–597.
  80. Schmidl, S. R., Sheth, R. U., Wu, A., and Tabor, J. J. (2014) Refactoring and optimization of

- light-switchable *Escherichia coli* two-component systems. *ACS Synth. Biol.* 3, 820–831.
81. Ramakrishnan, P., and Tabor, J. J. (2016) Repurposing Synechocystis PCC6803 UirS-UirR as a UV-violet/green photoreversible transcriptional regulatory tool in *E. coli*. *ACS Synth. Biol.* in press.
  82. Levskaya, A., Chevalier, A. A., Tabor, J. J., Simpson, Z. B., Lavery, L. A., Levy, M., Davidson, E. A., Scouras, A., Ellington, A. D., Marcotte, E. M., and Voigt, C. A. (2005) Synthetic biology: engineering *Escherichia coli* to see light. *Nature* 438, 441–442.
  83. Tabor, J. J., Levskaya, A., and Voigt, C. A. (2011) Multichromatic control of gene expression in *Escherichia coli*. *J. Mol. Biol.* 405, 315–324.
  84. Gasser, C., Taiber, S., Yeh, C.-M., Wittig, C. H., Hegemann, P., Ryu, S., Wunder, F., and Möglich, A. (2014) Engineering of a red-light-activated human cAMP/cGMP-specific phosphodiesterase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 8803–8808.
  85. Ryu, M.-H., Kang, I.-H., Nelson, M. D., Jensen, T. M., Lyuksyutova, A. I., Siltberg-Liberles, J., Raizen, D. M., and Gomelsky, M. (2014) Engineering adenylate cyclases regulated by near-infrared window light. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 10167–10172.
  86. Ryu, M.-H., Moskvin, O. V., Siltberg-Liberles, J., and Gomelsky, M. (2010) Natural and engineered photoactivated nucleotidyl cyclases for optogenetic applications. *J. Biol. Chem.* 285, 41501–41508.
  87. Shu, X., Royant, A., Lin, M. Z., Aguilera, T. A., Lev-Ram, V., Steinbach, P. A., and Tsien, R. Y. (2009) Mammalian expression of infrared fluorescent proteins engineered from a bacterial phytochrome. *Science* 324, 804–807.
  88. Filonov, G. S., and Verkhusha, V. V. (2013) A near-infrared BiFC reporter for in vivo imaging of protein-protein interactions. *Chem. Biol.* 20, 1078–1086.
  89. Zhu, J., Shcherbakova, D. M., Hontani, Y., Verkhusha, V. V., and Kennis, J. T. M. (2015) Ultrafast excited-state dynamics and fluorescence deactivation of near-infrared fluorescent proteins engineered from bacteriophytochromes. *Sci. Rep.* 5, 12840.
  90. Filonov, G. S., Piatkevich, K. D., Ting, L.-M., Zhang, J., Kim, K., and Verkhusha, V. V. (2011) Bright and stable near-infrared fluorescent protein for *in vivo* imaging. *Nat. Biotechnol.* 29, 757–761.
  91. Yu, D., Gustafson, W. C., Han, C., Lafaye, C., Noirclerc-Savoye, M., Ge, W.-P., Thayer, D. A., Huang, H., Kornberg, T. B., Royant, A., Jan, L. Y., Jan, Y. N., Weiss, W. A., and Shu, X. (2014) An improved monomeric infrared fluorescent protein for neuronal and tumour brain imaging. *Nat. Commun.* 5, 3626.
  92. Piatkevich, K. D., Subach, F. V., and Verkhusha, V. V. (2013) Far-red light photoactivatable near-infrared fluorescent proteins engineered from a bacterial phytochrome. *Nat. Commun.* 4, 2153.

## Linear Tetrapyrrole-Binding Photoreceptors in Photosynthetic Organisms

Rei Narikawa\*

Department of Biological Science, Faculty of Science, Shizuoka University

## 解説

フラビン結合型光受容体の多様な光反応とシグナル伝達機構<sup>‡</sup>

<sup>1</sup>慶應義塾大学理工学研究科 <sup>2</sup>理化学研究所播磨 Spring-8  
岡島 公司<sup>1,2,\*</sup>

生物は環境からの光を感知する機構を進化させてきた。その一つとして青色光を感知するフラビン結合光受容体が見つかっている。PHR、LOV、BLUF の3種類の光受容ドメインはそれぞれ異なった光反応を介して青色光シグナルを生理シグナルへと変換する。本解説では、それぞれのドメインが示す特徴的な光反応機構について比較する。また、フラビン結合光受容ドメインの特徴である暗回帰過程を含む光反応サイクルとアウトプットの制御時間の関係について LOV を例にして解説する。さらに、BLUF を持つ PixD と LOV を持つフォトトロピンの光誘起構造変化についての過渡回折法や X 線小角散乱による解析について紹介する。

## 1. はじめに

生物は光をエネルギーとして利用するだけでなく、環境情報としても利用している。青色光受容体として、フラビン結合タンパク質が見つかっている。フラビンはほぼ全ての生物がリボフラビンや FMN、FAD として保有している。フラビンの分子骨格の中心であるイソアロキサジン環の物理化学的特徴は、2つの電子の授受が可能であり、広い酸化還元電位を持つことである。酸化型とキノン型は可視部に吸収を持ち、酸化型が光を吸収すると、一重項励起状態を経て、三重項励起状態を形成する。それは、水溶液中では O<sub>2</sub>・ラジカルを生成する。こうした特性を利用し、酸化還元酵素、光回復酵素の補酵素としてはたらいっている<sup>1)</sup>。

フラビン結合光受容ドメインとして、PHR (Photolyase related region)、LOV (Light-Voltage-Oxygen)、BLUF (Blue light using FAD) が見つかっている<sup>2)</sup>。PHR をもつクリプトクローム (cryptochrome、CRY) は、植物の青色光応答である伸長抑制、アントシアニン合成を制御する光受容体としてみつかかり、その後、概日時計のリセット等の多くの光応答にかかわること

がわかってきた<sup>3,4)</sup>。CRY は DNA 光回復酵素と相同性が高く、バクテリアから植物、動物まで広く分布している。

LOV タンパク質は、植物の光屈性を制御する光受容体として見つかったフォトトロピンの (phototropin、phot) の光受容ドメインとして知られている<sup>5,6)</sup>。LOV は植物からバクテリアまで広く分布し、様々なアウトプットドメインを制御することがゲノム解析からあきらかになっている<sup>7)</sup>。

BLUF は、ミドリムシの光驚動反応を制御する眼点にある、光制御アデニル酸シクラーゼ (PAC) の光受容ドメインとして<sup>8)</sup>、また、*Rhodobacter sphaeroides* の光合成遺伝子の発現制御因子 (AppA) の光受容ドメインとして見つかった<sup>9)</sup>。ゲノム解析の発展により、多くのバクテリアにおいてもその存在が明らかになった。

## 2. 多彩な光反応を利用するフラビン光受容体

3種類のフラビン結合光受容ドメインは、それぞれ特徴的な光反応を示す。他の発色団では見られない特徴である。タンパク質の内部に保持されているフラビンが、アミノ酸側鎖と特異的な構造をつくることで反応性を制限し、多様な反応を見せている。以下に各ドメインの構造的特徴とそれ

<sup>‡</sup>解説特集「光合成生物が有する光受容体」

\*連絡先 E-mail: okajima@phys.keio.ac.jp

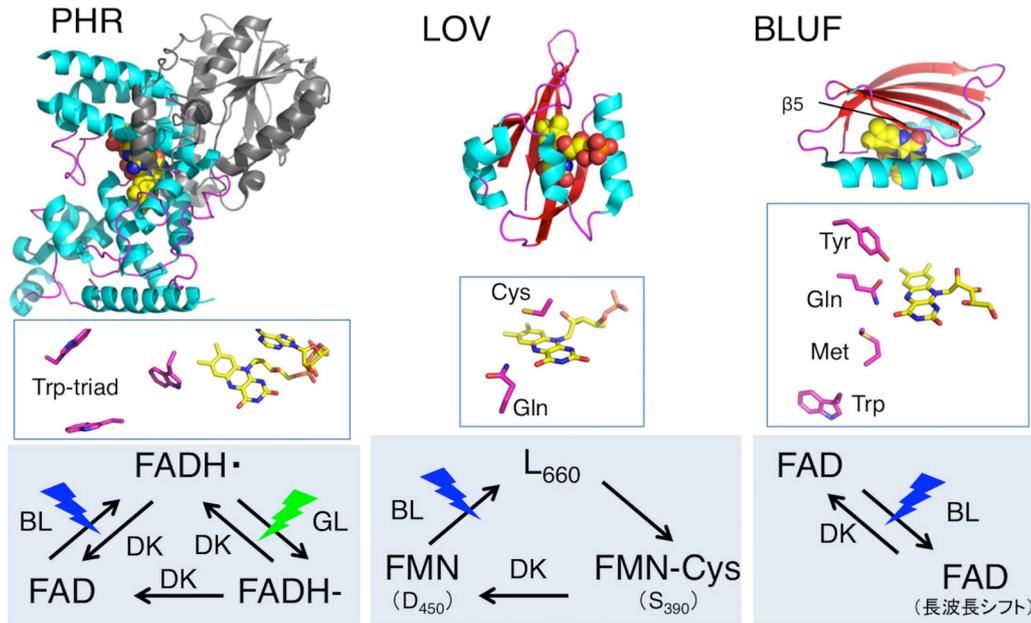


図 1. フラビン結合光受容ドメインの構造と光反応サイクル

PHR、LOV、BLUF の結晶構造 (上段) PHR では DNA photolyase ドメインはグレーで示した。光受容にかかわるイソアロキサジン環周辺のアミノ酸側鎖の配置 (中段)。光反応サイクルの模式図 (下段)。

らが見せる光反応を示す (図 1)。

## 2.1. CRY

CRY は光回復酵素と相溶性が高い、PHR を持つ。PHR は Pfam データベースでは DNA\_photolyase と FAD\_binding\_7 と 2 つのドメインに分けられているが、多くの文献で PHR として扱われている。他の 2 つのドメインと異なり、ヘリックスのみから構成されているポケットの中に FAD が保持されている。この他、タンパク質表面にアンテナとして機能する MTHF や ATP、DNA を結合することも知られている<sup>4)</sup>。シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*, At) の CRY は暗所で酸化型の FAD を結合している。青色光によって緑から橙色にかけてブロードな吸収を持つ FADH $\cdot$  が形成される。さらに、FADH $\cdot$  は緑色光で FADH $^-$  に還元される。光によって形成された FADH $\cdot$  や FADH $^-$  は暗所で元に戻る<sup>10)</sup>。FAD で起こる電子移動の電子ドナーとして At CRY1 では 3 つの Trp 残基 (Trp-triad; W324, W377, W400) の関与が示唆されており、この変異体では光依存的電子移動反応や植物での生理応答がなくなることが示されている<sup>4)</sup>。植物の CRY は FADH $\cdot$  が活性型であると考えられているが議論の余地があ

る<sup>11)</sup>。一方、CRY を介した磁場変化の感知機構の存在が、植物やハエ、蝶、渡り鳥において示唆されている。その機構として、CRY で [FAD $\cdot\cdot$  / Trp $\cdot$  +] が形成されることで磁場の変化の感知が可能であるという radical pair 機構が提唱されている<sup>12)</sup>。

## 2.2. LOV

LOV は PAS スーパーファミリーのサブファミリーの一つで<sup>13)</sup>、本来はその名の由来のように光、酸素、電位を感知する広い機能を含めたドメインであるが、最近では光受容ドメインとして使われている場合が多いようである。5 本の逆平行  $\beta$  シートとその上にある数本の短い  $\alpha$  ヘリックスから構成されている。FAD はイソアロキサジン環の N5 や O4 を  $\beta$  シートに向け、リビトール部分がヘリックスに相互作用している<sup>14)</sup>。暗所では酸化型の FMN が非共有的に保持されており、450 nm 付近に 3 つのピークを持つ特徴的な吸収スペクトルを示す (D<sub>450</sub>)。光照射によって、FMN は、一重項励起状態を経て三重項励起状態を形成する。さらに、F $\alpha$  ヘリックス上の保存された Cys 残基とイソアロキサジン環の C4a との間に共有結合 (アダクト) が形成され、吸収ピークが 390

nm 付近に現れる ( $S_{390}$ )<sup>15,16)</sup>。このアダクトは、熱的に元の状態 ( $D_{450}$ ) に戻る (暗回復)。暗回復に要する時間は数秒から数時間とそれぞれの LOV で異なる<sup>17)</sup>。 $S_{390}$  の形成に伴い、イソアロキサジン環周辺 (特に N5 周辺) の水素結合の改変がおこり、LOV の構造変化が引き起こされアウトプットの活性化が促される。

### 2.3. BLUF

BLUF は、5 本の逆平行  $\beta$  シートとその上に 2 本の  $\alpha$  ヘリックスがシートと平行に走っている<sup>18)</sup>。FAD のイソアロキサジン環の O4 や N5 は  $\beta$  シートを向き、リビトール部分は二本のヘリックスに挟まれ固定されている。酸化型の FAD が非共有的に保持されており、その近傍には保存された、チロシンとグルタミン、メチオニン、トリプトファン側鎖が特徴的な水素結合ネットワークを形成している。光によって励起されると、高速での電荷移動がおこり、グルタミン側鎖と FAD の O4 間の水素結合が強まった状態 (吸収スペクトルが約 10 nm の長波長シフトした状態) が  $\sim 10$  ns で形成される。長波長シフト状態は、熱的に元の状態に数秒から数分で元に戻る<sup>9,19)</sup>。長波長シフト状態の形成には Tyr 残基や Gln 残基のつくる水素結合ネットワークが必須である。

長波長シフトに伴い、イソアロキサジン環の近傍の Met 残基や Trp 残基のポジションの変化がおこり、 $\beta 5$  ストランドの構造が変化する<sup>20)</sup>。この Met 残基や Trp 残基の明/暗でのポジションについては、分子種によって異なる報告があるが、光誘起される Met 残基/Trp 残基のポジションのシフトと  $\beta 5$  ストランドの構造変化は BLUF のアウトプットとして共通な機構であると考えられる。

アミノ酸配列では全く異なる LOV と BLUF であるが、ドメインの全体構造 (5 本の  $\beta$  シートと  $\alpha$  ヘリックス) が似ているほか、イソアロキサジン環周辺の構造も似ていることは興味深い。BLUF において、LOV の光反応性 Cys 残基を模倣する位置に Cys 残基を導入すると  $S_{390}$  に似たアダクトを形成する<sup>21)</sup>。これらの構造はイソアロキサジン環の反応性の制御に都合がよかったのかもしれない。

### 3. 光シグナルの伝播・伝達機構

PHR、LOV、BLUF で受容したシグナルは、どのように分子内、分子間へと伝播・伝達されるのだろうか? PHR をもつ光受容体は制御するドメインの多様性はほとんど無く、C 末端側に Cryptochrome\_C ドメインを持つ。植物 CRY の C 末端側の領域は細胞内で青色光を受容するとリン酸化されることが知られており、リン酸化は、自己リン酸化と他のタンパク質によるリン酸化によるものと考えられる<sup>4,11)</sup>。光誘起リン酸化と構造変化によってタンパク質相互作用を変化させることによってシグナルを伝える。相互作用タンパク質として、CIB、COP、SPA 等の因子が見つっている。

一方、LOV や BLUF は多様なドメインの制御をしている。At phot1 では、活性制御を主に行う LOV2 の C 末端に  $J\alpha$  ヘリックスと呼ばれる長いヘリックスが接続し、LOV2 の  $\beta$  シートの表面と相互作用している。LOV2 で  $S_{390}$  が形成されると  $J\alpha$  ヘリックスが LOV2 から解離し、ほどける<sup>22,23)</sup>。この構造変化により、キナーゼ活性が制御されていると考えられている。2 量体を形成しているオーレオクローム (*Phaeodactylum tricornutum*) では、アダクトが形成されると、LOV とその N-、C-末端にある  $\alpha$  ヘリックスとの相互作用の変化により、LOV の 2 量体構造が変化し、N 末端側にある bZIP の制御を行うことが示唆されている<sup>24)</sup>。また、LOV-ヒスチジンキナーゼ (EL346、*Erythrobacter litoralis*) では、ヘリックススループヘリックスを介して LOV が C 末端側にあるヒスチジンキナーゼ活性を制御する。LOV の C 末端側の  $\alpha$  ヘリックスは YtvA (*Bacillus subtilis*) など多くの LOV で見られる (図 2)。

BLUF のみをもつ PixD (*Synechocystis* sp. PCC 6803 (Sy)、*Thermosynechococcus elongatus* BP-1 (Te)) の C 末端領域は 2 本の  $\alpha$  ヘリックスを作り、BLUF の  $\beta$  シートに直行して接している<sup>18)</sup>。光依存の解離を示す 10 量体 PixD<sub>10</sub> 複合体では  $\alpha$  ヘリックスが PixD どうしを繋いでいる。OaPAC (光活性アデニルシクラーゼ、*Oscillatoria acuminata*) では BLUF の  $\beta$  シート上

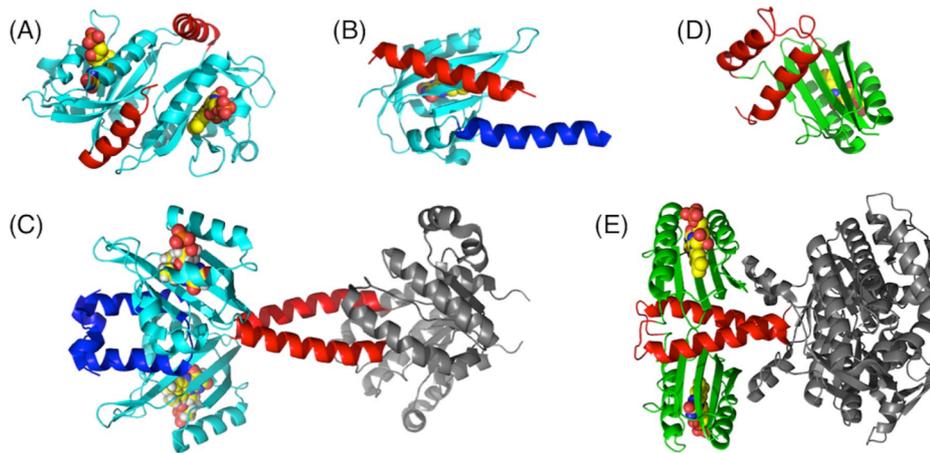


図 2. LOV と BLUF でみられる N-, C-末端にあるヘリックス構造

N-, C-末端にあるヘリックスはそれぞれ青と赤で示した。LOV、BLUF、アウトプットドメインは淡青色、淡緑色、灰色で示した。(A) から (E) は、オーレオクローム LOV (5a8b)、At phot1 LOV2 (4hhd)、YtvA 全長 (2mwig)、TePixD (1x0p)、OaPAC 全長 (4ytu)。

にある長い  $\alpha$ ヘリックスを介して2量体を形成している<sup>25)</sup>。BLUFの構造変化がヘリックスを通してC末端にあるアデニルシクラーゼの活性調節を行っていると考えられる。

面白いことに、LOVやBLUFの多くは、ドメインの前後に $\alpha$ ヘリックスを有している(図2)。光受容ドメインでの構造変化は、これらの $\alpha$ ヘリックスの構造変化が他のドメインやタンパク質との相互作用を変化させることで、シグナルの伝播・伝達が起こると考えられる。

#### 4. フォトサイクルとアウトプット

3つのフラビン結合光受容ドメインは異なる光反応を示すが、共通な特徴として光励起により、中間体を経て元に戻る暗回復過程が光反応サイクルに含まれることがあげられる(フィトクロムやオプシンでは、2つの安定な状態を光によって行き来する)。暗回復時間は、分子によって異なるほか、変異導入や溶媒条件、温度によっても変化する<sup>26)</sup>。このような光受容ドメインの特性は生理応答にどのように反映されているのだろうか? 光合成生物は常に強度や波長が変化している光が降り注ぐ環境下で生育している。このような環境下では光受容体分子は、光平衡状態になっていると考えられる。LOVの光反応モデルが作られており<sup>27)</sup>、図3Aで示されるLOVの光反応における $D_{450}$ の割合 $f_{D_{450}}$ は次の式で示すこと

ができる。

$$f_{D_{450}} = \left\{ \frac{[D_0]}{c_{tot}} - \frac{k_{re}}{Q_D k_{exD} + k_{re}} \right\} e^{-(Q_D k_{exD} + k_{re})t} + \frac{k_{re}}{Q_D k_{exD} + k_{re}}$$

$$k_{exD} \approx I_0 \epsilon_D \ln(10)$$

ここで、反応中間体( $L_{660}$ )の寿命が非常に短く、 $S_{390}$ がアウトプットを活性化すると仮定すると、LOV光受容体の活性化されている分子の割合

$f_{LOV_{active}}$ は

$$f_{LOV_{active}} \propto f_{S_{390}} = 1 - f_{D_{450}}$$

さらに、時間0からtまでのシグナルの総量は、

$$P_{tot} \propto \int_0^t f_{LOV_{active}}$$

と表すことができる。暗状態であるLOVが光照射を受けると、照射時間とともに $S_{390}$ が蓄積し、平衡点に達する。照射される光強度が増加すると、 $S_{390}$ が増加する。量子収率と照射強度が同じ場合、暗回復時間が長くなると平衡時の $S_{390}$ の割合は高くなる。また、量子収率も $S_{390}$ の割合に影響することがわかる(図3B)。

我々は、At photの光制御可能なキナーゼ活性を示すLOV2-セリン/スレオニンキナーゼ領域(LOV2-STK)において、キナーゼ活性と光強度

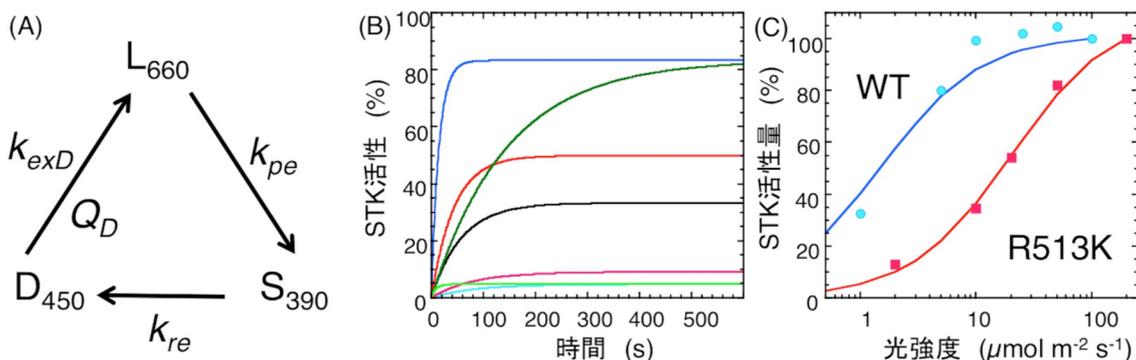


図 3. LOV の光反応サイクル (A)。定常光下での LOV の S<sub>390</sub> 状態の蓄積の時間変化 (B)

本文中の式において、このとき C<sub>tot</sub>: 受容体の濃度、[D<sub>0</sub>]: D<sub>450</sub> の初期濃度、Q<sub>D</sub>: D<sub>450</sub> の量子収率、k<sub>exD</sub>: 中間体の反応速度、k<sub>re</sub>: S<sub>390</sub> から D<sub>450</sub> への速度、I<sub>0</sub>: 光強度、ε<sub>D</sub>: LOV のモル吸光係数である。図中、I<sub>0</sub>、k<sub>re</sub>、Q<sub>D</sub> の各値は黒色: 10 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>、60 s、0.25 (At phot1 LOV2-STK をモデルにした); 青色: 100、60、0.25; 淡青色: 1、60、0.25; 緑色: 10、600、0.25; 淡緑色: 10、6、0.25; 赤色: 10、60、0.5; 桃色: 10、60、0.025。At phot1 LOV2-STK の活性量の *in vitro* の実験結果 (丸と四角) とシミュレーションの割合のプロット (実線) (C)。15°C での実験結果とシミュレーション。青色と赤色はそれぞれ WT と R513K の結果を示す。

の関係を生化学的に調べた<sup>28)</sup>。LOV2 の暗回帰速度が速い phot2 LOV2-STK (t<sub>1/2</sub> = 7 s、20°C) では、キナーゼの 50%活性を示す光強度は約 20 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> であったのに対して、暗回帰速度が遅い phot1 LOV2-STK (t<sub>1/2</sub> = 59 s、20°C) では 2 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> であった。また、暗回帰速度が遅い変異体 phot1 LOV2-STK\_R513K (t<sub>1/2</sub> = 6 s、15°C) は phot1 LOV2-STK (t<sub>1/2</sub> = 90 s、15°C) と比べて、キナーゼ活性の光強度感受性の低下が見られた。これらの LOV2 では見かけの量子収率はほとんど変わらないため、暗回復速度が、光強度感受性の違いの原因であると考えられる。phot1 LOV2-STK と R513K の 15°C での暗回復速度を元にしたキナーゼ活性のシミュレーションの結果は、実験結果とよく一致している (図 3C)。また、同じ光強度下でも、温度が低くなるにつれて、活性の上昇がみられた。LOV の暗回復速度の温度依存性は非常に高く、温度の低下により S<sub>390</sub> の暗回復時間が長くなったことで、活性化状態の割合が増加したと考えられる。このことは、LOV が間接的な温度センサーとして機能できることを示唆している。

暗回復を示す CRY や BLUF でも同様の光環境の変化による光平衡点のシフトによって活性化状態にある分子の割合が変化すると考えられる。暗回復反応という物理化学的性質を持つフラビン光受容体は、単に青色に対してのセンサーだけ

ではなく、光強度や温度のセンサーとしても機能すると考えられる。暗回帰速度の変化により、光感受性を制御できることで、少ない分子数での環境への応答が可能であり、細胞内でのエネルギーのコストパフォーマンスが良いのかもしれない。生物はそれぞれの生育環境下において、応答性をチューニングしてきた結果、幅広い暗回復時間を示すフラビン光受容体がつくられたと考えられる。

### 5. 光反応が誘起する光受容体のダイナミクス

光受容体を示す光誘起構造変化はシグナル伝達機構の理解に重要である。しかし、タンパク質分子の構造や動きに関する解析方法が少ない。我々の進めてきた過渡回折法 (Transient grating、TG) による BLUF タンパク質 PixD の解析と X 線小角散乱法 (Small Angle X-ray Scattering、SAXS) による At やクラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*、Cr) phot の解析を紹介する。

#### 5.1. PixD の構造変化

PixD は *Synechocystis* sp. PCC 6803 (Sy) の走光性を調節する光受容体であり、*Thermosynechococcus elongatus* BP-1 (Te) もホモログを持つ<sup>19)</sup>。約 150 アミノ酸残基からなり、

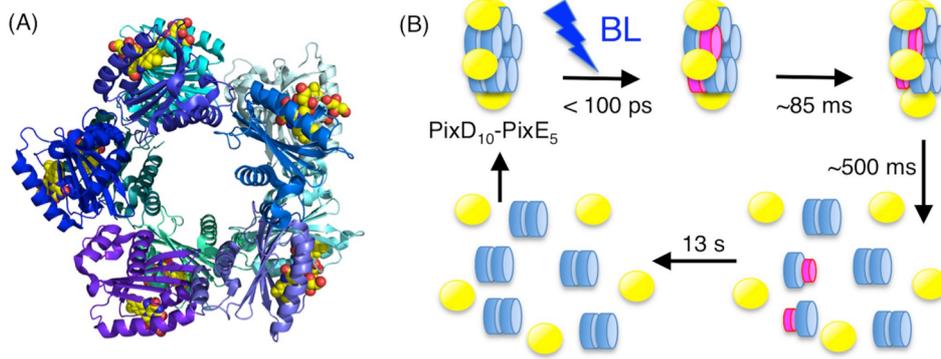


図 4.10 量体 PixD<sub>10</sub> の結晶構造 (A) と PixD<sub>10</sub>-PixE<sub>5</sub> 複合体の光誘起構造変化の時間変化のモデル (B)

暗所で 10 量体を形成する (図 4A)。レスポンスレギュレーターである PixE と暗所で 10:5 (もしくは 10:4) で複合体 (PixD<sub>10</sub>-E<sub>5</sub>) を形成し、青色光照射によって PixD<sub>10</sub>-E<sub>5</sub> は解離する<sup>29,30</sup>。しかし、複合体の立体構造はわかっていない。

PixD および PixD<sub>10</sub>-E<sub>5</sub> の光依存的なタンパク質構造の時間変化を追跡するために、過渡回折法 (TG) による解析を行った。TG は、二つに分けた励起光をサンプル付近で再び交わるように照射させることで、サンプルの励起状態/基底状態の縞をつくる。縞を通過するプローブ光は回折され、その強度の時間変化は縞を構成する励起された分子と基底状態の分子の拡散定数の情報を含む。拡散定数は分子の体積を反映しており、分子の構造変化の情報を得ることができる<sup>31</sup>。

暗所で 10 量体を形成している PixD<sub>10</sub> は、光照射後、2 量体 PixD<sub>2</sub> へと変化する (時定数 = 350 ms)。M93A 変異体では、吸収の長波長シフトは示すが、この構造変化は観測されない。PixD<sub>10</sub>-E<sub>5</sub> 複合体では、10 分子の PixD のうち 2 分子が励起され体積の減少がおこる (時定数 = 85 ms) と、PixD<sub>10</sub>-E<sub>5</sub> 複合体は 2 量体 PixD<sub>2</sub> と PixE の単量体に解離する (時定数 = 500 ms) ことが示唆された。PixD の長波長シフト状態が元に戻る (時定数 = 13 s) と再び PixD<sub>10</sub>-E<sub>5</sub> 複合体を形成すると考えられる (図 4B)。ns オーダーでの FAD 近傍での電荷移動から始まった分子内シグナル伝達は、Met93 残基のシフト、β5 ストランドの構造変化等を経て、ms オーダーで分子間 (PixD<sub>10</sub>-E<sub>5</sub> 複合体の解離) へ伝播したことを示している<sup>31-33</sup>。

一方で Te の PixD の構造変化の追跡を高圧条件下でおこなっている。高圧条件下では長波長シフト状態の形成は起こるが、10 量体 PixD<sub>10</sub> の解離は示さなくなった。高圧条件下ではフラビン近傍の反応は進んでも、タンパク質全体の構造変化には制限がかかり、大きな分子構造の変化には至らなかったと考えられる<sup>34</sup>。こうした解析は、タンパク質分子の作動原理の解明につながる研究として期待される。

## 5.2. フォトトロピンの光誘起構造変化

phot は陸上植物で光屈性、葉緑体定位運動、気孔開口、葉の伸展を制御し、藻類・クラミドモナス (Cr) では、生殖分化、眼点サイズの調節、遺伝子発現等を制御する<sup>6,35,36</sup>。phot 分子は約 1000 アミノ酸残基からなり、2つの LOV (LOV1、LOV2) とセリン/スレオニンキナーゼ (STK) をもつ (図 5A)。LOV1 と LOV2 は既に結晶構造が解かれている。STK は AGC グループ VIII に属し、多くの機能的なモチーフ等が保存され、N ロープ、C ロープと呼ばれる構造をもっており、ホモロジーによる立体構造モデルを作ることができる<sup>37</sup>。しかし、phot の STK には、活性化ループ領域に塩基性側鎖に富んだ約 50 残基ほどの挿入配列が存在し、この領域の構造や機能はわかっていない。各ドメインの構造はわかっているものの、phot 分子全体としての各ドメインの配置や構造、光誘起構造変化についてわかっていなかった。

我々は、At phot1 と phot2 の LOV2-STK 領域、Cr phot 全長の *in vitro* での実験系を確立してきた。

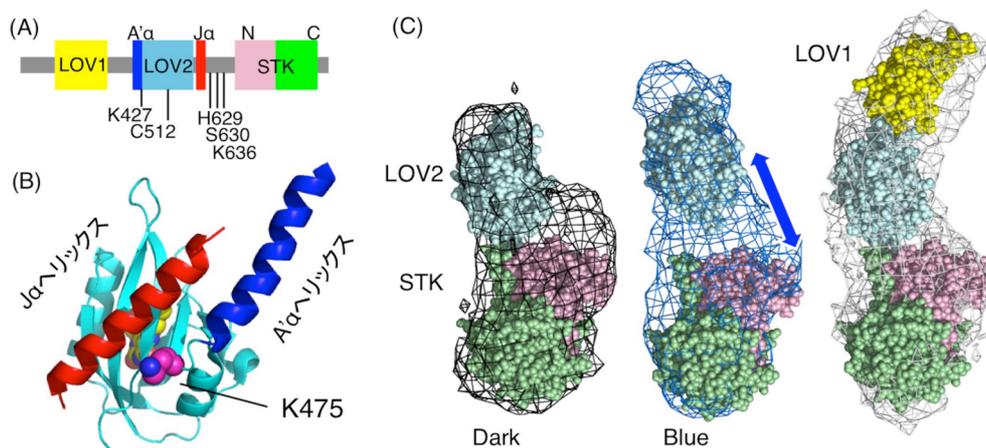


図 5. Phot のドメイン構造と At phot1 LOV2-STK の生化学的解析からみつけたシグナル伝達にかかわるアミノ酸残基 (A)。At phot1 の A'αヘリックス-LOV2-Jα の結晶構造 (4hhd) (B)。SAXS による At phot2 LOV2-STK の暗所および青色光下の構造と Cr phot 全長の暗所の構造 (C)

phot1 の LOV2-STK の変異導入解析と STK 活性測定により、LOV2 の N および C 末端側にある領域に STK の活性調節に関わるアミノ酸残基を見つけている。A'α-ヘリックスは、Ja ヘリックスと平行に LOV2 の β シートに相互作用している (図 5B)。この A'α ヘリックスを欠落させると STK の活性が失われ、A'α/Aβ-gap 上にある Lys475 を Ala に置換した変異体で STK 活性が低下した。LOV2 での光反応にはほとんど影響がなかったことから Lys475 が分子内シグナル伝達に関わっていると考えられる<sup>38)</sup>。結晶構造を見ると Lys475 はタンパク質表面に露出しており、他の部分との相互作用が示唆される<sup>39)</sup> (図 5B)。また、Ja ヘリックスより C 末端側のリンカー領域 (他のドメインと比べてアミノ酸残基の保存性は低い) に対して行った変異導入解析から、Ser629、His630、Lys636 をそれぞれ Ala 残基に置換した変異体で STK の光依存的な活性の低下が見られた。LOV2 の N 末端側のヘリックス、C 末端側のリンカー領域も STK の光依存的な活性制御に関わることが示唆された<sup>40)</sup>。

生化学的結果を裏付ける構造学的知見を得るために、我々は SAXS による解析を行った。SAXS はタンパク質分子が X 線を散乱する性質を利用した測定方法であり、幅広い温度、pH の条件下にある溶液サンプルの測定が可能である。分子量、最大分子長、慣性半径を見積もることができ、非

経験的な解析手法による計算によって SAXS プロファイルから、低分解能での分子概形の推定ができる。構成するドメインの構造がわかっている分子や複合体の概形構造の推定、分子の構造変化の解析に有効な手法である<sup>41,42)</sup>。

At phot2 LOV2-STK の SAXS の解析から、図 5C のような分子概形が得られた ( $110 \times 40 \times 35 \text{ \AA}^3$ )。LOV2 と STK の N ロープと C ロープが縦に連なる配向で分子概形に当てはめることができた。LOV2 が STK の横 (N ロープと C ロープの横) に位置する分子モデルと縦に並んだモデルを作成し、それぞれの SAXS プロファイルを計算すると、縦のモデルが実験結果を再現していたことから、このモデルが妥当であることが確かめられた。青色光下では、慣性半径の増加 ( $32.4 \text{ \AA}$  から  $34.8 \text{ \AA}$ ) が見られ、分子が伸長しており、LOV2 が STK から離れていることが示唆された (図 5C)。この光依存構造変化は暗所で元にもどる可逆的な反応であった。同様な構造や光誘起構造変化は Cr phot LOV2-STK でもみられた。変異導入解析の結果を考慮すると、LOV2 の N、C 末端にある 2 本のヘリックス (A'α、Ja ヘリックス) やリンカー領域は LOV2 と STK の間に位置すると考えられる。青色光照射により、LOV2 で S<sub>390</sub> が形成されると、Ja ヘリックスの構造変化が起き、LOV2 が STK から離れることで STK の活性化が引き起こされると考えられる。これは、phot での LOV2

による STK 制御の共通な機構であると考えられる<sup>37,43,44)</sup>。

Cr phot 全長の SAXS 解析から、Cr phot が単量体で、 $140 \times 40 \times 40 \text{ \AA}^3$  の分子概形が得られた。Cr phot LOV2-STK の分子構造を考慮すると、LOV2-STK の LOV2 の先に LOV1 が位置することが示唆された。青色光照射によって、慣性半径が  $42.7 \text{ \AA}$  から  $43.4 \text{ \AA}$  に変化したことから、Cr phot では単量体のまま、LOV2 と STK のドメイン配向が変わることが示唆された。また、Cr phot 全長の UV-Vis 吸収スペクトル解析では LOV1 の有無で LOV2 の暗回復速度が変化した。LOV1 は LOV2 を介して間接的に STK の光強度の感受性の制御をおこなっていると考えられる<sup>44)</sup>。

近年、phot の基質や相互作用因子が明らかになっており<sup>45,46)</sup>、今後、分子間シグナル伝達やクロストークの機構についての分子レベルでの解明が期待される。

## 6. フラビン光受容体の応用利用

光受容体の特性を利用した機能性タンパク質の開発は近年盛んに行われており、フラビン光受容体でも、多くの分子が開発されている。フラビン光受容体の利点は、発色団であるフラビンは動物細胞でも合成できタンパク質に結合できることである。また、水溶性のドメインであり、様々な分子との接続などの分子設計が比較的容易に行える等が挙げられる。これまでに、LOV、CRY、BLUF のもつ相互作用や構造変化を利用した分子が考案されている<sup>47)</sup>。

その一部として、LOV を利用した機能性分子の例をあげる。iLOV は LOV をベースにして、変異導入により光反応性を欠損し、蛍光性を向上させたタンパク質で、GFP よりも小さい蛍光ラベルとして利用出来る<sup>48)</sup>。LOV-Rac は光依存的な GTPase 活性を有し、青色光照射によって細胞運動の制御を可能にしている<sup>49)</sup>。LOV-PKI では LOV と  $\text{J}\alpha$  ヘリックスとの間に PKA の阻害ペプチドである PKI を挿入し、PKI ペプチドの構造変化を光依存的に制御することで PKA の制御を行う<sup>50)</sup>。

今後光だけでなく、レドックス、磁場への応答

などのフラビンの物理化学的性質を利用した、新奇の分子の開発が期待される。

## 7. おわりに

生物が長い時間をかけて進化させてきたフラビン光受容体は、フラビンの持つ物理化学的性質をうまく利用して、光環境の感知を行っている。今後、分子内および分子間シグナル伝達機構、シグナルクロストーク機構の解明へと研究が展開すると考えられる。また、そうした知見はオプトジェネティクスや機能性分子の開発などの応用利用に対しても多くのヒントを与えるだろう。

Received July 7, 2016; Accepted July 19, 2016; Published August 31, 2016

## 参考文献

1. Edwards, A. M. (2014) Structure and general properties of flavins. *Methods Mol. Biol.* 1146, 3–13.
2. Conrad, K. S., Manahan, C. C., and Crane, B. R. (2014) Photochemistry of flavoprotein light sensors. *Nat. Chem. Biol.* 10, 801–809.
3. Ahmad, M., and Cashmore, A. R. (1993) HY4 gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. *Nature* 366, 162–166.
4. Chaves, I., Pokorny, R., Byrdin, M., Hoang, N., Ritz, T., Brettel, K., Essen, L. O., van der Horst, G. T., Batschauer, A., and Ahmad, M. (2011) The cryptochromes: Blue light photoreceptors in plants and animals. *Annu. Rev. Plant Biol.* 62, 335–364.
5. Christie, J. M., Reymond, P., Powell, G. K., Bernasconi, P., Raibekas, A. A., Liscum, E., and Briggs, W. R. (1998) *Arabidopsis* NPH1: A flavoprotein with the properties of a photoreceptor for phototropism. *Science* 282, 1698–1701.
6. Christie, J. M. (2007) Phototropin blue-light receptors. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 21–45.
7. Losi, A., Mandalari, C., and Gartner, W. (2015) The evolution and functional role of flavin-based prokaryotic photoreceptors. *Photochem. Photobiol.* 91, 1021–1031.
8. Iseki, M., Matsunaga, S., Murakami, A., Ohno, K., Shiga, K., Yoshida, K., Sugai, M., Takahashi, T., Hori, T., and Watanabe, M. (2002) A blue-light-activated adenylyl cyclase mediates photoavoidance in *Euglena gracilis*. *Nature*

- 415, 1047–1051.
9. Masuda, S., and Bauer, C. E. (2002) AppA is a blue light photoreceptor that antirepresses photosynthesis gene expression in *Rhodobacter sphaeroides*. *Cell* 110, 613–623.
  10. Bouly, J. P., Schleicher, E., Dionisio-Sese, M., Vandenbussche, F., Van Der Straeten, D., Bakrim, N., Meier, S., Batschauer, A., Galland, P., Bittl, R., and Ahmad, M. (2007) Cryptochrome blue light photoreceptors are activated through interconversion of flavin redox states. *J. Biol. Chem.* 282, 9383–9391.
  11. Liu, B., Yang, Z., Gomez, A., Liu, B., Lin, C., and Oka, Y. (2016) Signaling mechanisms of plant cryptochromes in *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Res.* 129, 137–148.
  12. Hore, P. J., and Mouritsen, H. (2016) The radical-pair mechanism of magnetoreception. *Annu. Rev. Biophys.* 45, 299–344.
  13. Moglich, A., Ayers, R. A., and Moffat, K. (2009) Structure and signaling mechanism of Per-ARNT-Sim domains. *Structure* 17, 1282–1294.
  14. Crosson, S., and Moffat, K. (2002) Photoexcited structure of a plant photoreceptor domain reveals a light-driven molecular switch. *Plant Cell* 14, 1067–1075.
  15. Salomon, M., Christie, J. M., Knieb, E., Lempert, U., and Briggs, W. R. (2000) Photochemical and mutational analysis of the FMN-binding domains of the plant blue light receptor, phototropin. *Biochemistry* 39, 9401–9410.
  16. Swartz, T. E., Corchnoy, S. B., Christie, J. M., Lewis, J. W., Szundi, I., Briggs, W. R., and Bogomolni, R. A. (2001) The photocycle of a flavin-binding domain of the blue light photoreceptor phototropin. *J. Biol. Chem.* 276, 36493–36500.
  17. Kasahara, M., Swartz, T. E., Olney, M. A., Onodera, A., Mochizuki, N., Fukuzawa, H., Asamizu, E., Tabata, S., Kanegae, H., Takano, M., Christie, J. M., Nagatani, A., and Briggs, W. R. (2002) Photochemical properties of the flavin mononucleotide-binding domains of the phototropins from *Arabidopsis*, rice, and *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 129, 762–773.
  18. Kita, A., Okajima, K., Morimoto, Y., Ikeuchi, M., and Miki, K. (2005) Structure of a cyanobacterial BLUF protein, Tl10078, containing a novel FAD-binding blue light sensor domain. *J. Mol. Biol.* 349, 1–9.
  19. Okajima, K., Yoshihara, S., Fukushima, Y., Geng, X., Katayama, M., Higashi, S., Watanabe, M., Sato, S., Tabata, S., Shibata, Y., Itoh, S., and Ikeuchi, M. (2005) Biochemical and functional characterization of BLUF-type flavin-binding proteins of two species of cyanobacteria. *J. Biochem.* 137, 741–750.
  20. Masuda, S. (2013) Light detection and signal transduction in the BLUF photoreceptors. *Plant Cell Physiol.* 54, 171–179.
  21. Takahashi, R., Okajima, K., Suzuki, H., Nakamura, H., Ikeuchi, M., and Noguchi, T. (2007) FTIR study on the hydrogen bond structure of a key tyrosine residue in the flavin-binding blue light sensor TePixD from *Thermosynechococcus elongatus*. *Biochemistry* 46, 6459–6467.
  22. Harper, S. M., Neil, L. C., and Gardner, K. H. (2003) Structural basis of a phototropin light switch. *Science* 301, 1541–1544.
  23. Harper, S. M., Neil, L. C., Day, I. J., Hore, P. J., and Gardner, K. H. (2004) Conformational changes in a photosensory LOV domain monitored by time-resolved NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 3390–3391.
  24. Heintz, U., and Schlichting, I. (2016) Blue light-induced LOV domain dimerization enhances the affinity of Aureochrome 1a for its target DNA sequence. *eLife* 5, e11860.
  25. Ohki, M., Sugiyama, K., Kawai, F., Tanaka, H., Nihei, Y., Unzai, S., Takebe, M., Matsunaga, S., Adachi, S., Shibayama, N., Zhou, Z., Koyama, R., Ikegaya, Y., Takahashi, T., Tame, J. R., Iseki, M., and Park, S. Y. (2016) Structural insight into photoactivation of an adenylate cyclase from a photosynthetic cyanobacterium. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 113, 6659–6664.
  26. Diensthuber, R. P., Engelhard, C., Lemke, N., Gleichmann, T., Ohlendorf, R., Bittl, R., and Moglich, A. (2014) Biophysical, mutational, and functional investigation of the chromophore-binding pocket of light-oxygen-voltage photoreceptors. *ACS Synth. Biol.* 3, 811–819.
  27. van der Steen, J. B., Nakasone, Y., Hendriks, J., and Hellingwerf, K. J. (2013) Modeling the functioning of YtvA in the general stress response in *Bacillus subtilis*. *Mol. Biosyst.* 9, 2331–2343.
  28. Okajima, K., Kashojiya, S., and Tokutomi, S. (2012) Photosensitivity of kinase activation by blue light involves the lifetime of a cysteinyl-flavin adduct intermediate, S390, in the photoreaction cycle of the LOV2 domain in phototropin, a plant blue light

- receptor. *J. Biol. Chem.* 287, 40972–40981.
29. Yuan, H., and Bauer, C. E. (2008) PixE promotes dark oligomerization of the BLUF photoreceptor PixD. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 11715–11719.
  30. Ren, S., Sugimoto, Y., Kobayashi, T., and Masuda, S. (2015) Cross-linking analysis reveals the putative dimer structure of the cyanobacterial BLUF photoreceptor PixD. *FEBS Lett.* 589, 1879–1882.
  31. Tanaka, K., Nakasone, Y., Okajima, K., Ikeuchi, M., Tokutomi, S., and Terazima, M. (2009) Oligomeric-state-dependent conformational change of the BLUF protein TePixD (TII0078). *J. Mol. Biol.* 386, 1290–1300.
  32. Tanaka, K., Nakasone, Y., Okajima, K., Ikeuchi, M., Tokutomi, S., and Terazima, M. (2011) Light-induced conformational change and transient dissociation reaction of the BLUF photoreceptor *Synechocystis* PixD (Slr1694). *J. Mol. Biol.* 409, 773–785.
  33. Tanaka, K., Nakasone, Y., Okajima, K., Ikeuchi, M., Tokutomi, S., and Terazima, M. (2012) Time-resolved tracking of interprotein signal transduction: *Synechocystis* PixD-PixE complex as a sensor of light intensity. *J. Am. Chem. Soc.* 134, 8336–8339.
  34. Kuroi, K., Okajima, K., Ikeuchi, M., Tokutomi, S., and Terazima, M. (2014) Transient conformational fluctuation of TePixD during a reaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 14764–14769.
  35. Ermilova, E. V., Zalutskaya, Z. M., Huang, K., and Beck, C. F. (2004) Phototropin plays a crucial role in controlling changes in chemotaxis during the initial phase of the sexual life cycle in *Chlamydomonas*. *Planta* 219, 420–427.
  36. Im, C. S., Eberhard, S., Huang, K., Beck, C. F., and Grossman, A. R. (2006) Phototropin involvement in the expression of genes encoding chlorophyll and carotenoid biosynthesis enzymes and LHC apoproteins in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant J.* 48, 1–16.
  37. Okajima, K. (2016) Molecular mechanism of phototropin light signaling. *J. Plant Res.* 129, 149–157.
  38. Kashojiya, S., Okajima, K., Shimada, T., and Tokutomi, S. (2015) Essential role of the A'alpha/Abeta gap in the N-terminal upstream of LOV2 for the blue light signaling from LOV2 to kinase in *Arabidopsis* phototropin1, a plant blue light receptor. *PLoS One* 10, e0124284.
  39. Halavaty, A. S., and Moffat, K. (2013) Coiled-coil dimerization of the LOV2 domain of the blue-light photoreceptor phototropin 1 from *Arabidopsis thaliana*. *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* 69, 1316–1321.
  40. Kashojiya, S., Yoshihara, S., Okajima, K., and Tokutomi, S. (2016) The linker between LOV2-Jalpha and STK plays an essential role in the kinase activation by blue light in *Arabidopsis* phototropin1, a plant blue light receptor. *FEBS Lett.* 590, 139–147.
  41. Guinier, A., and Fournet, G. (1955) *Small-Angle Scattering of X-rays*, John Wiley, New York
  42. Svergun, D. I., Petoukhov, M. V., and Koch, M. H. (2001) Determination of domain structure of proteins from X-ray solution scattering. *Biophys. J.* 80, 2946–2953.
  43. Takayama, Y., Nakasako, M., Okajima, K., Iwata, A., Kashojiya, S., Matsui, Y., and Tokutomi, S. (2011) Light-induced movement of the LOV2 domain in an Asp720Asn mutant LOV2-kinase fragment of *Arabidopsis* phototropin 2. *Biochemistry* 50, 1174–1183.
  44. Okajima, K., Aihara, Y., Takayama, Y., Nakajima, M., Kashojiya, S., Hikima, T., Oroguchi, T., Kobayashi, A., Sekiguchi, Y., Yamamoto, M., Suzuki, T., Nagatani, A., Nakasako, M., and Tokutomi, S. (2014) Light-induced conformational changes of LOV1 (light oxygen voltage-sensing domain 1) and LOV2 relative to the kinase domain and regulation of kinase activity in *Chlamydomonas* phototropin. *J. Biol. Chem.* 289, 413–422.
  45. Christie, J. M., Yang, H., Richter, G. L., Sullivan, S., Thomson, C. E., Lin, J., Titapiwatanakun, B., Ennis, M., Kaiserli, E., Lee, O. R., Adamec, J., Peer, W. A., and Murphy, A. S. (2011) *phot1* inhibition of ABCB19 primes lateral auxin fluxes in the shoot apex required for phototropism. *PLoS Biol.* 9, e1001076.
  46. Takemiya, A., Sugiyama, N., Fujimoto, H., Tsutsumi, T., Yamauchi, S., Hiyama, A., Tada, Y., Christie, J. M., and Shimazaki, K. (2013) Phosphorylation of BLUS1 kinase by phototropins is a primary step in stomatal opening. *Nat. Commun.* 4, 2094.
  47. Zhang, K., and Cui, B. (2015) Optogenetic control of intracellular signaling pathways. *Trends Biotechnol.* 33, 92–100.
  48. Chapman, S., Faulkner, C., Kaiserli, E., Garcia-Mata,

- C., Savenkov, E. I., Roberts, A. G., Oparka, K. J., and Christie, J. M. (2008) The photoreversible fluorescent protein iLOV outperforms GFP as a reporter of plant virus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 20038–20043.
49. Wu, Y. I., Frey, D., Lungu, O. I., Jaehrig, A., Schlichting, I., Kuhlman, B., and Hahn, K. M. (2009) A genetically encoded photoactivatable Rac controls the motility of living cells. *Nature* 461, 104–108.
50. Yi, J. J., Wang, H., Vilela, M., Danuser, G., and Hahn, K. M. (2014) Manipulation of endogenous kinase activity in living cells using photoswitchable inhibitory peptides. *ACS Synth. Biol.* 3, 788–795.

## Flavin-Binding Photoreceptors: Photocycles and Signaling Mechanisms

Koji Okajima<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Physics, Faculty of Science and Technology, Keio University, <sup>2</sup>RIKEN Harima Institute, Spring-8

## 解説

微生物型ロドプシンの多様な機能<sup>‡</sup>

東京大学 大気海洋研究所 地球表層圏変動研究センター

吉澤 晋\*

我々は風景や絵画、時に生物や“小さきもの”を見て美しいと感じることがある、琴線に触れる部分は人により様々であるが、この感情を引き起こす情報の一つに目を通して得られる視覚情報がある。この情報を得るために我々が用いる光受容体、それがロドプシンである。ロドプシンは発色団としてレチナールを持つ光受容体の総称で、大きく分けると動物型と微生物型の2種類が存在する。本稿では、肉眼では観察できない“小さきもの”が持つ微生物型ロドプシンに注目し、その多様な機能について紹介したい。

## 1. はじめに

我々は目の中に、タンパク質オプシンにレチナールが結合したロドプシンと呼ばれる視物質を持っており、この視物質を通して視覚情報を得ている。このロドプシンは、発色団としてレチナールを持つ7回膜貫通型光受容体の総称であり、レチナールが光を受容することで起こる構造変化を起点とし、その機能が働く。ロドプシンを使って光を利用する機構は何も高等生物に限られたものではなく、様々なそして多様な生物群がロドプシンを持ち光を利用することが知られており、真核生物が目として利用する Type2 ロドプシン（動物型ロドプシン）と微生物が持つ Type1 ロドプシン（微生物型ロドプシン）に大別される。これらのロドプシン構造は非常に類似しているが、それぞれ独立に開発され進化してきたと考えられている（図1）。

微生物の持つ Type1 ロドプシンは1970年代に塩湖に住む高度好塩古細菌から初めて発見されバクテリオロドプシン（BR）と名付けられた。Type1 ロドプシンのおおよその分子量は26 kDaで、250程度の長さのアミノ酸からなる光受容体であるが、2000年頃までは塩湖に生息する生物に特有のタンパク質であると考えられていた。し

かしながら、近年の遺伝子解析手法の発展に伴い、実に様々な微生物がロドプシンを持つことが明らかとなり（表1）、その機能の機序のみならず生態学的側面からや神経生物学におけるアプリケーションとしても注目されている。筆者の感覚では、水圏の有光層にはほとんど例外なくロドプシンを持つ微生物が存在するという印象がある。本稿では、ロドプシン機能の詳細な解説は他の良書に譲るとして、微生物型ロドプシンの多様な機能について順を追って紹介する。

## 2. 微生物型ロドプシンの発見 -バクテリオロドプシン（BR）

BRは1971年に *Halobacterium salinarum* R1（当時は *H. halobium* と分類されていた）の細胞内に存在する紫色を呈した構造体（紫膜）からレチナールが結合した視物質ロドプシン様タンパク質として見出された<sup>1)</sup>。その後、紫膜中のタンパク質はほぼBRのみであること、紫膜に光照射をすると溶液のpHが下降することから、BRが光駆動型H<sup>+</sup>ポンプ機能を有するロドプシンであることが明らかになった<sup>2)</sup>。現在では、レチナールの光受容後に起こる構造変化や、H<sup>+</sup>輸送機構の詳細までも解明されており、最も理解された膜タンパク質の一つと呼ばれている。BRは古細菌（Archaea）ドメインの Euryarchaeota 門の *Halobacterium* 属の古細菌から見つかったロドプ

<sup>‡</sup>解説特集「光合成生物が有する光受容体」

\*連絡先 E-mail: yoshizawa@aori.u-tokyo.ac.jp

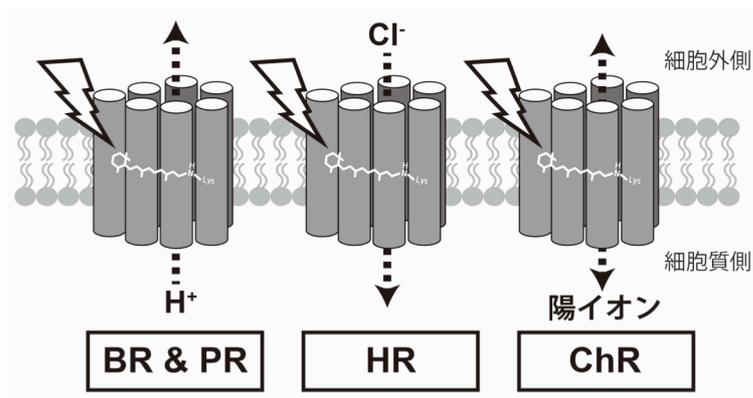


図 1. 代表的な微生物型ロドプシンの構造

7 回膜貫通型の光受容タンパク質で、全トランスレチナールがリジンアミノ酸とシッフ塩基結合をしている。BR はバクテリオロドプシン、PR はプロテオロドプシン、HR はハロロドプシン、ChR は陽イオンチャネルロドプシンを表している。

シンであるのに、BR という名称は現在では少々違和感を覚えるが、古細菌ドメインは 1977 年に Woese らによって提案されているので<sup>3)</sup>、BR の発見当時は *Halobacterium* 属の持つバクテリア型ロドプシンで BR という名称は全く正しかったのである。

### 2.1. ハロロドプシン (HR)

HR は BR と同じく *H. salinarum* R1 から見つかった、光駆動型 Cl<sup>-</sup>取り込みポンプ機能を持つロドプシンである<sup>4)</sup>。こちらは BR を有する紫色の細胞ではなく、R1 株の赤色変異体の細胞に光照射すると溶液 pH が増加することが観察され、その後の解析から Cl<sup>-</sup>を内向きに輸送するポンプであることが明らかになった<sup>5)</sup>。

### 2.2 センサリーロドプシン (SR)

SR は *H. salinarum* の BR 欠失変異株を用いた解析から見つかった、微生物の走光性を担う光センサー型のロドプシンである<sup>6,7)</sup>。1 分子で機能するイオンポンプ型ロドプシンとは異なり、トランスデューサータンパク質 (Htr) と呼ばれる長い細胞質領域を持つ膜タンパク質と複合体を形成することでセンサー機能を発現する。レチナールが光を受容することで惹起される一連の光反応サイクルは、イオンポンプ型ロドプシンよりも SR の方が遅いことが知られている。これはイオンポンプ型の本分である膜電位の形成は、反応サイクルが早いほど効率が良くなるのに対して、センサー型の場合は反応途中で光シグナルが増幅されると考えられており、シグナル伝達の効率を

上げるために遅いサイクルを持つと理解されている。

センサリーロドプシンには緑色～赤色 (570～590 nm) 付近の光に向かう正の走光性を駆動する SR1 と、青色の光 (480～500 nm) から逃げる負の走光性を駆動する SR2 が存在する<sup>8,9)</sup>。

### 2.3. アナベナセンサリーロドプシン (ASR)

淡水性シアノバクテリアである *Anabaena* (*Nostoc*) sp. PCC 7120 から見つかったセンサー型ロドプシンである<sup>10)</sup>。プロトン輸送に必要なアミノ酸残基が保存されていないこと、光反応サイクルが遅いこと、イオンポンプ活性を持たないことなどから、光センサーであると考えられている。また、ASR の隣に 14 kDa のタンパク質がゲノム上にセットで存在することから、複合体を作って働くと考えられており、そのタンパク質は ASR-transducer (ASRT) と命名された。しかしながら、ASRT 非存在下でも光センサーとして働くことも示されており<sup>11)</sup>、必ずしもセットで働く光センサー型ロドプシンではないことが分かってきた。

### 2.4. チャネルロドプシン (ChR)

ChR は緑藻綱に属するモデル生物であるコナミドリムシ (*Chlamydomonas reinhardtii*) から見つかった、淡水性真核微生物の持つ陽イオンチャネルロドプシンである<sup>12,13)</sup>。これまで原核生物で発見されていた BR、HR のように光で一つの方向にイオンを能動輸送するイオンポンプとは異なり、膜電位に従って陽イオンを受動的に輸送す

表 1. ロドプシンの種類とその機能

名称	略語	生物種	機能	利用波長
バクテリオロドプシン	BR	高度好塩菌 <sup>2</sup>	H <sup>+</sup> ポンプ	約570 nm
ハロロドプシン	HR	高度好塩菌 <sup>2</sup>	Cl <sup>-</sup> ポンプ	約570 nm
センサリーロドプシン1	SR1	高度好塩菌 <sup>2</sup>	光センサー (正の走光性)	570-590 nm
センサリーロドプシン2	SR2	高度好塩菌 <sup>2</sup>	光センサー (負の走光性)	480-500 nm
アナバセンサリーロドプシン	ASR	シアノバクテリア ( <i>Nostoc</i> sp. PCC7120)	光センサー	約543 nm
チャンネルロドプシン <sup>1</sup>	ChR	緑藻 (クラミドモナス)	陽イオンチャンネル	440-590 nm
プロテオロドプシン	PR	海洋細菌 <sup>3</sup>	H <sup>+</sup> ポンプ	約490 nm and 約525 nm <sup>4</sup>

<sup>1</sup> 現在では、海洋性クリプト藻からアニオン型チャンネルロドプシンも見つかっている。

<sup>2</sup> 好塩古細菌以外に好塩細菌からも見つかる。

<sup>3</sup> 海洋古細菌からも報告例がある。

<sup>4</sup> プロテオロドプシンには青色吸収型と緑色吸収型の2種類が知られている。

るチャンネルとして働く。つまり光開閉式の陽イオンチャンネルである。クラミドモナスは眼点を持ち、走光性を示すことから、ChRの開閉により光を感じていると考えられている。一般的なイオンポンプ型ロドプシンと異なり、約700残基にも及ぶアミノ酸配列からなる。BRなどのイオンポンプによるH<sup>+</sup>の細胞外への輸送は、タンパク質内に存在するカルボキシル基(-COOH)が段階的にH<sup>+</sup>を受け渡すことによって達成されることが分かっているが、Na<sup>+</sup>やCa<sup>2+</sup>などといった大きな陽イオンがロドプシントタンパク質の内部を通るのか、はたまた複合体を形成することでロドプシン外部にイオン輸送チャンネルを持つのかは全く分かっていなかった。しかしながら、X線結晶構造解析からChRの詳細な立体構造が明らかになり、Na<sup>+</sup>などの大きな陽イオンもロドプシン内部を通過することが示された<sup>14)</sup>。また、2015年には、海洋性のクリプト藻 *Guillardia theta* CCMP2712 のゲノムから陰イオンチャンネルロドプシン(ACR)が見つかった<sup>15)</sup>。チャンネルロドプシンは生物活動を光で操作する技術(光遺伝学またはオプトジェネティクスと呼ばれる)の開発に貢献し<sup>16)</sup>、今後の発展に最も重要なロドプシンとして、様々な分野から注目されている<sup>17)</sup>。

## 2.5. プロテオロドプシン (PR)

PRは海洋細菌を対象とした網羅的DNA解析(メタゲノム)から見つかった光駆動型H<sup>+</sup>輸送ロドプシンである<sup>18)</sup>。PR遺伝子は海洋に最も優占するガンマプロテオバクテリアである SAR86

グループのゲノム断片から見つかったため、その分類群の名称からプロテオ-ロドプシンと名付けられた。PRはその吸収波長から緑色吸収型(GPR)と青色吸収型(BPR)と呼ばれる2タイプが見つかっており、青色光のみが存在する深い場所ではBPRが優占すると考えられている<sup>19)</sup>。現在では、表層に生息する原核生物の13-80%がPR遺伝子を持つと推定されており、海洋生態系を理解する上で微生物型ロドプシンを通して流れ込む太陽光エネルギー量は無視できないと考えられている<sup>20,21)</sup>。

## 3. ロドプシン研究の流れ

本稿で紹介した微生物型ロドプシンは、その発見の経緯により大きく2つに分けられる。BR、HR、SRは好塩菌分離株の細胞内構造や光照射への応答などの詳細な観察から見つかったのに対して、2000年以降に発見されたASR、ChR、ACR、PRはゲノムデータなどの塩基配列を対象としたホモロジー検索から見つかった。次世代シーケンサーの登場以降はさらにその流れが顕著になり、遺伝子配列データから新規ロドプシン遺伝子の探索、そして機能解析という流れが現在では主流になっている。具体例を挙げると、2005年に好塩細菌の *Salinibacter ruber* M31<sup>T</sup>ゲノムから補助色素が結合する初めてのロドプシンが発見されキサントロドプシン(XR)と名付けられた<sup>22)</sup>。2013年には海洋性 *Flavobacteria* の *Krokinobacter* ゲノムから光でNa<sup>+</sup>を輸送する新しいロドプシン(NaR)が<sup>23)</sup>、2014年には

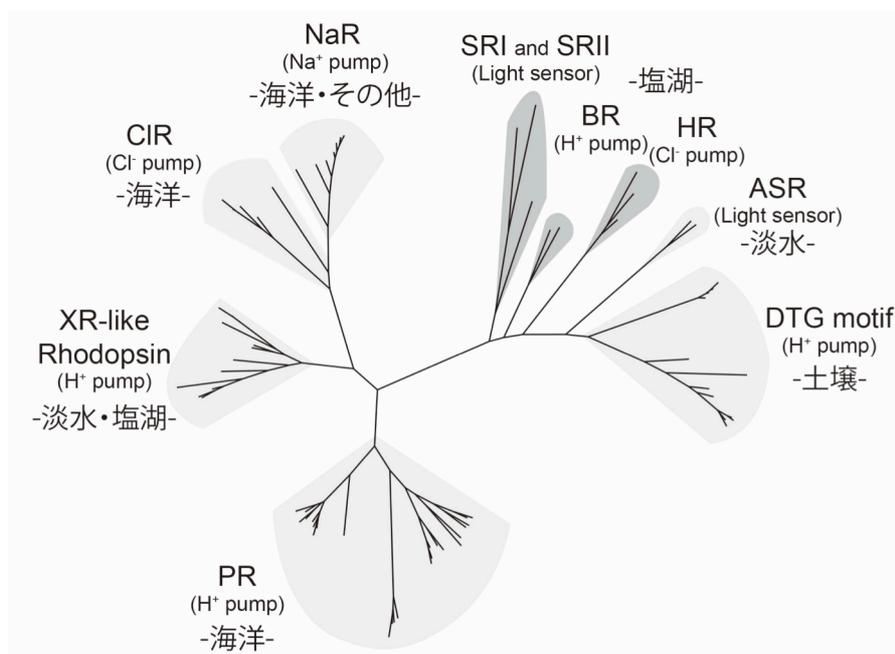


図 2. ロドプシンの分子系統樹とその機能

ロドプシクレードごとにグレーの領域で囲った（濃いグレーの領域は塩湖から見つかったグループ）。ロドプシン名の下に機能と生息環境を示す。同じ機能を持つロドプシンがまとまった1つのグループを作らないことが、この図から見て取れる。

*Nonlabens marinus* S1-08<sup>T</sup> のゲノムから Cl<sup>-</sup> を輸送する新しいロドプシン (CIR) が報告されている<sup>24)</sup>。またコナミドリムシの眼点から ChR 以外にも、ヒスチジンキナーゼが融合したロドプシン (HKR) や<sup>25)</sup>、真菌類に属する *Blastocladiella emersonii* からグアニル酸シクラーゼ (RhGC) が融合したロドプシンが見つかるなど<sup>26)</sup>、数々の新しいロドプシンが遺伝子解析を軸とする研究から見つかっている。ホモロジー検索だけでは未知ロドプシンを見落とす可能性もあるため、他の方法も試されてはいるが<sup>27)</sup>、しばらくは遺伝子情報解析がロドプシン多様性解明の鍵を握ると思われる。

#### 4. ロドプシン機能は何度も独立して開発された？

多様な機能と言っても、イオンポンプ機能は H<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup> 輸送に限られている、しかしながらこの系統関係が面白い (図 2)。なぜなら、H<sup>+</sup> を輸送するロドプシン (BR や PR) や、Cl<sup>-</sup> を輸送するロドプシン (HR や CIR) は機能は同じであるが、分子系統樹上は非常に離れて存在するのだ。これ

は BR や HR は塩湖で、PR や CIR は海洋で、それぞれ独立に開発されたことを示している。しかしながら、最初のロドプシンは何なのか？イオン輸送型なのか？だとすればどのイオンを輸送していたのか？などの事柄もよく分かっていない。今後、ロドプシン遺伝子を持つ細菌ゲノムが多数解読されることで、多様化メカニズムが明らかになることを期待したい。

#### 5. おわりに

遺伝子解析の発展に伴い、2000 年までは塩湖の好塩古細菌という特殊な生物にのみ存在すると考えられていた光エネルギー利用機構が、様々な環境に住む微生物に広く存在することが分かってきた。また、原核・真核生物を問わずクロロフィルを持つ光合成生物からも続々とロドプシン遺伝子が見つかっている。光合成をする真核生物はかつてシアノバクテリアのたった一度の細胞内共生に端を発しており、現在はオルガネラ化した葉緑体を持つようになったと考えられている。一方で、ロドプシンを持つ真核微生物は、原核生物からの (おそらく) 水平伝播によって染色

体上にその遺伝子を保持している<sup>28)</sup>。光合成は多くのタンパク質が関与する洗練された機構ゆえに、そのシステムを丸ごと獲得する必要があったのだろう。一方で、ロドプシンは発色団レチナールとオプシントタンパク質の2つがあれば機能する単純な機構であるため、オルガネラ化する必要がなく、遺伝子のみが伝播されたと筆者は考えている。今後、大規模遺伝子情報解析によって解き明かされるロドプシンの多様化創出メカニズムは、一つの遺伝子の歴史を解説するだけにとどまらず、光エネルギー利用機構の進化史に新たな1ページを書き加えるほどのインパクトを持つことだろう。

Received June 29, 2016; Accepted July 8, 2016; Published August 31, 2016

#### 参考文献

- Oesterhelt, D. and Stoeckenius, W. (1971) Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*. *Nat. New Biol.* 233, 149–152.
- Oesterhelt, D. and Stoeckenius, W. (1973) Functions of a new photoreceptor membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 70, 2853–2857.
- Woese, C.R. and Fox, G.E. (1977) Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74, 5088–5090.
- Matsuno-Yagi, A. and Mukohata, Y. (1977) Two possible roles of bacteriorhodopsin; A comparative study of strains of *Halobacterium halobium* differing in pigmentation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 78, 237–243.
- Schobert, B. and Lanyi, J.K. (1982) Halorhodopsin is a light-driven chloride pump. *J. Biol. Chem.* 257, 306–313.
- Tsuda, M., Hazemoto, N., Kondo, M., Kamo, N., Kobatake, Y. and Terayama, Y. (1982) Two photocycles in *Halobacterium halobium* that lacks bacteriorhodopsin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 108, 970–976.
- Bogomolni, R.A. and Spudich, J.L. (1982) Identification of a third rhodopsin-like pigment in phototactic *Halobacterium halobium*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79, 6250–6254.
- Stoeckenius, W., Wolff, E.K. and Hess, B. (1988) A rapid population method for action spectra applied to *Halobacterium halobium*. *J. Bacteriol.* 170, 2790–2795.
- Takahashi, T., Tomioka, H., Kamo, N. and Kobatake, Y. (1985) A photosystem other than Ps370 also mediates the negative phototaxis of *Halobacterium halobium*. *FEMS Microbiol. Lett.* 28, 161–164.
- Jung, K.H., Trivedi, V.D. and Spudich, J.L. (2003) Demonstration of a sensory rhodopsin in eubacteria. *Mol. Microbiol.* 47, 1513–1522.
- Irieda, H., Morita, T., Maki, K., Homma, M., Aiba, H. and Sudo, Y. (2012) Photo-induced regulation of the chromatic adaptive gene expression by *Anabaena* sensory rhodopsin. *J. Biol. Chem.* 287, 32485–32493.
- Nagel, G., Ollig, D., Fuhrmann, M., Kateriya, S., Mustl, A.M., Bamberg, E. and Hegemann, P. (2002) Channelrhodopsin-1: A light-gated proton channel in green algae. *Science* 296, 2395–2398.
- Nagel, G., Szellas, T., Huhn, W., Kateriya, S., Adeishvili, N., Berthold, P., Ollig, D., Hegemann, P. and Bamberg, E. (2003) Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 13940–13945.
- Kato, H.E., Zhang, F., Yizhar, O., Ramakrishnan, C., Nishizawa, T., Hirata, K., Ito, J., Aita, Y., Tsukazaki, T., Hayashi, S., Hegemann, P., Maturana, A.D., Ishitani, R., Deisseroth, K. and Nureki, O. (2012) Crystal structure of the channelrhodopsin light-gated cation channel. *Nature* 482, 369–374.
- Govorunova, E.G., Sineshchekov, O.A., Janz, R., Liu, X. and Spudich, J.L. (2015) Natural light-gated anion channels: A family of microbial rhodopsins for advanced optogenetics. *Science* 349, 647–650.
- Boyden, E.S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G. and Deisseroth, K. (2005) Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat. Neurosci.* 8, 1263–1268.
- Deisseroth, K. (2015) Optogenetics: 10 years of microbial opsins in neuroscience. *Nat. Neurosci.* 18, 1213–1225.
- Beja, O., Aravind, L., Koonin, E.V., Suzuki, M.T., Hadd, A., Nguyen, L.P., Jovanovich, S., Gates, C.M., Feldman, R.A., Spudich, J.L., Spudich, E.N. and DeLong, E.F. (2000) Bacterial rhodopsin: Evidence for a new type of phototrophy in the sea. *Science* 289, 1902–1906.
- Man, D.L., Wang, W.W., Sabehi, G., Aravind, L.,

- Post, A.F., Massana, R., Spudich, E.N., Spudich, J.L. and Beja, O. (2003) Diversification and spectral tuning in marine proteorhodopsins. *EMBO J.* 22, 1725–1731.
20. DeLong, E.F. and Beja, O. (2010) The light-driven proton pump proteorhodopsin enhances bacterial survival during tough times. *PLoS Biol.* 8, e1000359.
21. Yoshizawa, S., Kawanabe, A., Ito, H., Kandori, H. and Kogure, K. (2012) Diversity and functional analysis of proteorhodopsin in marine *Flavobacteria*. *Environ. Microbiol.* 14, 1240–1248.
22. Balashov, S.P., Imasheva, E.S., Boichenko, V.A., Anton, J., Wang, J.M. and Lanyi, J.K. (2005) Xanthorhodopsin: A proton pump with a light-harvesting carotenoid antenna. *Science* 309, 2061–2064.
23. Inoue, K., Ono, H., Abe-Yoshizumi, R., Yoshizawa, S., Ito, H., Kogure, K. and Kandori, H. (2013) A light-driven sodium ion pump in marine bacteria. *Nat. Commun.* 4, 1678.
24. Yoshizawa, S., Kumagai, Y., Kim, H., Ogura, Y., Hayashi, T., Iwasaki, W., DeLong, E.F. and Kogure, K. (2014) Functional characterization of flavobacteria rhodopsins reveals a unique class of light-driven chloride pump in bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 6732–6737.
25. Luck, M., Mathes, T., Bruun, S., Fudim, R., Hagedorn, R., Tra, M.T.N., Kateriya, S., Kennis, J.T.M., Hildebrandt, P. and Hegemann, P. (2012) A photochromic histidine kinase rhodopsin (HKR1) that is bimodally switched by ultraviolet and blue light. *J. Biol. Chem.* 287, 40083–40090.
26. Scheib, U., Stehfest, K., Gee, C.E., Korschen, H.G., Fudim, R., Oertner, T.G. and Hegemann, P. (2015) The rhodopsin-guanylyl cyclase of the aquatic fungus *Blastocladiella emersonii* enables fast optical control of cGMP signaling. *Sci. Signal.* 8, rs8.
27. Pushkarev, A. and Beja, O. (in press) Functional metagenomic screen reveals new and diverse microbial rhodopsins. *ISME J.*
28. Curtis, B.A., Tanifuji, G., Burki, F., Gruber, A., Irimia, M., Maruyama, S. *et al.* (2012) Algal genomes reveal evolutionary mosaicism and the fate of nucleomorphs. *Nature* 492, 59–65.

## Functional Diversity of Microbial Rhodopsins

Susumu Yoshizawa\*

Center for Earth Surface System Dynamics, Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo

## 報告記事

## 第7回 日本光合成学会（年会・公開シンポジウム）開催報告

シンポジウムオーガナイザー：柏山 祐一郎

年会世話人：鞆 達也

第7回日本光合成学会（年会・公開シンポジウム）が、2016年5月27～28日に東京理科大学葛飾キャンパス（図書館ホールおよびホワイエ）で行われました。葛飾キャンパスは2013年に開設され、大会会場となった図書館の建物は2015年に第31回日本図書館協会建築賞を受賞しています。年会参加者は196名、ポスター発表83題、企業展示6件でした。参加者、ポスター発表ともに昨年度年会より増加しましたが、一昨年の近畿大学での年会よりは減少していました。懇親会のマグロの有無で無いことを祈ります。最近ではコンスタントに200人前後で参加者は推移しており、本年会の盛況さを伺わせません。今回は東京理科大学と共催としたことから会場費は無料で行うことができました。日本光合成学会は多くの学生参加者を募っていることから年会参加費を抑えており、今後は200人を確実に収容でき、会場費の安いところをコンスタントに探す必要がありそうです。また、今回は東京開催ということで地の利も良いことから、例年年会二日目はお昼過ぎに終わっていたところをシンポジウムオーガナイザーの柏山さんの一声により変更し、夕方5時まで行い充実した討論ができました。その分、会場の撤収作業は夜遅くまでかかることにはなりましたが・・・

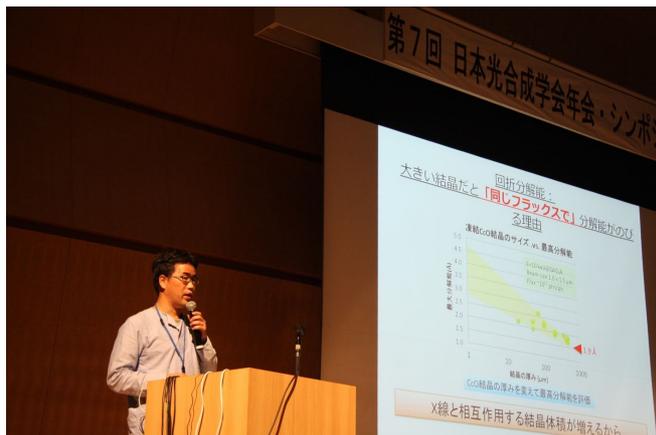
一日目のシンポジウムは、得津さん（基生研）と柏山さん（福井工大）がオーガナイザーとなり、近年原子レベルで明らかになってきた光化学系の構造から「光化学系の構造・モデル計算から見えてきた光合成反応の妙」と題して活発な議論が行われました。最新の構造解析の手法や構造に立脚した反応メカニズムについて実験や理論研究から、平田さん（理研）、菅さん（岡山大）、河合（久保田）さん（基生研）、斉藤さん（東大）らによる講演が行われました。光化学反応の素過程にせまる興味深い内容でした。

二日目のシンポジウムは田中（亮）さん（北大）と柏山さん（福井工大）がオーガナイザーとなり「光合成色素代謝と光化学系構築のダイナミックな関係」と題して行われました。多様な光合成色素の代謝や役割、進化、および光合成装置との関わりを塚谷さん（東工大）、藤田さん（名大）、高市さん（日本医科大）、伊藤さん（北大）、高橋さん（岡山大）らにより講演が行われました。多様性は光合成の醍醐味であり生物の幅広さと奥深さを感じさせる内容でした。

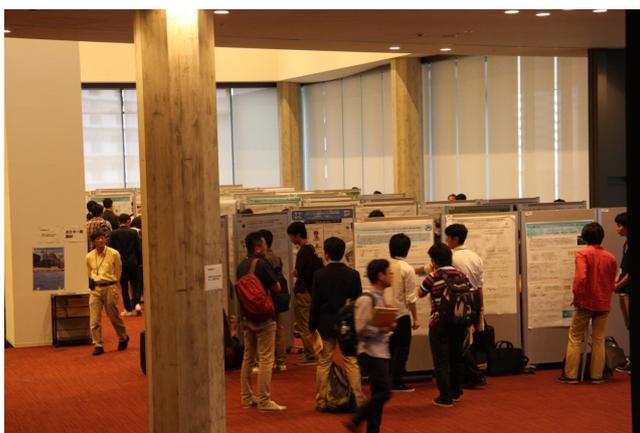
本会は年会時間が確保されたことから、オーガナイザーの柏山さんの発案によりポスター発表は新しい試みとして従来一日で行っていたセッションを二日間に分け、時間も100分と長めにとりました。ポスター会場は休憩コーナーおよび企業展示と隣接させ、互いに行き来することにより各所で熱い討論が行われました。ポスター賞は二井大輔氏、寺村美里氏、清水隆之氏、加藤弘樹氏、于龍江氏が受賞しています。

来年の年会は古本強先生を世話人として、来年の5月28日（土）～29日（日）の日程で龍谷大学瀬田キャンパスで開催の予定です。従来は金～土で開催されていたことが多かった本年会ですが、来年は土日の開催になるのでご注意ください。

（鞆 達也 記）



平田邦生（理研）氏のシンポジウム講演



ポスター発表会場



懇親会会場



ポスター賞受賞者

## 報告記事

International meeting “Photosynthesis Research for Sustainability-2016”  
に参加して

東京大学 大学院総合文化研究科 和田研究室  
遠藤 嘉一郎

平成 28 年 6 月 19 日から 25 日にかけてロシア、モスクワ郊外の Pushchino で開催された International meeting “Photosynthesis Research for Sustainability-2016”に参加しました。私自身は 2013 年にアゼルバイジャンで開催された同会議に参加して以来、2 回目の参加となりました。いざ現地に到着してみると、日差しがかなり強くて気温も高く、私が想像していたロシアのイメージとは別のものでした。しかし、町はオカ川に面しているためとても自然豊かで、東京生まれの私をととても清々しい気持ちにさせてくれました。また、ホテルのフロントではなかなか英語が通じず、ホテルのシャワーからお湯がでないなど、ロシアの洗礼?を受けました。本会議に参加されている各国の先生方はとても明るく、また優しい方が多いため、とてもリラックスして発表に臨めました。

会議では光合成における電子伝達やエネルギー移動を中心に光合成に関連する様々な最新の知見を勉強することができました。また、今回の学会のテーマは In honor of Nathan Nelson and T. Nejat Veziroglu ということでお二人の発表を聞くことができました。特に Veziroglu 教授はノーベル経済学賞の受賞者であり、本会議では今の人類が抱える人口問題や環境・エネルギー問題などを多様な視点から捉えたとても興味深い発表をしてくださいました。

学会中に企画されていたエクスカージョンには、いくつかのプランが用意されていたのですが、私はモスクワ中心部にある赤の広場とクレムリンを訪れました。現地まではバスで移動する予定でしたが、モスクワ中心部は渋滞が激しく、急遽メトロに乗っての移動となりました。駅構内は日本では見ることのできない独特のデザインをしており、見るだけでも価値あるものでした。クレムリンの内部にあるダイヤモンド庫ではとても巨大で美しい宝石の数々を見ることができました。クレムリンを訪れた際にはぜひ立ち寄ることをお勧めします。

同会議では毎年、若手参加者の中から Young Talents 賞が与えられ、今回私は神戸大学の植野嘉文さんと一緒にこの賞を頂くことができました。私が発表した研究内容はチラコイド膜における主要な脂質の 1 つである SQDG (スルホキノボシルジアシルグリセロール) の欠損株を *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 で作製し、光合成における SQDG の機能を解析したものです。SQDG は生物種によって光合成における機能に違いがあり、いまだに謎が多い脂質です。光合成研究の通巻 73 巻 (2015 年 12 月) に「脂質と光合成」についての特集記事が掲載されていますので、ぜひ一度、目を通して頂けると幸いです(私も光合成タンパク質と脂質の関係について解説しています)。

最後になりますが、韞達也先生を始めとする日本人参加者の先生方、および、学会中、我々日本人のサポートをしてくださった Suleyman 教授に深くお礼を申し上げます。



会議のオーガナイザーと Young Talents 賞を受賞した人達の集合写真 (筆者: 後列右から 4 番目)

## 報告記事

### Satellite Meeting on Photosynthesis 開催報告

岡山大学 異分野基礎科学研究所

高橋 裕一郎

6月26-30日に京都の国際会館で、The 7th International Conference on the Cell and Molecular Biology of *Chlamydomonas* が開催され、光合成研究者も多数参加しました。そこで、来日した光合成研究者と国内の光合成研究者の情報交換を目的として、7月1-2日に光合成に関するサテライト会議を京都大学セミナーハウスで開催しました。50名ほどの参加者があり、そのうちおよそ3分の1が海外からの参加者でした。安上がりに国際的な雰囲気でのセミナーを開催できたと思います。

1日目は午後5時からポスターセッションと Welcome Reception を始めました。18題のポスター発表があり、リラックスした雰囲気での情報交換と研究交流を行いました。

2日目は朝9時から16題の口頭発表がありました。海外からの発表者はベテランから若手まで様々でしたが、日本の発表者は若手中心でした。印象深かったのは、日本の若手・中堅研究者の英語による発表のレベルがかなり高かったということです。若手研究者は大いに努力されているのではないのでしょうか。2日目のスケジュールでは昼食とポスターセッションに3時間とりましたが、「3時間あれば銀閣寺参りができる」という情報がどこからともなく出て、多くの参加者にセッションから逃亡されてしまいました。これはオーガナイザーとしては全くの想定外のことでしたが、海外からの参加者にとっては別の意味で有意義に過ごせたようです。

最後に会場近くの場所で Conference Dinner を行いました。初夏の時期に熱い鍋料理を中心とした日本食と日本酒を堪能しました。個人的には旬の鮎の塩焼きがとてもおいしかったことが思い出されます。今後も機会があるときには、サテライト会議を開催して行ければと考えています。



## 報告記事

若手の会活動報告  
～サイエンスアゴラ 2016 の出展企画、若手科学者ネットワークへの参画～

立命館大学 生命科学部 生命情報学科

浅井 智広

今春の本会の年会では時間と場所の都合上、若手の会のセミナーは開催しませんでした。年会の後でセミナーを開催することで学生も集まり易いというメリットがありますが、やはり本会での議論を充実させることが何より考え、最終的には僕の判断で開催を見合わせました。今回の活動報告ではサイエンスアゴラでの出展に向けた準備状況と、日本学術会議若手アカデミーの呼びかけで設立された若手科学者ネットワークへの参画について、ご報告します。

サイエンスアゴラは日本科学技術振興機構 (JST) が主催する大規模なサイエンスコミュニケーションのイベントで、今年もサイエンスアゴラ 2016 として東京お台場地区を中心に 11 月 3 日から 6 日まで開催されます (<http://www.jst.go.jp/csc/scienceagora/> 参照)。若手の会では 2011 年から継続して出展しており、今年も幹事の辻敬典さん (関西学院大学) が中心になって、「光合成をもっと知ろう！ -光合成が支える私たちの暮らし-」と題したブース型の出展を応募しました。選考の結果、11 月 5 日と 6 日での出展を採択して頂きました。今回は例年よりも応募企画が多いようで、限られたスペースでの出展となりそうですが、逆に他の出展者を含めたより多くの来場者が期待できます。具体的な出展内容はまだまだ練っていく予定ですので、興味をおもちの方はお気軽にご連絡下さい。

日本学術会議若手アカデミーの若手科学者ネットワークは、日本国内の多様な分野で活躍する若手研究者をつなぐ目的で 2015 年に設立されたコミュニティです。この若手アカデミーの分科会に参画できるのは、日本学術会議協力学術研究団体を基本としており、日本光合成学会の本会を通じて私たち若手の会も参画させて頂くことになりました。基本的な活動はメーリングリストを通じた学界での情報共有や意見交換で、分野を越えた若手研究者の学際的交流を促進していくことを目指しています。現在、浅井と若手の会の広報担当の幹事である成川礼さん (静岡大学) を連絡役として登録しています。7 月 10 日の日本学術会議では若手科学者ネットワークの主催で「若手科学者サミット」が開催されました。今回は、登録直後でもまもなく準備が不十分なこともあり、参加を見送りました。次回以降の機会では是非、積極的に参加していきたいと思えます。

若手の会では、実年齢や身分、所属を問わず、多くの研究者の方々の積極的な参加を歓迎します。現場の研究を推進している研究者が若い気持ちで交流することは、学際性の強い光合成研究では絶対不可欠だと思います。この記事を読んで興味を持たれた方は、お気軽にご参加ください。また、ご自身の参加はもちろんのこと、周辺の方にも参加をお勧めいただきたいと思います。毎年秋に開催している若手の会セミナーでは、学生招待講演を企画していますので、自薦他薦問わず、常時候補者を募集していますので、お気軽にご連絡いただければ幸いです。その他ご不明な点など、遠慮無く浅井 (cazai@fc.ritsumei.ac.jp) までお問い合わせください。

## 事務局からのお知らせ

### ★入会案内

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

### ★会費納入のお願い

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

## 日本光合成学会会員入会申込書

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

〒700-8530 岡山県岡山市北区津島中 3-1-1

岡山大学 異分野基礎科学研究所

高橋裕一郎 研究室内

日本光合成学会

TEL : 086-251-7861

FAX : 086-251-7876

ホームページ: <http://photosyn.jp>

郵便振替口座 加入者名: 日本光合成学会 口座番号: 00140-3-730290

銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキューと入力)、当座、0730290

名前: ニホンコウゴウセイガツカイ

## 日本光合成学会会則

### 第1条 名称

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

### 第2条 目的

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

### 第3条 事業

本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催などの事業を行う。

### 第4条 会員

#### 1. 定義

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

#### 2. 権利

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

#### 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。幹事の任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

#### 3. 常任幹事会

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

#### 4. 幹事会

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

#### 5. 事務局

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

#### 6. 役員および幹事の選出

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

## 第6条 総会

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

## 第7条 会計

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

## 付則

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

## 日本光合成学会の運営に関する申し合わせ

### 1. 幹事会：

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

### 2. 事務局：

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

### 3. 次期会長：

会長の引き継ぎを円滑に行うため、次期会長の選挙は任期の1年前に行う。

### 4. 常任幹事会：

常任幹事会の運営を円滑におこなうため、次期会長は常任幹事となる。

## 幹事会名簿

秋本誠志	神戸大学大学院理学研究科	杉山達夫	名古屋大学
栗井光一郎	静岡大学学術院理学領域	鈴木祥弘	神奈川大学理学部
池内昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	園池公毅	早稲田大学教育学部
石北 央	東京大学大学院工学研究科	高市真一	日本医科大学生物学教室
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	高橋裕一郎	岡山大学異分野基礎科学研究所
伊藤 繁	名古屋大学	田中 歩	北海道大学低温科学研究所
井上和仁	神奈川大学理学部	田中 寛	東京工業大学資源化学研究所
伊福健太郎	京都大学大学院生命科学研究所	田中亮一	北海道大学低温科学研究所
臼田秀明	帝京大学医学部	民秋 均	立命館大学総合理工学院
榎並 勲	東京理科大学	都筑幹夫	東京薬科大学生命科学部
得平茂樹	首都大学東京大学院理工学研究科	出羽毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
遠藤 剛	京都大学大学院生命科学研究所	寺島一郎	東京大学大学院理学系研究科
大岡宏造	大阪大学大学院理学研究科	鞆 達也	東京理科大学理学部
大杉 立	東京大学大学院農学生命科学研究科	仲本 準	埼玉大学大学院理工学研究科
太田啓之	東京工業大学	永島賢治	神奈川大学
	バイオ研究基盤支援総合センター	成川 礼	静岡大学大学院理学研究科
大友征宇	茨城大学理学部	南後 守	大阪市立大学大学院理学研究科
大政謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科	西田生郎	埼玉大学大学院理工学研究科
小川健一	岡山県農林水産総合センター	西山佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
	生物科学研究所	野口 航	東京薬科大学生命科学部
小野高明	茨城大学工学部生体分子機能工学科	野口 巧	名古屋大学理学研究科
小保方潤一	京都府立大学・生命環境科学研究科	長谷俊治	大阪大学蛋白質研究所
小保達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	林 秀則	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
垣谷俊昭	名古屋大学	原登志彦	北海道大学低温科学研究所
菓子野康浩	兵庫県立大学理工学部	彦坂幸毅	東北大学大学院生命科学研究所
柏山祐一郎	福井工業大学環境情報学部	久堀 徹	東京工業大学研究院化学生命科学研究所
金井龍二	埼玉大学	日原由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
神谷信夫	大阪市立大学大学院理学研究科	檜山哲夫	埼玉大学
熊崎茂一	京都大学大学院理学研究科	福澤秀哉	京都大学大学院生命科学研究所
栗栖源嗣	大阪大学蛋白質研究所	藤田祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
小池裕幸	中央大学理工学部	古本 強	龍谷大学農学部
小林正美	筑波大学大学院数理物質科学研究科	前 忠彦	東北大学
坂本 亘	岡山大学資源生物科学研究所	牧野 周	東北大学大学院農学研究科
佐賀佳央	近畿大学理工学理学科	増田真二	東京工業大学
櫻井英博	早稲田大学		バイオ研究基盤支援総合センター
佐藤公行	岡山大学	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
佐藤直樹	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
佐藤文彦	京都大学大学院生命科学研究所	松田祐介	関西学院大学理工学部
鹿内利治	京都大学大学院理学研究科	真野純一	山口大学農学部
重岡 成	近畿大学農学部	皆川 純	基礎生物学研究所
篠崎一雄	理化学研究所植物科学研究センター	宮尾光恵	東北大学大学院農学研究科
島崎研一郎	九州大学大学院理学研究院	宮下英明	京都大学大学院地球環境学堂
嶋田敬三	首都大学東京	宮地重遠	海洋バイオテクノロジー研究所
白岩義博	筑波大学生物科学系	宗景(中島)ゆり	関西学院大学理工学部
沈 建仁	岡山大学大学院自然科学研究科	村田紀夫	基礎生物学研究所
杉浦昌弘	名古屋市立大学	横田明徳	奈良先端科学技術大学院大学
	大学院システム自然科学研究科		バイオサイエンス研究科
杉浦美羽	愛媛大学プロテオサイエンスセンター	和田 元	東京大学大学院総合文化研究科
杉田 護	名古屋大学遺伝子実験施設		

## 編集後記

残暑厳しきおり、いかがお過ごしでしょうか。表紙の水草でひとときの清涼感を感じていただけることを期待します(表紙担当の伊福健太郎さんの撮影です)。今号は年会・シンポジウムの特集もなく、寂しい冊子になってしまわないかと心配していましたが、私の取り越し苦労でした。実に“熱い”原稿が6つも集まりました。

成川礼さんには、光受容体の特集号を組んでいただきました。光受容体はまさにホットな領域ですが、この領域の最新の知見が3つの論文(成川・岡島・吉澤著)に見事にまとめられています。河野優さんには、これも議論が沸騰している光阻害について、変動光とPSIをキーワードに最新の情報や著者の見解をまとめていただきました。第6回ポスター賞受賞者の吉田啓亮さんは、チオレドキシンをめぐるレドックスネットワークの世界を熱く語っています。佐藤直樹先生からは、細胞内共生説のオリジンについて寄稿されました。共生説といえばマーギュリスですが、それを半世紀以上前に唱えた原説があるとは、青天の霹靂でした。

読者の方には、今号の“情熱”や“興奮”を体感していただけると幸いに思います。今号に関するご意見や本誌に対するご要望がございましたら、ぜひ編集長までお伝えください。

研究紹介や解説を随時受け付けておりますので、奮ってご投稿ください。表紙の写真も募集いたしますのでよろしくお願いたします。

編集長・西山 佳孝(埼玉大学)

## 記事募集

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

- トピックス：光合成及び関連分野での纏まりのよいトピックス的な記事。
- 解説：光合成に関連するテーマでの解説記事。
- 研究紹介：最近の研究結果の紹介。特に、若手、博士研究員の方からの投稿を期待しています。
- 集会案内：研究会、セミナー等の案内。
- 求人：博士研究員、専門技術員等の募集記事。
- 新刊図書：光合成関係、または会員が執筆・編集した新刊図書の紹介。書評も歓迎します。

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

「光合成研究」編集委員会

編集長 西山 佳孝 (埼玉大学)  
編集委員 田中 亮一 (北海道大学)  
編集委員 伊福 健太郎 (京都大学)  
編集委員 粟井 光一郎 (静岡大学)

---

日本光合成学会 2016年度役員

会長 高橋 裕一郎 (岡山大学)  
事務局長 園池 公毅 (早稲田大学)

常任幹事 田中 歩 (北海道大学) 前会長  
常任幹事 鹿内 利治 (京都大学) 前事務局長  
常任幹事 池内 昌彦 (東京大学)  
常任幹事 野口 航 (東京薬科大学) 前編集長  
常任幹事 西山 佳孝 (埼玉大学) 編集長  
常任幹事 久堀 徹 (東京工業大学) 渉外  
常任幹事 日原 由香子 (埼玉大学) 年会 2013年  
常任幹事 熊崎 茂一 (京都大学) 年会 2014年  
常任幹事 柏山 祐一郎 (福井工業大学) 年会 2016年  
常任幹事 杉浦 美羽 (愛媛大学)  
常任幹事 松田 祐介 (関西学院大学) 年会 2015年  
常任幹事 鞆 達也 (東京理科大学) 光生物学協会

会計監査 伊藤 繁 (名古屋大学)  
ホームページ 加藤 裕介 (岡山大学)

光合成研究 第26巻 第2号 (通巻76号) 2016年8月31日発行

---

日本光合成学会

〒700-8530 岡山県岡山市北区津島中 3-1-1

岡山大学 異分野基礎科学研究所

高橋裕一郎 研究室内

TEL : 086-251-7861

FAX : 086-251-7876

e-mail : jspr@photosyn.jp

ホームページ : <http://photosyn.jp/>

郵便振替口座 加入者名 : 日本光合成学会 口座番号 : 00140-3-730290

銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキューと入力)、当座、0730290

名前 : ニホンコウゴウセイガツカイ

---

世界シェアNo1の光合成基準測定システム

# LI-6400XT 植物総合解析システム

## 植物をはかる!!

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

### 特徴

- ・国内納入台数300台以上
- ・光・CO<sub>2</sub>・温度・湿度 フィードバック安定環境制御、環境追従制御機能
- ・ファイトロン内でのリモートWi-Fi制御できるシステム
- ・LI-6400XT内部で自動データ変換、EXCELフォーマットで記録します



## 多彩なチャンパーアクセサリ



### ■モデル植物個体の光合成直接測定チャンパー

シロイヌナズナの光合成活性測定を個体ごと測定することができ、ワイルドタイプとミュータントの比較を、生理的活性で行うことができます。



### ■針葉樹などの立体状サンプルの光合成直接測定チャンパー

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

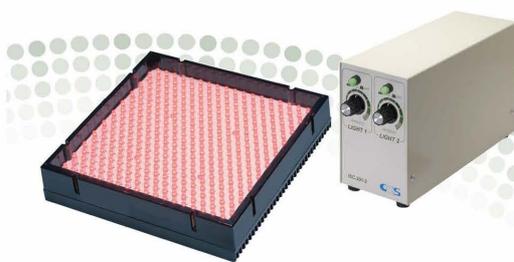


meiwafosis.com  
メイワフォーシス株式会社

東京：〒160-0022 新宿区新宿1-14-2 K1脚苑前ビル TEL:03(5379-0051) 代 FAX:03(5379-0811)  
名古屋：〒464-0075 名古屋市千種区内山3-10-18 TEL:052(686-4794) 代 FAX:052(686-5114)  
大阪：〒558-0047 大阪市住吉区千鶴2-4-25 TEL:06(6674-2222) 代 FAX:06(6674-2323)  
仙台：〒981-3133 仙台市泉区泉中央3-4-1 TEL:022(218-0560) 代 FAX:022(218-0561)



## LED光による植物育成・研究支援機器



## ISシリーズ

## 高光量モデル 新登場

赤色パネルの光量を従来比約3倍に大幅アップ!

光合成光子束密度 (PPFD) 比較



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

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

参考PPFD:光源パネルより100mm下にて測定

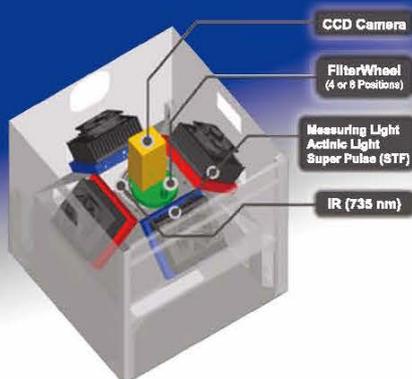
## シーシーエス株式会社

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

## FluorCam 800MF

# 二次元イメージング・クロロフィル蛍光測定器

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



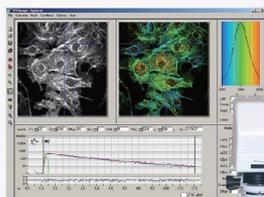
### ●選択可能な光源

- ・高輝度LEDパネルの波長は任意に選択可能  
(例：390, 450, 470, 570, 605, 630, 735, その他任意)
- ・STFシングルターンオーバーフラッシュ
- ・高い光強度  
励起光：最高光強度、3,000  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ .  
飽和光：最高光強度、7,500  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ .



www.kyokko.com  
**旭光通商株式会社**

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



高速ガルバノスキャナーを使用した蛍光寿命イメージングシステム  
高効率・高速測定、低価格でシステムアップグレードも可能

## 蛍光寿命イメージングシステム FLIM-DCS-120

- 時間相関単一光子計数 (TCSPC)法による蛍光寿命イメージング
- ピコ秒パルス半導体レーザー  
405 nm, 445 nm, 473 nm, 488 nm, 515 nm, 645 nm 対応
- 励起レーザー, GaASP検出器, TCSPCモジュールは  
最大2台まで同時搭載が可能
- 既存の共焦点顕微鏡にFLIM機能のアップグレードも可能
- FLIM, PLIM (りん光寿命イメージング), FCSIに対応

**TII** 株式会社 東京インスツルメンツ  
**TOKYO INSTRUMENTS, INC.**

<http://www.tokyoinst.co.jp/>

本 社 〒134-0088 東京都江戸川区西葛西6-18-14 TIビル TEL 03(3686)4711 FAX 03(3686)0831  
大阪営業所 〒532-0003 大阪市淀川区宮原4-1-46 新大阪北ビル TEL 06(6393)7411 FAX 06(6393)7055



Mess- und Regeltechnik

## 新型ポータブル クロロフィル蛍光測定器



**Dual-PAM-100**  
P700 & Chl Fluorescence Measuring System

Simultaneous assessment of P700 and Chlorophyll Fluorescence



**MULTI-COLOR-PAM** NEW

Multiple Excitation Wavelength  
Chlorophyll Fluorescence Analyzer

High Quality Instrumentation for Plant Sciences



**MINI-PAM-II** NEW

Photosynthesis Yield Analyzer

Features fully digital leaf clip, touchscreen, and far red LED

Setting a New Benchmark for Photosynthesis Research in the Field

### MULTI-COLOR-PAM : 最高峰スペックでのクロロフィル蛍光解析測定

MULTI-COLOR-PAM は、これまでの PAM 製品の伝統に沿ったものです。XE-PAM PAM-100 PHYTO-PAM and DUAL-PAM の為に独自に開発された Optical Unit ED-101U と同じ光学系を用いています。MULTI-COLOR-PAM は、これら機器の主要な長所を結集したものです。例えば PAM-2500 で用いられた高時間分解能を取り入れ、かつ XE-PAM and PHYTO-PAM で採用された強い測定光の活用が採用されています。ユーザーは PAM-2500 で利用されている PamWin ソフトウェアを使うことになります。測定光・作用光・飽和パルス光 シングルターンオーバーフラッシュおよび マルティプルターンオーバーフラッシュは、それぞれ制御されることで 7 つの異なる波長が利用可能になりました。MULTI-COLOR-PAM は、希釈サンプル(単細胞藻類、シアノバクテリアそして単離葉緑体)を用いた解析に最適化されています。



**ナモト貿易株式会社**  
〒272-0804 千葉県市川市南大野1-44-1  
Tel: 047-338-3224 Fax: 047-338-3236  
e-mail: mid@namoto.com  
<http://www.namoto.com>

## 長年の植物育成研究のハード&ソフトの成果を新たな発展の基盤に



省エネ!  
植物育成に特化した  
分光分布の蛍光灯型 LED  
「プラントフレック」  
を搭載!

model  
LPH-411PFD-SP

**人工気象器<クローズド型>**  
恒温/恒温・恒湿 プラントフレック搭載タイプ



反射型拡散板  
ホトダイオード

学術分野で、光を測定する際の標準測定器として!  
高精度・高精細な測定を可能に!  
測定を  $\mu\text{Wcm}^{-2}\text{s}^{-1}$  でも、 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  でも、%でも!  
光を瞬時に測定!

**分光放射光量子計**

**NKsystem** Bio & Clean 研究設備・機器 ● 本 社 〒550-0002 大阪市西区江戸堀1丁目22番38号 ☎06-6443-0712 代

● 東 京 支 店 〒183-0015 東京都府中市清水ヶ丘1丁目3番地8号 ☎042-365-3245 代

● 札 幌 支 店 〒065-0028 札幌市東区北28条東18丁目5番5号 ☎011-786-7203 代

● つくば営業所 ☎029-855-7401 代 ● 仙台営業所 ☎022-349-9525 代

● 福岡営業所 ☎092-611-0530 代 ● 名古屋営業所 ☎052-910-3275 代

● 広島出張所 ☎082-427-6789 代 ● 高松出張所 ☎087-815-5105 代

● 羽曳野工場 ☎072-958-1919 代

**株式会社 日本医化器械製作所**

ホームページはこちら ▶▶▶ <http://www.nihonika.co.jp>

E-mail: info@nihonika.co.jp

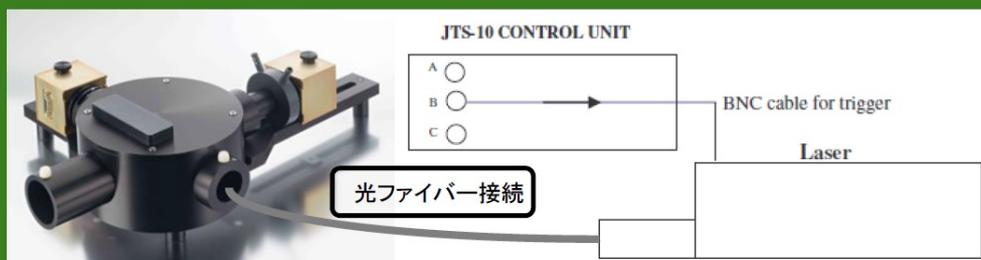
# JTS-10 光合成電子伝達反応解析装置



JTS-10 Photosynthesis Spectrometer

光学モジュールをExciting beam-Laserに変更可能です。  
精度の高いクロロフィル蛍光測定と吸光度測定が出来ます。

オプションのレーザー励起色素レーザーユニットにより早い光合成反応測定が可能になりました。  
P700他



JTS-10は安定した吸光度測定により、光化学系II以外の重要な電子伝達系の数の情報も得られます。  
温度コントロール可能なサンプルホルダーは葉だけでなく、単離葉緑体や藻類での精度良い測定も可能です。



有限会社オーリー 〒599-8112 大阪府堺市東区日置荘原寺町400-4 TEL:072-285-0117

ホームページ: <http://www.ollie.co.jp> E-mail: [information@ollie.co.jp](mailto:information@ollie.co.jp)