

# 光合成研究

第 29 卷 第 3 号 (通巻 86 号) 2019 年 12 月

Vol. 29 NO. 3 December 2019

JOURNAL OF THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

ご案内	日本光合成学会 次期会長選挙 開票結果報告	202
トピックス	葉緑体とミトコンドリアを分断する 3 つのリング 吉田 大和 (東京大)	203
解説	光合成は葉緑体の細胞内共生説を支持するのか — 最近の知見から 佐藤 直樹 (東京大)	212
解説	Tree of life の構築と光合成の進化 田中 歩 他 (北海道大)	221
解説	シアノバクテリアの物質生産の現状と展望 池内 昌彦 (東京大)	233
トピックス	光合成型複合体 I がフェレドキシン依存的に循環型電子伝達を行う構造基盤 栗栖 源嗣 他 (大阪大)	242
表紙の紹介	緑藻 <i>Chromochloris zofingiensis</i> の光合成スイッチ機構の解析 岩井 優和 (ローレンスバークレー国立研究所)	247
特別企画	第 8 回「ウイスコンシンでの一次代謝研究」 横山 諒 (ウイスコンシン大マディソン校)	248
報告記事	「新光合成-光合成若手の会ジョイント若手ワークショップ 2019」 開催報告 西村 健司 (関西学院大)	252
報告記事	「藍藻の分子生物学 2019」開催報告 栗井 光一郎 (静岡大)	253
報告記事	「藍藻の分子生物学 2019」に参加して 三宅 敬太 (静岡大)	254
事務局からのお知らせ		255
日本光合成学会会員入会申込書		256
日本光合成学会会則		257
「光合成研究」投稿規定		259
幹事会名簿		260
編集後記・記事募集		261
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2019 年度役員		262
賛助法人会員広告		

## 日本光合成学会 次期会長選挙 開票結果報告

「日本光合成学会会則 (平成 21 年 6 月 1 日施行) 第 5 条」に基づき、令和元年 9 月 30 日消印有効で実施しました日本光合成学会次期会長選挙 (任期: 令和 3 年 1 月 1 日から令和 4 年 12 月 31 日の 2 年間) につきまして、10 月 2 日に開票した結果を、以下の通りお知らせいたします。

投票総数 49 票、有効票数 49 票、無効票数 0 票

久堀 徹 会員 22 票、西山 佳孝 会員 15 票、鹿内 利治 会員 4 票  
2 票獲得の会員 2 名、1 票獲得の会員 4 名

この結果、久堀 徹 会員が次期会長に当選されましたので、ご報告いたします。なお、開票には、増田 建 選挙管理委員会副委員長が立ち会いました。

令和元年 10 月 4 日

日本光合成学会選挙管理委員会

委員長 東京大学大学院総合文化研究科 和田 元

## トピックス

## 葉緑体とミトコンドリアを分断する3つのリング

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻  
吉田 大和\*

葉緑体（色素体）とミトコンドリアは、宿主となった真核細胞祖先へ細胞内共生したシアノバクテリア、 $\alpha$ プロテオバクテリアを起源に持つと考えられている。こうした進化的起源のため、これらのオルガネラは独自のゲノムDNAを持ち、既存の葉緑体あるいはミトコンドリアを分裂させることによりのみ、数を増やすことができる。この三十年間の研究によって、葉緑体とミトコンドリアの分裂増殖はどちらもリング状の超分子構造体である「分裂装置」によって行われていることが明らかとなった。興味深いことに、葉緑体とミトコンドリアの分裂装置は構造が極めてよく似ており、このことは始原真核細胞においてそれぞれのオルガネラが確立して以来、平行進化してきたことを示唆する。しかしながら分裂装置の“構成因子”は明らかになってきたものの、分裂装置の“動作機構”に関する理解は限られており、依然として多くの謎が残されたままである。本稿では、これまでの研究から分かってきた葉緑体とミトコンドリアの分裂増殖に関する構造的枠組みを概観し、さらに分裂装置を構成する主要な3つのリング構造—ダイナミック・トリオ—に着目して解説する。近年の研究から、葉緑体とミトコンドリアの分裂増殖機構は、単にオルガネラの増殖システムとしてだけでなく、真核生物誕生の仕組みを解く手掛かりとなる可能性を示唆しており、本研究分野の進展に関心が高まっている。

## 1. はじめに

種を維持するため、また細胞の数を増やすためにも、“分裂”を行うことは生物の極めて重要な特徴の一つである。この基本原理は細胞レベルだけではなく、細胞内共生に由来するオルガネラである葉緑体とミトコンドリアにも当てはまる。その進化的起源のため、これらのオルガネラは細胞内でゼロから創り出すことはできず、分裂によってのみ数を増やすことができる（図1）。これらのオルガネラの分裂増殖は、リング状の細胞内器官である葉緑体分裂装置とミトコンドリア分裂装置によって行われる<sup>1-3)</sup>。それぞれのオルガネラの分裂面に構築された分裂装置は徐々にリングサイズを減少させ、最終的には二つに分断し、娘オルガネラを創り出す。葉緑体とミトコンドリアの分裂様式は長い間明らかではなかったが、今から約30年前、電子顕微鏡による先駆的な研究に

よって原始紅藻の葉緑体とミトコンドリアの分裂面に極めて電子密度の高いリング構造「色素体分裂リング（PDリング）」と「ミトコンドリア分裂リング（MDリング）」が発見され、これらのオルガネラの分裂増殖機構の研究の道が拓かれた<sup>2)</sup>。以後、葉緑体とミトコンドリアの分裂増殖に関わる幾つかの遺伝子が複数の真核細胞生物系統において見出されており、その一般性も明らかとなってきた。現在、分裂装置の構成要素として、オルガネラ包膜の内側に形成される FtsZ リングや、外側に形成される PD/MD リングやダイナミンリングなどの存在が明らかとなっている<sup>4-6)</sup>。

しかしながら分裂装置の分子メカニズムに関しては未だ十分には分かっておらず、特にキネティクスや力学的な点に関しては殆ど明らかではない<sup>6)</sup>。本稿では、これらのオルガネラの分裂

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

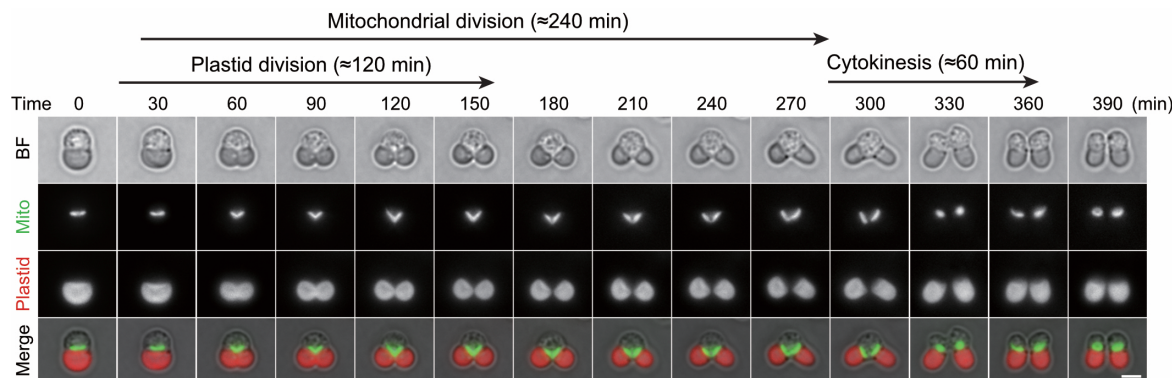


図1. 葉緑体とミトコンドリアの分裂

単細胞紅藻シアニディオシズン（シズン）の葉緑体（色素体）とミトコンドリアの分裂増殖過程を示す明視野・蛍光タイムラプス観察像。シズンは、一細胞当たり到一个のミトコンドリアと一个の葉緑体しか持たない。色素体（Plastid, 赤）は自家蛍光によって可視化し、ミトコンドリア（Mito, 緑）は sfGFP 融合ミトコンドリア EF-tu によって可視化した。スケールバーは 1 μm。Yoshida (2019)<sup>6</sup>より転載。

装置を構成する3つの“分裂リング”を紹介し、それぞれの基本的役割と、未だ明らかになっていない機能的側面を概説する。こうした視点から葉緑体とミトコンドリアの分裂増殖機構を諦観することによって、本研究分野だけでなく、様々な研究を革新するきっかけとなることを期待する。

## 2. 分裂装置を構成する3つのリング構造

### 2.1. FtsZ リング

*ftsZ* 遺伝子は、大腸菌の細胞分裂における重要因子として同定され、バクテリアの細胞分裂面にリング構造（FtsZ リング）を形成することが分かっている<sup>7,8</sup>。FtsZ タンパク質はコア構造としてアミノ酸末端側に GTP 結合ドメインを含み、カルボキシル末端側には GTP 活性化ドメインを持つ。これらのドメインを介した Head-to-Tail 結合による重合によって方向性を持つプロトフィラメントを構築する。結合した FtsZ モノマーは約 10 度傾いた配置をとるため、プロトフィラメント全体としては湾曲した構造になっていると考えられている<sup>9</sup>。そして次にプロトフィラメント同士が側面方向への結合を介して束化することで、FtsZ リングが形成される。興味深いことに、アミノ酸配列の相同性は高くないものの、バクテ

リア FtsZ とチューブリンの立体構造は似通っており、どちらも Head-to-Tail 結合を基本とした重合様式であることなど両タンパク質には類似性が見られる<sup>9,10</sup>。1995 年には高等植物シロイヌナズナに *FtsZ* 遺伝子ホモログが存在することが示され、その後の研究から葉緑体分裂に関与することが明らかとなってきた<sup>11,12</sup>。バクテリアのゲノムには1つの *ftsZ* 遺伝子しかコードされていないが、シアノバクテリアに由来する葉緑体 *FtsZ* 遺伝子は内部共生遺伝子伝播によって細胞核ゲノムにコードされており、また2コピー以上存在することが分かっている。分子系統解析から葉緑体 FtsZ はカルボキシル末端に保存されたコアモチーフを持つ FtsZA タイプとコアモチーフのない FtsZB タイプの二つに大別できるが、バクテリア FtsZ はカルボキシル末端にコアモチーフを持っているため、*FtsZA* 遺伝子の方がより起源的で *FtsZB* 遺伝子は遺伝子重複を経て誕生したのではないかと考えられている<sup>13</sup>。FtsZA と FtsZB は葉緑体分裂の最初期から発現しており、プロトフィラメントを形成したあと束化し、葉緑体ストロマ領域にリング構造をつくる。近年の酵母を使った semi in vitro 解析と精製タンパク質を使った生化学的な解析から、FtsZA と FtsZB はチュー

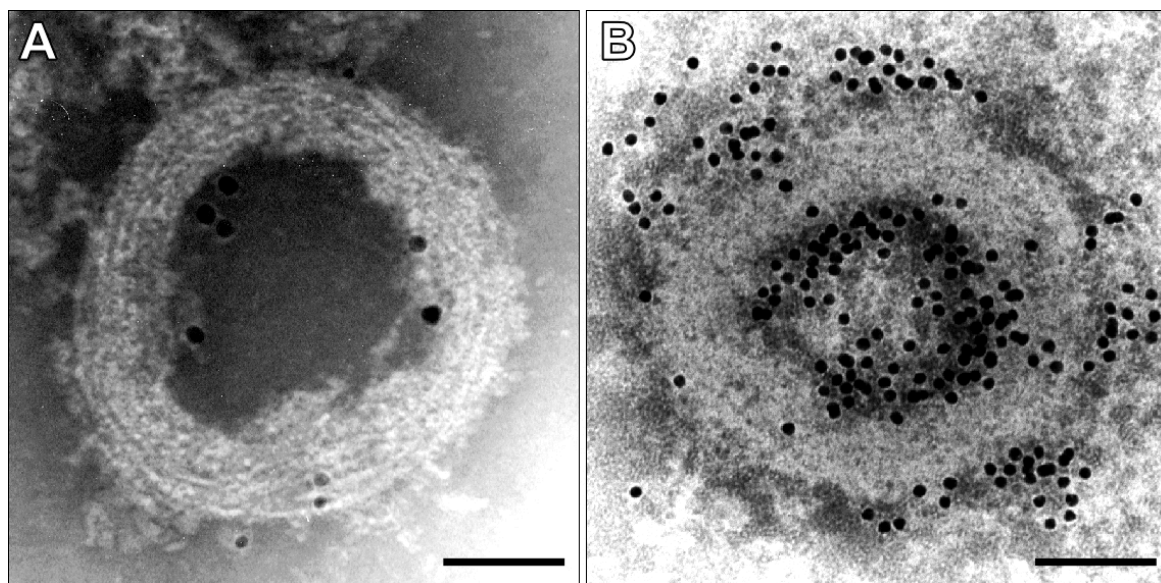


図2. 単離した葉緑体とミトコンドリアの分裂装置の電子顕微鏡像

単離した葉緑体分裂装置 (A) とミトコンドリア分裂装置 (B) の免疫電子顕微鏡観察像。黒いシグナルは葉緑体 FtsZ (A 図, 大きな粒子)、Dnm2 (A 図, 小さな粒子)、MDR1 (B 図) を示す金粒子。スケールバーは 200 nm。Yoshida et al, (2006, 2017)<sup>15,21)</sup>より転載。

ブリンによる微小管形成過程とよく似たプロセスによって 1:1 のモル比でヘテロ重合し、FtsZ リングを形成していると考えられている<sup>16,17)</sup>。バクテリアの細胞分裂が一種類の FtsZ で行われるのに対して、なぜ葉緑体分裂において二種類の FtsZ が必要とされるのか、これまでその機能的意義は分かっていなかった。しかし *semi in vitro* 解析の結果、FtsZA/FtsZB から構成されるヘテロポリマーは単一 FtsZ から構成されるホモポリマーに比べて高いターンオーバー速度を示し、繊維形成能と繊維の動性が著しく向上していることが分かった<sup>17)</sup>。原始光合成真核生物において葉緑体 FtsZ が遺伝子重複によって増えた結果、FtsZ リングの機械的キネティクスが向上したのではないかと考えられる。葉緑体 FtsZ によるヘテロ重合機構は、微小管がよく似た二つの分子、 $\alpha$  チューブリンと  $\beta$  チューブリンから形成されるのと同様の仕組みであり、収斂進化の関係にあると考えられる。

興味深いことに、原始的な真核生物においてはバクテリア *ftsZ* 遺伝子ホモログがミトコンドリア

アの分裂に関与することもわかっている<sup>18,19)</sup>。このミトコンドリア FtsZ 遺伝子も、やはり葉緑体 FtsZ 遺伝子と同様に二種類に大別できるが、細胞内での動態やキネティクスに関しては分かっていない。しかし最近、我々の研究からミトコンドリア FtsZ の分子動態の詳細が明らかになってきており、原核生物、真核生物、細胞内共生オルガネラの枠を超えた FtsZ リングの機能が解明されようとしている (論文投稿準備中)。

## 2.2. PD リング・MD リング

1980 年代から始まった電子顕微鏡による詳細な観察の結果、様々な光合成真核生物の葉緑体分裂面に電子密度の高いリング構造が発見され、色素体分裂リング (Plastid-Dividing ring) と名付けられた<sup>2,20)</sup>。現在までに二種類(あるいは三種類)の PD リング構造が発見されており、外 PD リングと呼ばれる構造は葉緑体の外包膜上サイトゾル側に形成され、幅 7nm 程度のナノフィラメントが束になった構造からなる。その質的・量的な点から葉緑体分裂装置の主要構成リングと考え

られている。単に PD リングという場合は外 PD リングを指すことが多い。一方、内 PD リングは 5nm の厚みを持つベルト状のリング構造であり、葉緑体ストロマ領域の内膜直下に形成される。そして三種類目の PD リングとして、原始紅藻と一部の緑藻において葉緑体外膜と内膜の間に観察される中間 PD リングがあるが、詳細な構造は分かっていない。

分裂装置の主要な構成リングであるにもかかわらず、発見から長い間 PD リングの構成分子は明らかになっていなかった。しかし 2010 年、我々の研究グループは原始紅藻シアニディオシゾン（シゾン）の細胞を糖染色後、電子顕微鏡によって観察した結果、PD リングに顕著なシグナルが現れることを発見した。そこで細胞分裂を同調化したシゾンから葉緑体分裂装置を単離し（図 2）、葉緑体分裂装置のプロテオーム解析を実施した結果、機能不明な新規のグリコシルトランスフェラーゼドメインを含む遺伝子を同定することに成功し、*PDR1* 遺伝子と名付けた<sup>14)</sup>。間接蛍光抗体法によって *PDR1* の細胞内局在を観察した結果、*PDR1* は葉緑体分裂面に単一のリングを形成し、分裂の進行に合わせてリングサイズが小さくなること分かった（図 3）。電子顕微鏡観察か

らも、*PDR1* が外 PD リング繊維状に局在することが示され、外 PD リング繊維の構成タンパク質であることが明らかとなった。興味深いことに *PDR1* はグリコーゲン合成のプライミングタンパク質である *Glycogenin* とのアミノ酸配列相同性を有している。また単離精製した PD リング繊維の構成成分としてグルコースが検出されていることから、PD リングは *PDR1* を起点として合成されるポリグルカンナノフィラメントであると考えられている<sup>14,22)</sup>。*PDR1* ホモログは植物界に広く保存されており、今後の解析によって葉緑体分裂装置の根幹をなす PD リングの合成分子メカニズムの解明につながると期待される。

また原始紅藻シゾンを用いた研究から、ミトコンドリア分裂機構においても、電子密度の高いリング構造であるミトコンドリア分裂リング（Mitochondrion-dividing ring）が発見されている<sup>2)</sup>。MD リングも、PD リングと同様にナノフィラメント束から構成されており、繊維の幅はおおよそ 5nm 程度とみられる<sup>23)</sup>。また MD リングも、ミトコンドリア外膜上のサイトゾル側に形成される外 MD リングと内膜直下のマトリクス側に形成される内 MD リングがあることが分かっている。しかしながら PD リングが光合成真核生物に

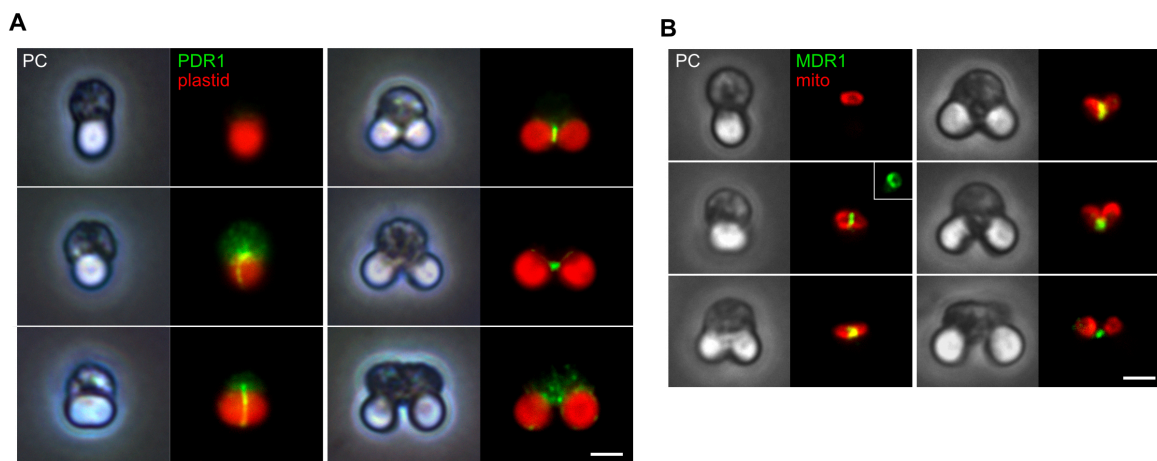


図3. *PDR1* と *MDR1* の細胞内局在

葉緑体とミトコンドリアの分裂過程における *PDR1* (A) と *MDR1* (B) の間接蛍光抗体法による染色像。スケールバーは 1 μm。Yoshida et al, (2010, 2017)<sup>14,15)</sup>より転載。

広く保存されているのに対して、MD リングを持つ生物は原始的な真核生物に限られ、高等動植物が MD リングを持つか否かについては明確な答えが出ていない<sup>24)</sup>。MD リングを構成する分子も長い間分かっていなかったが、近年、我々はシゾンからミトコンドリア分裂装置を単離することに成功し(図2)、さらに多階層オミクス解析によって PDR1 のホモログとして MDR1 を同定することに成功した<sup>15)</sup>。PDR1 と MDR1 のアミノ酸配列相同性は低いものの、どちらも Glycogenin と同じサブグループに属するグリコシルトランスフェラーゼドメインを有しており、また MDR1 は MD リングに局在することからも、葉緑体分裂における PDR1 に相当する MD リング合成タンパク質であると考えられている(図3)。PDR1 と MDR1 の発見によって、長きにわたって分子基盤の分かっていなかった PD リングと MD リングの実態が急速に明らかとなってきている。

### 2.3. ダイナミンリング

ショウジョウバエ *shibire* 変異体から発見された変異型ダイナミンは、シナプス小胞のくびり切りができず神経伝達物質の放出が止まるため、麻痺症状を起こす<sup>25,26)</sup>。こうして発見されたダイナミンに類似した数多くのホモログは、ダイナミン関連タンパク質 (Dynamamin-related protein, DRP) と呼ばれ、細胞内における様々な膜分断過程に関与することが明らかとなっている<sup>27)</sup>。ダイナミンスーパーファミリーの一つである Dnm1 は、最初に発見されたミトコンドリア分裂関与ダイナミン関連タンパク質である<sup>28)</sup>。Dnm1 オーソログはヒトや植物でも発見されており、ミトコンドリア分裂に関与する機能も保存されていることが分かっている。シゾンでも Dnm1 オーソログは同定され、ミトコンドリア分裂面にリング構造“ダイナミンリング”を形成することが示された<sup>19)</sup>。その後、葉緑体分裂に関わるダイナミン関連タンパク質として Dnm2 (または ARC5/DRP5B) が同定された<sup>29,30)</sup>。Dnm2 も、Dnm1 と同じように葉緑体分裂面のサイトゾル側にダイナミンリングを形成することが確認された。興味深いことに、Dnm2 は外 PD リング繊維束の上側 (サイトゾル

側) に覆うように局在する。またシロイヌナズナにおいて GFP タグを融合した Dnm2 は、葉緑体分裂面に沿って不連続な輝点として観察されており、ダイナミンリングは単一タンパク質からなるリング構造ではない可能性が高い。その後の単離葉緑体分裂装置を用いた電子顕微鏡観察からも、Dnm2 は外 PD リングと協調して機能するタンパク質であることが示唆されている。

ダイナミンスーパーファミリーに所属するタンパク質は、配列中に含まれる機能ドメインの組み合わせによって分類することができる。ダイナミンは、アミノ酸末端側から順に GTPase ドメイン、ミドルドメイン、PH ドメイン、GED、PRD といった複数の機能ドメインを持つ。近年のタンパク質結晶構造解析によって、ダイナミンタンパク質は GTPase ドメインが突き出した頭部となり、一方でミドルドメインと GED は組み合わさった立体構造をとることによって軸を形成し、PH ドメインは折り返し末端として脂質膜へ結合する足となることが分かっている<sup>31,32)</sup>。そして1つのダイナミンタンパク分子は相対するダイナミンタンパク分子と GTPase ドメイン同士で接着した複合体構造をとると考えられており、膜の分断を実行する収縮力は GTPase ドメインの会合部分を中心とするコンフォメーション変化が引き金になっていると考えられているが、詳細は分かっていない。

一方でミトコンドリア分裂関与 DRP である Dnm1 は GTPase ドメイン、ミドルドメイン、GED は持つものの、PH ドメインと PRD は含まれない。さらに葉緑体分裂関与 DRP である Dnm2 に至っては、GTPase ドメイン以外に既知の機能ドメインは一つもない。このようにダイナミンと比較するとダイナミン関連タンパク質の構造には分かっていない点も多いが、ミトコンドリア分裂関与 DRP には PH ドメインと PRD に代わる特異的な挿入配列 (insert B 領域とも呼ばれる) が見つかっている。また様々な光合成真核生物の Dnm2 のアミノ酸配列を比較すると、GTPase ドメイン以外にも保存された領域が複数個所見出されるため、Dnm2 特異的な機能ドメインが存在することが示唆されており、これらの領域が葉緑

体分裂における重要な役割を担っていると考えられる<sup>22)</sup>。

### 3. 葉緑体とミトコンドリアの分裂装置の収縮機構

それぞれの分裂装置の収縮機構に関しては、未だ多くの謎が残されている。現在のところ GTPase タンパク質である FtsZ と DRP が、葉緑体とミトコンドリアの分裂を引き起こす収縮力を発生させる候補タンパク質と予想されている。バクテリアの細胞分裂においても収縮力を発生させる分子メカニズムは明らかになっていないが、バクテリアの細胞分裂過程に既知のモータータンパク質が関わっている証拠はなく、またバクテリアの細胞分裂に関わる因子の中で FtsZ だけが原核生物に広く保存されていることから、FtsZ がバクテリアにおける細胞分裂装置の骨格構造だけでなく収縮機構も担っている可能性が高い。バクテリア FtsZ とオルガネラ FtsZ のどちらも GTP 依存的に重合することでプロトフィラメントを形成するが、この過程において GTP 分子は二つの FtsZ タンパク質分子に挟まれるように位置する。そして GTP が加水分解されて GDP となると、FtsZ タンパク分子の結合は不安定化し、プロトフィラメントの部分的分解と FtsZ タンパク分子の遊離が起き、遊離した FtsZ は再び GTP 依存的な重合過程を経て FtsZ プロトフィラメントへと組み込まれると考えられている。近年の FtsZ タンパク質とリポソームを使った先駆的な解析から、GTP 依存的な FtsZ タンパク分子のターンオーバーによって膜部分にくびれを創り出すことが示されている<sup>33)</sup>。こうしたバクテリア FtsZ による収縮力発生メカニズムを説明する幾つかのモデルが提唱されている。一つは、FtsZ プロトフィラメントが直線状から極度に曲がることによる収縮力の発生機構である“屈伸モデル”であり、もう一方は FtsZ プロトフィラメント同士の間で側面方向の滑り運動によって FtsZ リング全体の円周が減少する“滑動モデル”である<sup>34)</sup>。我々が行った再構成 FtsZ リングを用いた semi-in-vitro 解析の結果では、葉緑体 FtsZ リングの収縮過程で以下の様子が観察された。(1) FtsZ リングの

収縮に伴って FtsZ タンパク分子の密度が若干上昇した。(2) FtsZ リングの収縮過程で解離速度には大きな変化は見られなかった。(3) 蛍光退色回復法 (FRAP 法) による解析の結果、FtsZ リング収縮時に FtsZ 分子のターンオーバー速度が有意に上昇することが分かった<sup>17)</sup>。これらの結果を統合すると、FtsZ プロトフィラメントの新生と共に個々のフィラメントの平均長が短くなっている可能性があるが、詳細な分子メカニズムは依然として不明である。FtsZ は単一種類のタンパク質だけで繊維形成能と運動機能を有していると考えられ、このような多機能タンパク質の分子機序を明らかにすることは、現状の生物学を革新する可能性を秘めている。

一方、様々な分子生化学的研究から、ダイナミンスーパーファミリーが持つ機械的な機能が明らかとなってきた。ダイナミンは自己重合することによって幅 50nm のらせん構造を形成することができるが、GTP の加水分解によってらせん構造に変化が生じ、膜をくびりきる収縮力となることが示唆されている。このモデルは GTPase ドメインの会合対が一方にずれるため、ラチェットモデルと呼ばれている<sup>35)</sup>。似たような構造変化はミトコンドリア分裂関与 DRP においても観察されているが<sup>36)</sup>、ミトコンドリアと葉緑体分裂関与 DRP による収縮力発生機構には不明な点が多い。特に葉緑体分裂関与 DRP においては、分裂面に沿って不連続な局在をすることが分かっているため<sup>30)</sup>、どのようにして力を発生させ、収縮力へと転換しているのかは明らかではない。また葉緑体の分裂面は小胞やミトコンドリアの分裂面と比較して極めて大きく、曲率が低いため、ダイナミンで見られるようならせん構造が葉緑体分裂面に形成可能かどうかについては議論がある<sup>6)</sup>。我々は単離した葉緑体分裂装置を用いた一連の解析から、PD リング繊維上に葉緑体分裂関与 DRP が結合し、PD リング繊維間を葉緑体分裂関与 DRP がラチェット運動することによって葉緑体に対する収縮力を生み出していると考えており<sup>21,37)</sup>、現在解析を行っている(論文投稿準備中)。こうした分子動作機序であった場合、葉緑体とミトコンドリアの分裂装置の構造の類



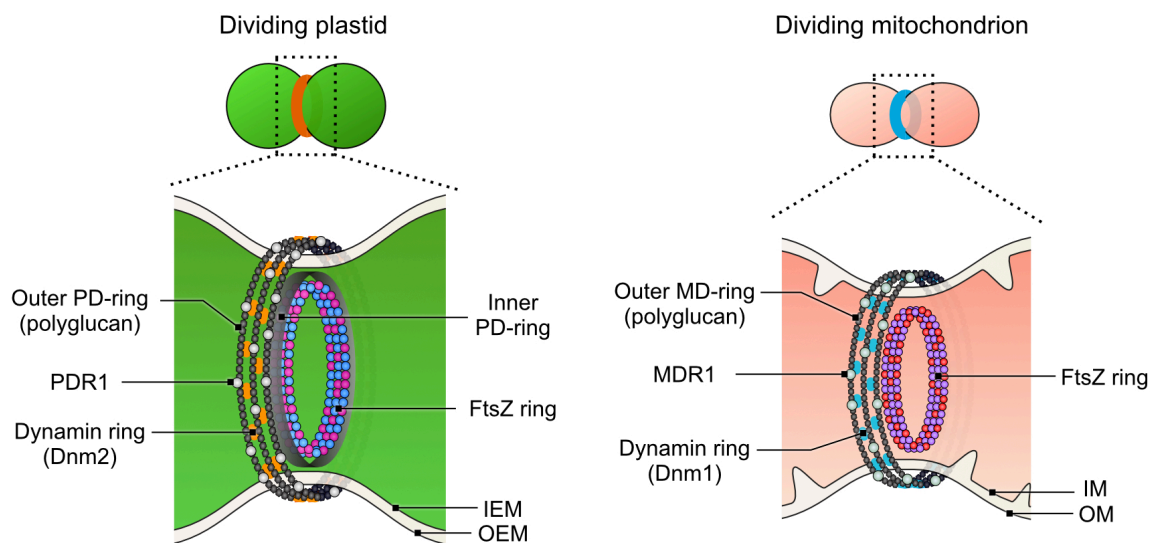


図4. 葉緑体とミトコンドリア分裂装置の模式図

中間 PD リング、内 MD リングは省略している。IEM, 内包膜; OEM, 外包膜; IM, 内膜; OM, 外膜。Yoshida et al. (2016, 2017)<sup>15,17</sup>より改変して転載。

似性を考慮すると、ミトコンドリア分裂も同様の仕組みで行われている可能性も高い。

#### 4. まとめ

葉緑体とミトコンドリアは細胞内共生したバクテリアの子孫であると考えられているが、バクテリアの分裂機構である FtsZ リングがこれらのオルガネラ分裂に機能しているという事実は、この説を強く支持する。しかしながら最も驚くべき点は、これらの細胞内共生オルガネラの分裂増殖がバクテリア由来の分裂システムと真核生物に特有な膜分断システムのハイブリット機構によって行われていることである (図4)<sup>3,4</sup>。これは細胞内共生オルガネラが二重の包膜から構成されること、あるいは独自のゲノムを持つことに由来する可能性があるが、詳細は不明である。また葉緑体とミトコンドリアの分裂装置は、その構造、機能、構成タンパク質の種類が極めてよく似ているが、共有している分裂装置構成タンパク質は一つもない。このことは葉緑体とミトコンドリアの分裂増殖機構は、細胞内共生という共通の進化的起源を端緒として平行進化のプロセスを経たことを示唆する。つまり宿主真核生物によって、

先ずバクテリアの分裂機構と真核生物特有な膜分断機構から“細胞内共生オルガネラ分裂装置”が形成され、細胞内共生体を分裂増殖させることが可能となり、これによってはじめて細胞内共生オルガネラを安定維持することが可能になったのかもしれない<sup>15</sup>。今後のさらなる研究から葉緑体とミトコンドリアの分裂増殖機構を解明することによって、これらのオルガネラの進化的起源の解明や、細胞内共生のプロセスが明らかになると期待される。

#### 謝辞

本研究は日本学術振興会科学研究費補助基金 (JP18K06325)、Human Frontier Science Program Career Development Award (CDA00049/2018-C)、日揮・実吉奨学会、住友財団の支援を受けて行われた。

Received Nov 10, 2019; Accepted Nov 15, 2019; Published Dec 31, 2019.

## 参考文献

1. Gray, M.W.W. (1992) The endosymbiont hypothesis revisited. *Int. Rev. Cytol.* 141, 233–357.
2. Kuroiwa, T., Kuroiwa, H., Sakai, A., Takahashi, H., Toda, K., and Itoh, R. (1998) The division apparatus of plastids and mitochondria. *Int. Rev. Cytol.* 181, 1–41.
3. Osteryoung, K.W., and Nunnari, J. (2003) The division of endosymbiotic organelles. *Science* 302, 1698–1704.
4. Miyagishima, S., Nishida, K., and Kuroiwa, T. (2003a) An evolutionary puzzle: chloroplast and mitochondrial division rings. *Trends Plant Sci.* 8, 432–438.
5. Yoshida, Y. (2018a) The cellular machineries responsible for the division of endosymbiotic organelles. *J. Plant Res.* 131, 727–734.
6. Yoshida, Y., and Mogi, Y. (2019) How do plastids and mitochondria divide? *Microscopy* 68, 45–56.
7. Bi, E., and Lutkenhaus, J. (1991) FtsZ ring structure associated with division in *Escherichia coli*. *Nature* 354, 161–164.
8. Erickson, H.P., Anderson, D.E., and Osawa, M. (2010) FtsZ in bacterial cytokinesis: cytoskeleton and force generator all in one. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74, 504–528.
9. Oliva, M.A., Cordell, S.C., and Löwe, J. (2004) Structural insights into FtsZ protofilament formation. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11, 1243–1250.
10. Löwe, J., and Amos, L.A. (1998) Crystal structure of the bacterial cell-division protein FtsZ. *Nature* 391, 203–206.
11. Osteryoung, K.W., and Vierling, E. (1995) Conserved cell and organelle division. *Nature* 376, 473–474.
12. Mori, T., Kuroiwa, H., Takahara, M., Miyagishima, S.Y., and Kuroiwa, T. (2001) Visualization of an FtsZ ring in chloroplasts of *Lilium longiflorum* leaves. *Plant Cell Physiol.* 42, 555–559.
13. Miyagishima, S., Nozaki, H., Nishida, K., Nishida, K., Matsuzaki, M., and Kuroiwa, T. (2004) Two types of FtsZ proteins in mitochondria and red-lineage chloroplasts: the duplication of FtsZ is implicated in endosymbiosis. *J. Mol. Evol.* 58, 291–303.
14. Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Misumi, O., Yoshida, M., Ohnuma, M., Fujiwara, T., Yagisawa, F., Hirooka, S., Imoto, Y., Matsushita, K., and Kuroiwa, T. (2010) Chloroplasts divide by contraction of a bundle of nanofilaments consisting of polyglucan. *Science* 329, 949–953.
15. Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Shimada, T., Yoshida, M., Ohnuma, M., Fujiwara, T., Imoto, Y., Yagisawa, F., Nishida, K., Hirooka, S., Misumi, O., Mogi, Y., Akakabe, Y., Matsushita, K., and Kuroiwa, T. (2017) Glycosyltransferase MDR1 assembles a dividing ring for mitochondrial proliferation comprising polyglucan nanofilaments. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114, 13284–13289.
16. Olson, B.J.S.C., Wang, Q., and Osteryoung, K.W. (2010) GTP-dependent heteropolymer formation and bundling of chloroplast FtsZ1 and FtsZ2. *J. Biol. Chem.* 285, 20634–20643.
17. Yoshida, Y., Mogi, Y., TerBush, A.D., and Osteryoung, K.W. (2016) Chloroplast FtsZ assembles into a contractible ring via tubulin-like heteropolymerization. *Nat. Plants* 2, 16095.
18. Beech, P.L., Nheu, T., Schultz, T., Herbert, S., Lithgow, T., Gilson, P.R., and McFadden, G.I. (2000) Mitochondrial FtsZ in a chromophyte alga. *Science* 287, 1276–1279.
19. Nishida, K., Takahara, M., Miyagishima, S., Kuroiwa, H., Matsuzaki, M., and Kuroiwa, T. (2003) Dynamic recruitment of dynamin for final mitochondrial severance in a primitive red alga. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 2146–2151.
20. Mita, T., Kanbe, T., Tanaka, K., and Kuroiwa, T. (1986) A ring structure around the dividing plane of the *Cyanidium caldarium* chloroplast. *Protoplasma* 130, 211–213.
21. Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Misumi, O., Nishida, K., Yagisawa, F., Fujiwara, T., Nanamiya, H., Kawamura, F., and Kuroiwa, T. (2006) Isolated chloroplast division machinery can actively constrict after stretching. *Science* 313, 1435–1438.
22. Yoshida, Y. (2018b) Insights into the mechanisms of chloroplast division. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 733.
23. Yoshida, Y., Kuroiwa, H., Hirooka, S., Fujiwara, T., Ohnuma, M., Yoshida, M., Misumi, O., Kawano, S., and Kuroiwa, T. (2009) The bacterial ZapA-like protein ZED is required for mitochondrial division. *Curr. Biol.* 19, 1491–1497.
24. Kuroiwa, T., Nishida, K., Yoshida, Y., Fujiwara, T., Mori, T., Kuroiwa, H., and Misumi, O. (2006) Structure, function and evolution of the mitochondrial division apparatus. *Biochim. Biophys. Acta* 1763, 510–521.
25. Koening, J.H., and Ikeda, K. (1989) Disappearance and reformation of synaptic vesicle membrane upon

- transmitter release observed under reversible blockage of membrane retrieval. *J. Neurosci.* 9, 3844–3860.
26. Takei, K., McPherson, P.S., Schmid, S.L., and Camilli, P.D. (1995) Tubular membrane invaginations coated by dynamin rings are induced by GTP- $\gamma$ S in nerve terminals. *Nature* 374, 186–190.
  27. Praefcke, G.J.K., and McMahon, H.T. (2004) The dynamin superfamily: universal membrane tubulation and fission molecules? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 133–147.
  28. Bleazard, W., McCaffery, J.M., King, E.J., Bale, S., Mozdy, A., Tieu, Q., Nunnari, J., and Shaw, J.M. (1999) The dynamin-related GTPase Dnm1 regulates mitochondrial fission in yeast. *Nat. Cell Biol.* 1, 298–304.
  29. Miyagishima, S., Nishida, K., Mori, T., Matsuzaki, M., Higashiyama, T., Kuroiwa, H., and Kuroiwa, T. (2003b) A plant-specific dynamin-related protein forms a ring at the chloroplast division site. *Plant Cell* 15, 655–665.
  30. Gao, H., Kadirjan-Kalbach, D., Froehlich, J.E., and Osteryoung, K.W. (2003) ARC5, a cytosolic dynamin-like protein from plants, is part of the chloroplast division machinery. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 4328–4333.
  31. Ford, M.G.J., Jenni, S., and Nunnari, J. (2011) The crystal structure of dynamin. *Nature* 477, 561–566.
  32. Faelber, K., Posor, Y., Gao, S., Held, M., Roske, Y., Schulze, D., Haucke, V., Noé, F., and Daumke, O. (2011) Crystal structure of nucleotide-free dynamin. *Nature* 477, 556–560.
  33. Osawa, M., Anderson, D.E., and Erickson, H.P. (2008) Reconstitution of contractile FtsZ rings in liposomes. *Science* 320, 792–794.
  34. Erickson, H.P. (2009) Modeling the physics of FtsZ assembly and force generation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 9238–9243.
  35. Antonny, B., Burd, C., De Camilli, P., Chen, E., Daumke, O., Faelber, K., Ford, M., Frolov, V.A., Frost, A., Hinshaw, J.E., Kirchhausen, T., Kozlov, M.M., Leuz, M., Low, H. H., McMahon, C., Pollard, T.D., Robinson, P.J., Roux, A., and Schmid, S. (2016) Membrane fission by dynamin: what we know and what we need to know. *EMBO J.* 35, 2270–2284.
  36. Mears, J.A., Lackner, L.L., Fang, S., Ingerman, E., Nunnari, J., and Hinshaw, J.E. (2011) Conformational changes in Dnm1 support a contractile mechanism for mitochondrial fission. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 18, 20–26.
  37. Yoshida, Y., Miyagishima, S.Y., Kuroiwa, H., and Kuroiwa, T. (2012) The plastid-dividing machinery: formation, constriction and fission. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15, 714–721.

## A dynamic trio of rings for chloroplast and mitochondrial division

Yamato Yoshida

Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo

解説

光合成は葉緑体の細胞内共生説を支持するのか—最近の知見から<sup>‡</sup>

東京大学 大学院総合文化研究科  
佐藤 直樹\*

「葉緑体の起源は細胞内に共生したシアノバクテリアである」。今では高校生物の教科書にも記され、誰も疑う者がいない細胞内共生説であるが、従来有力な根拠とされた葉緑体とシアノバクテリアの類似性である糖脂質、ペプチドグリカンの存在は、これら合成に関わる遺伝子群の起源を調べると、むしろ両者の不連続性を示すことがわかった。光合成・炭素固定関連タンパク質もさまざまなシアノバクテリアの系統に由来する。生物学史の再検討と新たな系統解析の結果をもとに、細胞内共生説を精査し、凝り固まった細胞内共生説を解きほぐす方法として、宿主主導説を提案する。

1. はじめに

定説：「葉緑体の起源は細胞内に共生したシアノバクテリアである」

今では高校生物の教科書でも大学レベルの教科書類<sup>1,2)</sup>でも、オルガネラ（ミトコンドリアと葉緑体）の起源に関する細胞内共生説は当然の事実として図示されている。簡略化したものを図1に示す。研究論文や総説にも同様の図が数多く掲載されている。なお、本稿では葉緑体に絞って議論を進める。細胞内共生説の起源は、1883年にシンパーが一言書いた注釈をもとに詳しい仮説を構築し、提唱した1905年のメレシコフスキーの論文<sup>3)</sup>に遡る。この論文の内容は、すでに『光合成研究』<sup>4)</sup>で紹介した。しかし、20世紀前半には、細胞内共生説は単なる奇抜な仮説に留まった。1962年に葉緑体DNAの存在が証明<sup>5)</sup>されると、にわかに葉緑体の起源が藍藻（今ではシアノバクテリアと呼ばれるが、本稿では歴史的記述に限り、この語を用いる）である可能性がクローズアップされ、その後、葉緑体と藍藻の詳細な比較<sup>6,7)</sup>に基づき、さまざまな議論が展開された。後に連続

細胞内共生説 Serial Endosymbiotic Theory (SET) と呼ばれることになる説を最初に図入りで提唱したのは Goksøyr (1967)<sup>8)</sup> で、その後、マーギュリス（最初はセーガンとして執筆）が大々的に宣伝

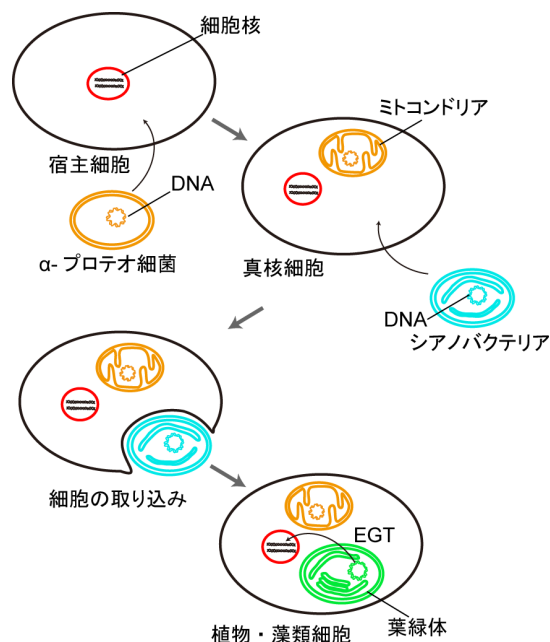


図1. 簡略化した連続細胞内共生説の説明図  
EGT は endosymbiotic gene transfer を表す。

<sup>‡</sup> 第10回日本光合成学会シンポジウム  
\*連絡先 E-mail: naokisat@bio.c.u-tokyo.ac.jp

を始めたことは周知のとおりである<sup>9,10</sup>。しかし、実際にマーギュリスの初期の論文・著作を読むと、葉緑体の細胞内共生起源の問題はすでに分かったこととして、いわば既定事実として書かれ、力点は真核細胞の有糸分裂の起源に置かれていた。このあたりの歴史的な分析については、拙著『細胞内共生説の謎』で解説した<sup>11</sup>。本稿では、春の光合成学会での筆者による発表内容をもとに、その後の研究の進展も含めて、どう考えたらよいか説明したい。

## 2. 葉緑体とシアノバクテリアの類似性と連続性

Echlin (1966)<sup>6</sup>にはすでに詳細な葉緑体と藍藻の比較対照表が示されている(文献11に再録)。もう少し新しい視点から、伝統的に認められてきた葉緑体とシアノバクテリアの類似性を表1に示す。機能としての酸素発生型光合成の他に、物質としてはDNAやクロロフィルa、糖脂質の存在が、構造としては、チラコイド膜と包膜の存在が挙げられる。これらは葉緑体とシアノバクテリアとの系統的な連続性の証しとも見なされた。

当初、葉緑体のタンパク質として分子系統解析が行われていたのは、相同タンパク質が明らかにシアノバクテリアに存在するリボソームタンパク質や光合成関連タンパク質であった。後者は葉

緑体とシアノバクテリアにしか相同なタンパク質がないことが多く、葉緑体がどのシアノバクテリアから由来するかという議論には利用できても、そもそも両者が本当に系統的に連続しているかを判定する根拠としては不十分であったが、一般には連続性の証拠と考えられた。リボソームタンパク質やATP合成酵素のサブユニット、RNAポリメラーゼのサブユニットなどについては、シアノバクテリア以外の細菌も含む系統樹が作れるため、葉緑体タンパク質が明らかにシアノバクテリアに由来することが初期の研究から確認されていた<sup>12</sup>。また、これらのハウスキーピング・タンパク質をコードする遺伝子群については、葉緑体ゲノム上での並び方がシアノバクテリアゲノム上と同様であり、シアノバクテリアゲノムの一部が残存していると考えられた<sup>13,14</sup>。これらは葉緑体とシアノバクテリアとの連続性の証拠となる。

ここで注意しなければならないのは、多くの教科書や論文に掲載されている図1のような模式図において、最初に共生したシアノバクテリアの膜があたかも現在の葉緑体の膜になったかのように示されていることである。当然のことながら、ゲノムは遺伝するが、「膜そのものは遺伝しない」。したがって、このような「わかりやすい」図が大

表1. シアノバクテリアと葉緑体の類似性

文献11の表7より改変。

種類	項目	シアノバクテリア	葉緑体
物質	クロロフィルa	存在	
	クロロフィルb	<i>Prochlorococcus</i> などに存在	緑藻・植物に存在
	糖脂質	MGDG, DGDG, SQDG <sup>(*)</sup>	MGDG, DGDG, SQDG
	DNA	存在	
	rRNA	原核型	
	酵素・タンパク質	単一系統に属するタンパク質が多数共通に存在する	
構造	チラコイド膜	存在 <sup>(*)</sup>	緑藻・植物ではグラナもある
	フィコビリソーム	<i>Prochlorococcus</i> などを除き存在	紅藻・灰色藻に存在
	包膜	内膜と外膜の二枚	
	ペプチドグリカン	分厚く明瞭	灰色藻では明瞭 コケ・シダは薄い
機能	増殖様式	二分分裂	
	タンパク質合成	原核型	
	光合成	酸素発生型	

(\*)1) *Gloeobacter*には存在しない。

きな誤解を生んでおり、あたかも葉緑体の内部にあるものすべての起源がシアノバクテリアであるかのような錯覚を生み出してきた。膜が遺伝すると言えるのは、膜を作る酵素の遺伝子が葉緑体ゲノムにコードされているか、共生遺伝子移動 EGT によって核ゲノムに移行しているか、そのどちらかの場合に限るはずである。

### 3. 比較ゲノムソフトウェア Gclust の開発と大量系統解析

2000 年以降、ゲノム解読の加速を受けて、さまざまな生物のゲノムにコードされるタンパク質を相互に比較し、オーソログ (同祖遺伝子・タンパク質) を同定するプロジェクトが本格化した。その際、オルガネラのタンパク質は輸送配列をもつために N 末端が長く、通常の相同性検索では、対応する原核生物の相同タンパク質とは配列が部分的にしか一致しないことになり、オーソログの同定に手間取ることが多かった。そこで筆者は、多数のゲノム比較において、オーソログ (および近いパラログ) をクラスターにまとめると、異種

生物の対応する遺伝子の研究が容易になるとの考えで、異なる生物ドメインにまたがる相同クラスターを自動生成するプログラムとして Gclust を開発した<sup>15)</sup>。その際、適当な E 値をすべてのタンパク質についての閾値とするという、当時一般的であった方法によるのではなく、タンパク質クラスターごとに最適な閾値を自動的に設定するようにした。さらにその結果を用いたデータもウェブサイト上で公開した (<http://gclust.c.u-tokyo.ac.jp/>)。これを利用することにより系統樹作成も大幅に容易になったので、2014 年以降、葉緑体タンパク質の系統樹を次々と作成し、その成果を発表してきた。

### 4. 明らかになった葉緑体とシアノバクテリアの間の不連続性

初期の細胞内共生説で藍藻がそのまま細胞内に住みついていると考えられたのが灰色藻であるが、その根拠は、細菌細胞壁の主要構成成分であるペプチドグリカンの存在だった。加えて、2000 年以降のゲノム解読により、いくつかの緑

表2. シアノバクテリアと葉緑体の不連続性

酵素名や記号だけが書かれているものについて、簡単に説明を加える。Pol IIIは細菌型DNA複製酵素。POP (Plant/protist organellar DNA polymerase)は、もともとウイルス由来のDNA複製酵素で、真核生物の誕生とともにミトコンドリアで使われるようになり、その後成立したすべての葉緑体でも利用されるようになった。動物と菌類の系統では、早い時期にDNA polymerase ガンマに入れ替わり、これがミトコンドリア複製酵素となっている。ERは小胞体。PCはリン脂質の一種でホスファチジルコリン。RpoTは別名NEP (核コードRNAポリメラーゼ)とも呼ばれる。もともとウイルス由来のものがミトコンドリアで利用され、さらに緑色系統の進化の途中で葉緑体でも利用されるようになった。なお、紅藻の葉緑体の酸素発生系はPsbO/U/Vであり、シアノバクテリアのものに似ている。

種類	項目	シアノバクテリア	葉緑体
物質	テトラピロール合成	複数の非相同・同等機能酵素の存在	
	糖脂質合成	異なる反応、または別系統の酵素	
	DNA複製	Pol III	POP
構造	チラコイド膜形成	常に膜は存在し、増えていく	退化した状態から新規に作られることがある
	包膜	二枚とも糖脂質でできている	外膜はERに似てPCなどを含む
	ペプチドグリカン合成系	単一系統	多様な細菌に由来
	全体構造	くぼみや穴はなく、細胞の大きさはほぼ決まっている	陥入や貫通孔が見られることがあり、サイズ・形態は柔軟に変化
機能	分裂のしくみ	MinC/D/E、FtsZなどが働く	MinD/E、FtsZのほか、ダイナミンなど真核型成分も働く
	タンパク質合成	リボソームの構成は基本的に似ているが、葉緑体では余分なサブユニットがある	
	転写酵素	RpoA/B/C1/C2	RpoA/B/C1/C2とRpoT
	酸素発生系	PsbO/U/V、P'は別機能	PsbO/P/Q

藻類、コケ類、シダ類、裸子植物にペプチドグリカン合成系の遺伝子が揃っていることがわかり、これらは細胞内共生のなごりかと思われた。ところが、詳細な系統解析の結果、調べた10種類の酵素のうち、8種類がシアノバクテリア以外の細菌に由来すること、また、残りの2種類も、rRNAよりも後でシアノバクテリアから導入されたことが示された。興味深いことに、これら緑色系統の酵素群はすべて単系統であった<sup>16)</sup>。灰色藻については複雑で、緑色系統と近い場合とシアノバクテリアに近い場合が混在していた。

糖脂質合成系については、葉緑体とシアノバクテリアでは、一部の反応経路そのものに違いがあることが分かっていた(1段階目のアシルトランスフェラーゼ、モノガラクト脂質生成過程)。さらに、反応そのものは同じに見えるそのほかの段階についても、酵素の起源を調べると、葉緑体の酵素の起源はシアノバクテリアではないことが

分かった<sup>17)</sup>。この状況は、「一次共生生物」Archaeplastida とされる緑色、紅色、灰色の三系統の分岐以前に確立していたと考えられた。

表2には、これらの項目を含め、葉緑体とシアノバクテリアとの不連続性を示すと思われる相違点をまとめた。詳細については、表の説明や拙著<sup>11)</sup>を参照していただくこととし、拙著以降に修正した項目と新たに加えた項目のみ説明する。チラコイド膜はシアノバクテリアには常に存在し、細胞分裂の際には、分割されて娘細胞に分配される。それでも、細胞膜に近い末端から新規に合成されると推定されており、研究が進められている。これに対し、葉緑体は暗黒下ではエチオプラストとして発達し、光照射下ではプロラメラボディから新たにチラコイド膜が作られる。このような動的な変化は葉緑体固有のものである。

また、一般には、葉緑体は回転楕円体のような丸い構造体と思われるが、クラミドモナスの

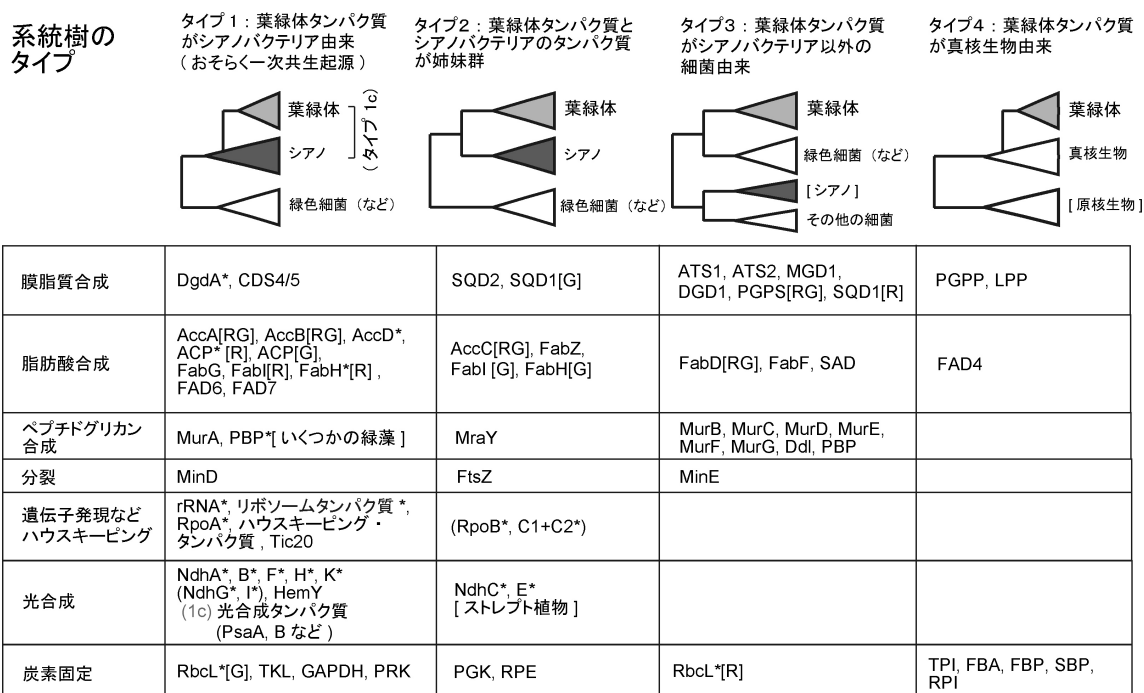


図2. 葉緑体酵素の起源に関する系統解析のまとめ

葉緑体に存在するタンパク質について、シアノバクテリア(「シアノ」と表記)のタンパク質との関係に注目して、系統樹のパターンを4通り(およびタイプ5)に分類し、それぞれの酵素を当てはめた。なお、[R]は紅色系統、[G]は緑色系統を示す。\*は葉緑体ゲノムにコードされたタンパク質。なお、灰色系統については、1種のゲノムしか利用できなかったため、ここでは明示していない。文献11の図35より改変。

葉緑体には陥入や貫通孔が見られ、その中に脂質顆粒が入り込むことが明らかになった<sup>18)</sup>。'Chloroplast pocket'は植物の葉緑体でも知られている<sup>19)</sup>。包膜の脂質組成と併せ、このことも、葉緑体が真核細胞に固有のオルガネラであり、独立生活をするシアノバクテリアとは異なることを示している。

この他、カルビン・ベンソン回路の酵素の一部にも、シアノバクテリア起源ではないものがあることが以前から知られており、この状態も、Archaeplastida 成立以前に確立していたと考えられる<sup>20)</sup>。

## 5. さまざまな細菌から獲得された遺伝子がコードする葉緑体タンパク質

### 5.1. 遺伝子供給源の多様性

これまでに調べた葉緑体タンパク質の起源を図2にまとめた。これは拙著<sup>11)</sup>の図35の改訂版である。これを見るとまず、葉緑体タンパク質の遺伝子供給源の多様性がわかる。ここには明示していないが、実はタイプ1 (または1c) についても、詳しい起源によって3通りに分かれることが判明した。タイプ1の多くの葉緑体タンパク質やrRNAは、シアノバクテリアが多様化する比較的根元から分岐しているが、RbcL、PRK、RpoA、ChlB/L/N (結合系統樹) では、*Synechocystis*、*Anabaena*、*Cyanothece* などのクレード ( $\beta$ シアノバクテリア) の根元から、PsaA、PsaB、MinDでは、*Prochlorococcus* と海洋性 *Synechococcus* を含むクレード ( $\alpha$ シアノバクテリア) の根元から分岐することもわかった。こうしたことは元々分かっていたことだが、これまで、漠然とシアノバクテリア由来ということで曖昧にされてきた。言い換えれば、シアノバクテリアからの遺伝子導入は少なくとも3回あったことになる。これらの事実は、シアノバクテリアがただ一回細胞内共生したという概念とは大きく異なり、細胞内共生が何度も起きたとか、それ以外に遺伝子水平移動 (horizontal gene transfer, HGT) が多数あったとか、さまざまなことを追加して考える必要がある。

それでも、大方の見方としては、はじめに基本的な細胞内共生があって、それから個別の遺伝子

が HGT によって入れ替わったという考え方が普通だった。その背景には、葉緑体の成立が約 15 億年前という古い時期で、それからの長い時間の間に HGT が起きてきたとしても不思議はないという思い込みがある。ところが、上述のように、糖脂質合成系やカルビン・ベンソン回路における非シアノバクテリア起源の酵素は、Archaeplastida の 3 系統分岐以前にすでに存在してはらずで、「一次共生」以降に入替が起きたとした場合、それが可能な時間はきわめて短かったことになる (せいぜい 1~2 億年)。

### 5.2. 遺伝子導入時期の多様性

そこで問題となるのは、遺伝子導入時期である。現在使われる分子系統樹推定法では、中立進化を前提として遺伝距離を精密に推定できるので、建前としては、系統樹の枝の長さの絶対値を測れば遺伝子導入時期も分かるはずだが、遺伝子によって進化速度が異なることが多いので、もう少し現実的な方法として、緑色系統 (緑藻・植物) Viridiplantae、紅色系統 Rhodophyta のそれぞれについて、別々に以下のような測定をした (図3)。つまり、緑色系統の葉緑体が分岐していく部分 (緑藻の分岐が始まってから現在まで) の長さ VL を基準として、根元の長さ (姉妹群から分岐して緑藻の共通祖先まで) VS を測定し、さまざまなタンパク質や rRNA について比較した。同じことを紅色系統でも行った。これらを緑色、紅色それぞれの系統における「相対的な根元の長さ」 (それぞれ、VS/VL、RS/RL) とした。ここで、系統樹の樹形になぞらえて、S は stem, L は leaf の意である。この方法はすでにミトコンドリアのタンパク質の起源がミトコンドリア成立よりも古いことを示すのに利用された<sup>21)</sup>。ミトコンドリアについて詳しく述べる余裕はないが、細胞内共生によるミトコンドリア成立以前に大部分のミトコンドリアタンパク質の遺伝子が真核宿主に導入されていたという pre-endosymbiont 仮説<sup>22)</sup> または pre-mitochondrial symbioses 仮説<sup>23)</sup> が有力な研究者たちによって提唱されており、ここで述べている葉緑体の状況とよく似ている。



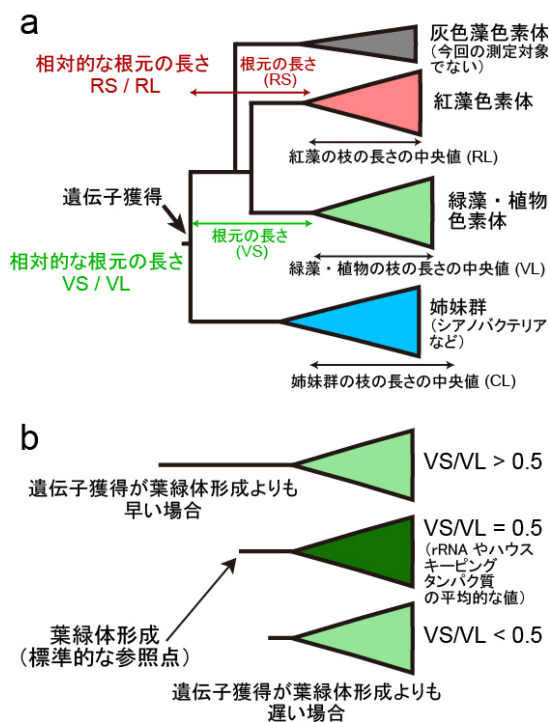


図3. 葉緑体タンパク質をコードする遺伝子の獲得時期の推定

(a) それぞれのタンパク質の分子系統樹において測定した枝と根元の長さ、 「相対的な根元の長さ」の定義

(b) 葉緑体形成を基準とした遺伝子獲得との時期の推定。ここでは緑色系統を例として図示したが、実際の解析では紅色系統でも同様の解析を行い、両者の相関がよいことを確認している。

実際に「相対的な根元の長さ」を比較するには、参照点が必要である。rRNA とハウスキーピング・タンパク質による値がほぼ一致したので、緑色系統で約 0.5、紅色系統で約 0.6 とした。両者が少し異なるのは、それぞれの系統における多様化が起きた時点が同じではないためと思われる。これらの値で示される根元の起点 (図 3b の横線の左端) が従来の概念における「一次共生」、つまり葉緑体形成時期に対応する

。あくまでも目安であるが、 $VS/VL$ 、 $RS/RL$  が大きいほど、遺伝子獲得が古い (早い) ことを示す。タイプ 1、2、3 のタンパク質についてこれらの値を求めると、基本的には緑色系統と紅色系統で得られる値がよい相関を示した。また、姉妹

系統がシアノバクテリアとなるものについて、シアノバクテリアの分岐後の枝の長さ CL を VL で規格化した値が、0.6 から 1.2 の範囲に収まり、 $VS/VL$  との相関がなかったことも、これらの指標が意味のあるものであることを示している。

ここでは「相対的な根元の長さ」の結果の詳細は割愛するが、脂質合成系の  $SQD2$ 、 $MGD1$ 、 $KAS I$ 、 $ATS2$  や、光合成関連タンパク質群 (結合系統樹) や  $GAPDH$ 、 $RbcL$ 、 $PsaD$ 、 $RPE$  などが顕著に大きな値を示した。一方で、ペプチドグリカン合成系のうちでシアノバクテリア由来だった  $MurA$ 、 $MraY$  は顕著に小さな値を示した。いずれにしても、さまざまなタンパク質について、非常に多様な「相対的な根元の長さ」が得られた。この多様性の一部は、進化速度が途中で変わったということの説明できるかもしれないが、葉緑体タンパク質の獲得時期が、「一次共生」として代表される葉緑体形成の以前から以後にわたる幅広い時期にわたっていたことを示す証拠とも考えられる。

## 6. どう考えるか

### 6.1. 凝り固まった細胞内共生説を和らげる

以上のような話をすると、多くの研究者からは、「ではどう考えるのか、定説となっている細胞内共生を否定するのか」などという批判を受ける。これに対してはまず、細胞内共生説は本当に定説というべきなのか、ならば、いつ誰がこの説を証明したのか、実は曖昧なのではないかということを描きつけておきたい。そのからくりとしては、図 1 のような図が論文に掲載されると、あとはただ単に「何でも葉緑体の中のものにはシアノバクテリアが持ち込んだ」と多くの人々が思い込んでしまうのではないか。このような歴史的な問題のほか、哲学的な問題もある。シアノバクテリアという単位がまとまって細胞内に入ってきて葉緑体になれば、進化的な有利さが保証されるが、遺伝子がバラバラで導入されても、その途中では自然選択における有利さがなく、共生以後なら遺伝子が入れ替わってもおかしくないだという議論がある。これを言い出すと、どんなデータをもってきても勝てないように見える。つまり、ガチガチ

のハードコア理論である。これはそもそも、細胞レベルの事象と進化レベルでの事象を混同しているように思う。進化というのは、本当に稀なことがたまたま積み重なって起きたはずである。中立説を考えれば、選択的有利さにあまりこだわる必要はないはずである。それでも分子生物学実験を経験した多くの研究者たちは、細菌を培養していくうちに機能を失った遺伝子がすぐになくなってしまふことを知っている。こうした実験室内で起きる個人的体験も後押しして、明らかに有利でない遺伝子は残らないと葉緑体研究者の誰もが思い込んでいるが、それでは進化など起きようがない。実験室レベルの実験と進化はやはり別次元で考える必要がある。

凝固固まった理論を和らげる方法はいくらかもある。糖脂質合成系を獲得すれば、リン欠乏下での生存に有利である。リン欠乏における糖脂質の役割は現在の植物にも見られ、リン欠乏時には糖脂質である DGDG が葉緑体包膜から葉緑体以外の膜系に供給される。真核宿主が最初に包膜部分だけを獲得したとして、その役割が今でも活きていると解釈したらどうだろう<sup>24)</sup>。一方で、炭素代謝の酵素なら単独で獲得しても機能するだろう。ペプチドグリカン合成系の酵素の一部は、いまで

もシロイヌナズナにあり、別の機能を持っているらしい。それならば、別々に入ってきたとしても、最初は別の機能を担っながら、そのうち全部が揃えばペプチドグリカンを作ることができるかもしれない。こういう機能変更は進化ではよく見られ、前適応 preadaptation/exaptation という言葉があてられている。渦鞭毛藻の葉緑体に関しては、ショッピングバッグモデルと呼ばれる、「失敗した細胞内共生」の繰り返しの中で、葉緑体ではたらくタンパク質をコードする遺伝子を一個ずつ核ゲノムに獲得したというような仮説もある<sup>25)</sup>。光合成装置とタンパク質合成装置(リボソーム)は別々の機能を担うので、独立して獲得してもよいはずである。上述のように、中立進化も排除できない。落ち着いて考えれば、いくらかでも考えようはあるはずである。私自身は次に述べる宿主主導説を考えているが、まだまだデータも不足しており、もっとよい考え方があられるかもしれない。

## 6.2. 考えられる仮説

私の考えは次のようなものである(図4)<sup>11)</sup>。なお、ここでは、タンパク質を獲得したという形で記述するが、当然、実際に入ってくるのは遺伝

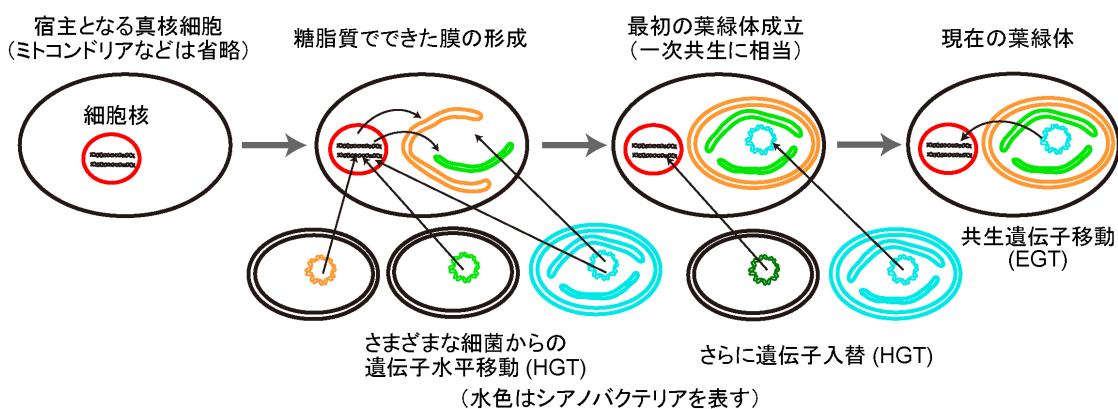


図4. 宿主主導説における葉緑体の成立過程

糖脂質は光合成膜の重要な成分であるが、シアノバクテリアと葉緑体では合成経路の起源が異なることに基づいて、可能なシナリオを描いている。宿主細胞があらかじめさまざまな遺伝子を多様な細菌から獲得し、その中には糖脂質合成系が含まれていた。糖脂質でできた膜をつくり、そこにシアノバクテリアから光合成系を導入した。さらにシアノバクテリアの遺伝子発現系を獲得したことにより、最初の葉緑体が成立した。その後も、シアノバクテリアを含むさまざまな細菌からの遺伝子水平移動(HGT)が続いた。また、葉緑体ゲノムから核ゲノムへの遺伝子の共生遺伝子移動(EGT)が続き、現在の葉緑体ができている。

子である。また、HGT により遺伝子が入ってくるときに、一時的に細胞がまるごと入ってくる共生状態を経ることはありうるが、過去のことはわからないので、それを共生と呼ぶか、HGT と言うかは定義の問題である。また、Archaeplastida の 3 系統成立時にすでに共通に存在した外来遺伝子の起源は、葉緑体成立以前にまで遡ると考えることにする。

将来の原始藻類となる真核宿主は、まず、リン欠乏への適応として、細菌から糖脂質合成系を獲得した。ルビスコなど炭素固定系の酵素も、長い期間にわたって、シアノバクテリアや他の細菌から徐々に導入された。この宿主は糖脂質でできた膜を準備し、そこにシアノバクテリアから光合成系を受け入れた。脂肪酸合成系もこのころにシアノバクテリアやその他の細菌から導入された。そこに改めてシアノバクテリアからリボソーム成分や ATP 合成酵素、RNA ポリメラーゼなどが導入され、葉緑体が形成された。ペプチドグリカン合成系のタンパク質は、この前後の幅広い時期に別々に獲得されたようにも見えるが、緑色植物がもつこれらのタンパク質が単系統であることを説明するには、予めどこかで遺伝子が集められて、それから導入されたという考え方もできる。

ここで強調しておきたいのは、アーキアに由来する真核生物は元来、脂肪酸を合成できなかったはずだということである。多くの場合、細菌の捕食で脂肪酸を獲得していたであろうが、葉緑体の場合、光合成と脂肪酸合成 (II 型脂肪酸合成酵素) が共役することで、効率よく脂質合成ができるようになった<sup>11)</sup>。これは真核生物進化にとってきわめて大きな進歩である。光合成をしない真核生物は、細菌からポリケチド合成酵素に由来する I 型脂肪酸合成酵素を獲得しているが、菌類型と動物型という別系統のものが真核生物の系統に散在しており、これらは後からの獲得と考えられる。その意味で、光合成と結びついた脂肪酸合成は、他の真核生物も含めた生物界に多量の脂質の供給を可能にし、全真核生物の繁栄を確実なものとしたのであるから、その意義はきわめて大きい (脂肪酸仮説と呼ぶ)。したがって、光合成のしくみ自体は一回の細胞内共生で得られたもので

はなく、単純に細胞内共生説を支持するものとは言えないにしても、光合成が真核生物の進化に果たした役割の重要性は変わらない。

## 謝辞

ここで紹介した研究は日本学術振興会科学研究費基盤研究 (B) の一環として行われたものである。

Received Nov 4, 2019; Accepted Nov 21, 2019; Published Dec 31, 2019.

## 参考文献

1. Campbell, N.A., Reece, J.B., Urry, L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., Jackson, R.B. (2014) *Biology*. 10th Edition, Pearson Education, San Francisco, CA.
2. 東京大学生命科学教科書編集委員会(2018) 『理系総合のための生命科学』 (第4版) 羊土社.
3. Mereschkowsky, C. (1905) Über Natur und Ursprung der Chromatophoren im Pflanzenreiche. *Biol. Centralblatt* 25, 593–604.
4. 佐藤直樹 (2016) 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. *光合成研究* 26, 106–117.
5. Ris, H. and Plaut, W. (1962) Ultrastructure of DNA-containing areas in the chloroplast of *Chlamydomonas*. *J. Cell Biol.* 13, 383–391.
6. Echlin, P. (1966) The cyanophytic origin of higher plant chloroplasts. *Br. phycol. Bull.* 3, 150–151.
7. Stanier, R.Y. (1970) Some aspects of the biology of cells and their possible evolutionary significance. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.* 20, 1–38.
8. Goksøyr, J. (1967) Evolution of Eucaryotic cells. *Nature* 214, 1161.
9. Sagan, L. (1967) On the origin of mitosing cells. *J. Theor. Biol.* 14, 225–274.
10. Margulis, L. (1970) *Origin of Eukaryotic Cells*. Yale University Press, New Haven.
11. 佐藤直樹(2018) 『細胞内共生説の謎 隠された歴史とポストゲノム時代における新展開』 東京大学出版会.
12. Gray, M.W. and Doolittle, W.F. (1982) Has the endosymbiont hypothesis been proven? *Microbiol. Rev.* 46, 1–42.

13. Ohta, N., Sato, N., Nozaki, H. and Kuroiwa, T. (1997) Analysis of the cluster of ribosomal protein genes in the plastid genome of a unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*: Translocation of the *str* cluster as an early event in the Rhodophyte-Chromophyte lineage of plastid evolution. *J. Mol. Evol.* 45, 688–695.
14. Stoebe, B. and Kowallik, K.V. (1999) Gene-cluster analysis in chloroplast genomics. *Trends Genet.* 15, 344–347.
15. Sato, N. (2009) Gclust: *trans*-kingdom classification of proteins using automatic individual threshold setting. *Bioinformatics* 25, 599–605.
16. Sato, N. and Takano, H. (2017) Diverse origins of enzymes involved in the biosynthesis of chloroplast peptidoglycan. *J. Plant Res.* 130, 635–645.
17. Sato, N. and Awai, K. (2017) “Prokaryotic Pathway” is not prokaryotic: Noncyanobacterial origin of the chloroplast lipid biosynthetic pathway revealed by comprehensive phylogenomic analysis. *Genome Biol. Evol.* 9, 3162–3178.
18. Moriyama, T., Toyoshima, M., Saito, M., Wada, H. and Sato, N. (2018) Revisiting the algal “chloroplast lipid droplet”: the absence of an entity that is unlikely to exist. *Plant Physiol.* 176, 1519–1530.
19. Yamane, K., Oi, T., Enomoto, S., Nakao, T., Arai, S., Miyake, H. and Taniguchi, M. (2018) Three-dimensional ultrastructure of chloroplast pockets formed under salinity stress. *Plant Cell Environ.* 41, 563–575.
20. Matsuzaki, M. *et al.* (2004) Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D. *Nature* 428, 653–657.
21. Pittis, A.A. and Gabaldón, T. (2016) Late acquisition of mitochondria by a host with chimaeric prokaryotic ancestry. *Nature* 531, 101–104.
22. Gray, M.W. (2014) The pre-endosymbiont hypothesis: A new perspective on the origin and evolution of mitochondria. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 6, a016097.
23. Gabaldón, T. (2018) Relative timing of mitochondrial endosymbiosis and the “pre-mitochondrial symbioses” hypothesis. *IUBMB Life* 70, 1188–1196.
24. Härtel, H., Dormann, P. and Benning, C. (2000) DGD1-independent biosynthesis of extraplastidic galactolipids after phosphate deprivation in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 10649–10654.
25. Howe, C.J., Barbrook, A.C., Nisbet, R.E.R., Lockhart, P.J. and Larkum, A.W.D. (2008) The origin of chloroplasts. *Phil. Trans. R. Soc. B* 163, 2675–2685.

## Does photosynthesis support the endosymbiotic origin of chloroplasts?

Naoki Sato

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

## 解説

Tree of life の構築と光合成の進化<sup>‡</sup><sup>1</sup>北海道大学 低温科学研究所<sup>2</sup>京都府立大学 生命環境科学研究科<sup>3</sup>日本製粉株式会社 イノベーションセンター田中歩<sup>1\*</sup>、佐藤壮一郎<sup>2</sup>、横野牧生<sup>3</sup>

酸素発生型光合成生物の誕生過程はまだ解明されていない重要な問題である。この問題の解決には Tree of life と呼ばれる種系統樹の情報が極めて重要である。しかし、これまでの Tree of life は特定の遺伝子で描かれており、様々な問題が指摘されている。そこで我々は、ゲノムの全てのタンパク質に基づく Tree of life の構築手法を開発した。この手法によって真核生物 31 種、古細菌 62 種、バクテリア 994 種（計 1087 種）の Tree of life を構築した。この Tree of life は、最初にシアノバクテリアが誕生し、次に光合成細菌が誕生したことを示した。この結果に基づいて酸素発生型光合成生物の誕生を議論する。

## 1. はじめに

地球上にある全ての生物の系統関係を明らかにすること、すなわち Tree of life を構築することは、それ自体興味深い研究であるだけでなく、様々な生命現象の理解、さらには地球と生物の共進化を知る上でも重要である。光合成の分野では、どのような生物がいつ光合成を始めたのか、最初の光合成はどのような機能を持っていたのか、酸素を発生する光合成は如何にして生まれたのか、葉緑体はいつどのような機構で誕生したのか、陸上に進出した植物の光合成はどのような特徴をもっていたのかなど、多くの問いがある。もし時間軸も含め完全な Tree of life の構築に成功したら、これらの問いに答えるための重要な知見を提供するだろう。

Woese は rDNA を用いて Tree of life を構築することで、生物は細菌、古細菌、真核生物の 3 つのドメインから構成されていることを示した<sup>1)</sup>。しかし、単一の遺伝子では、情報量が少なく、ノイズも大きいため、正確な種系統樹の構築には問

題が多い。そこで、多くの生物におけるゲノムの解読や計算速度の向上等を背景に、複数の遺伝子をつないだ（コンカテマー）配列を最尤法で解析することによって種系統樹の構築が試みられた<sup>2,3,4)</sup>。最尤法はモデルに基づいて、アラインメントから最も高い確率で実現できる系統樹を描く方法である。そのため、コンカテマーを最尤法で解析する手法は種系統樹を知るうえで最も信頼できると考えられるようになり、最近報告されているほぼ全ての Tree of life はこの手法によって構築されている。この手法を用いて古細菌の新しいグループが発見されたこともあいまって、真核生物は古細菌の中から誕生したことが示され、新しい Tree of life が提案された<sup>5,6,7)</sup>。

しかし、種系統樹の構築において、コンカテマーを最尤法で解析することは必ずしも万能ではない。特に比較的短時間で分岐した場合（枝長が短い場合）、Incomplete lineage sorting (ILS) の影響を強く受け、個々の遺伝子の系統が種の系統と一致しないことがある。このような場合、コンカ

<sup>‡</sup> 第 10 回日本光合成学会シンポジウム

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

テマーを最尤法で解析すると間違った系統樹が得られることが指摘されている<sup>8,9)</sup>。また、最尤法は深く分岐している遺伝子の系統を知るにはアラインメントの困難さなど様々な問題があり、ネットワークを利用したあらたな解析も提案されている<sup>10)</sup>。事後確率を取り入れたベイズ法も系統樹の作成に用いられており、強力な解析手段となっている。しかし、この方法もアラインメントに依存している点で最尤法と同じ問題を抱えている。さらに、まだ実用には遠いが、深層学習を取り入れた系統樹の作成も試みられている<sup>11)</sup>。

一方、種系統樹の構築手法としてゲノムの全領域を使ったゲノムの系統樹 (genome tree) の作成が提案された<sup>12)</sup>。これは、代謝経路の構成、遺伝子の並び方、タンパク質ファミリー、特定の配列などを指標に系統樹を構築する手法である。しかし、これらの手法の多くは進化の論理を組み込んでおらず、またゲノムの持っているごく一部の情報しか用いていない。その結果、この手法は生物の限られた階層にしか適用できず、現在のところ満足できる系統樹も構築されてない。この様に、現在は、系統解析の新たな理論と手法が活発に提案されている時代である。そこで、我々は、光合成進化の様々な問いに答えることを目的に、種系統樹の新たな構築手法の開発に取り組んだ。

## 2. Tree of life の構築

### 2.1. 進化距離の計算

系統樹の構築は、(1)どのような配列を用いるか、(2)配列情報や進化距離からどのような統計的手法で解析するのかの二つの過程からなっている。後者については近年においても新たな解析方法の提案、最尤法やアラインメントの作成方法の改良などが報告されている<sup>13)</sup>。一方、用いる配列に関しては、上述したように種系統樹の場合はコンカテマーを利用するのが一般的である。この場合、利用する遺伝子は垂直伝播したオルソログに限られている。これは種の系統と同じ履歴を持つ遺伝子を使わなければならないからである。そのため、用いる遺伝子の数に関しては、例外的に膨大な時間とコンピュータを使い特定のグループにおいて数千遺伝子のコンカテマーを解析し

た報告もあるが<sup>14)</sup>、一般的には、最尤法の計算の制限も相まって、数十から百数十程度の遺伝子が用いられることが多い。しかし、この数は、真核生物の場合、全遺伝子の1%にも満たない数である。また、これらの条件を満足する遺伝子には翻訳系の遺伝子(リボソームタンパク質等)が多く、偏った遺伝子群によって系統樹が構築されていることになってしまう。特に離れた系統においては適当なオルソログをそろえるのも難しい。原核生物の場合はさらに深刻な問題を抱えている。多数のゲノムを解析したところ、少なくとも80%以上の遺伝子は進化の歴史の中で水平伝播をしており<sup>15)</sup>、報告によっては90%を超えるタンパク質ファミリーが水平伝播を行っている<sup>16)</sup>。このような場合、垂直伝播した遺伝子が極めて限られており、さらに古い時代の水平伝播は同定も難しい。そのため、作成されたコンカテマーの信頼性と情報量の少なさが問題となる。このように、アラインメントを基盤とした種系統解析は全ゲノムの解析とは本質的に矛盾している。

本来、ゲノム間の進化距離(種間の距離)は、すべての遺伝子情報から計算されなければならない。そこで我々は全てのタンパク質の配列から生物間の進化距離を計算する手法を開発した。生物Aのあるタンパク質P1をクエリ配列として、生物Bの全タンパク質に対してBLASTを行い、ベストヒットした(最も低いE-valueを持った)タンパク質(p1)を検索しそのE-value(e1)を求める。次に生物Aのタンパク質P1をクエリ配列にして自分自身(P1)に対するE-value(E1)を求める。次にこれらのE-valueの対数を計算し、( $\log_{10}e1$ ,  $\log_{10}E1$ )を2次元グラフにプロットする。ただし、E-valueの対数が1より大きいものは全て1に、-180より小さいものは全て-180にした。従って、このグラフのX座標とY座標の最大値は1、最小値は-180となる。この作業を生物Aが持っている全てのタンパク質について行う(図1)。図1で示したように、多くの点がグラフ上の様々な位置に散在している。その中でX軸に近いものは、生物Aと生物B間で相同な

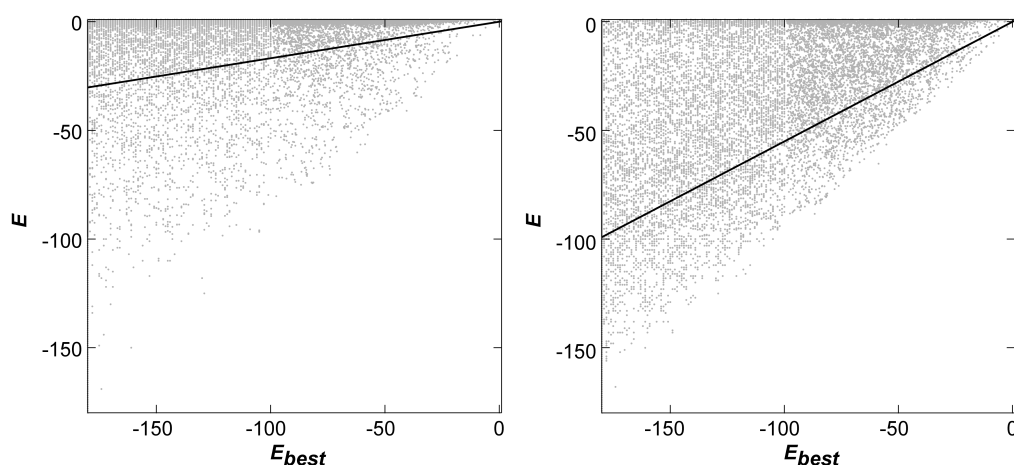


図1. E-value プロット図

横軸は *Arabidopsis thaliana* をクエリーにしたときの *Ostreococcus lucimarinus* (左) と *Oryza sativa* (右) のベストマッチのタンパク質に対する E-value の対数。横軸は *Arabidopsis thaliana* の自身に対する E-value の対数。各点は *Arabidopsis thaliana* のそれぞれのタンパク質に対応している。直線は各点の平均を示している。

タンパク質がないことを示しており、直線  $Y=X$  に近いものは、高い相同性を持ったタンパク質の存在を示している。生物 A と生物 B が同一の場合は、すべての点が  $Y=X$  上にあり、生物 A と生物 B は進化的には関係のない場合は全ての点が X 軸上にある。プロットされた点を、最小二乗法によって原点を通る直線で近似し、この直線の傾きを  $T$  とする。このとき  $T$  は生物 A の進化距離を 1 とした時に生物 A と B の共通先祖が発生するのにかかる時間を表し、 $1-T$  は共通祖先から生物 A が誕生するのにかかる時間を表している。

この点を少し詳しく説明するために、ある 1 遺伝子から本手法で距離を求めることを考える。生物 A のある遺伝子 a を、生物 B の全遺伝子に対して BLAST 検索をかけて、生物 B のある遺伝子 b がベストヒットしたとする。その時の E-value を  $E$  とする。 $E$  は、あるランダムな文字列から、a と b の共通部分の文字列が見つかる期待値であり、もしランダムな文字列のサイズが一定であれば、共通部分の文字列が偶然に発生する確率と見なせる(参考文献 18 の Fig. S1b の event B)。また、a を a に対して BLAST 検索をかけて得られる E-value を  $E_{best}$  とすると、 $E_{best}$  は、あるランダムな文字列から a 全体の文字列が見つかる期待値であり、もしランダムな文字列のサイズが一定であ

れば、a 全体の文字列が偶然に発生する確率と見なせる(参考文献 18 の Fig. S1b の event A)。Event A と B の関係を図 2a に示す。Event A を 2 つの期間に分けて考える。まず a と b の共通部分が偶然に発生する期間、そして a 独自の文字列が偶然に発生する期間である。今回の手法では、a と b の間の進化距離(時間)を  $1 - \frac{\text{Log}_{10}E}{\text{Log}_{10}E_{best}}$  で表しており、これを  $1-T$  とおく(図 2b)。これは  $(E_{best})^T = E^1$  と変形できる。この式の意味は、event A が  $T$  回発生することと、event B が 1 回発生することが、等価であることを示している。ここで、event A と B が発生する期間中、a における文字列の変化の速度が一定だとすれば、上の式の意味は、event A が  $T$  回発生する時間と、event B が 1 回発生する時間は等しい、となる。

例として、event B が 1 回発生するのに必要な時間を 1 時間とし、その間に event A が  $T=1/3$  回発生する場合を考える(図 2c)。すると、a 全体が発生するのにかかる時間は 3 時間となる。これを、a 全体が発生するのに必要な時間を 1 と置き換えた時の図が Fig2d であり、 $1-T$  は a と b の共通祖先から a が発生するのに必要な時間を示している。

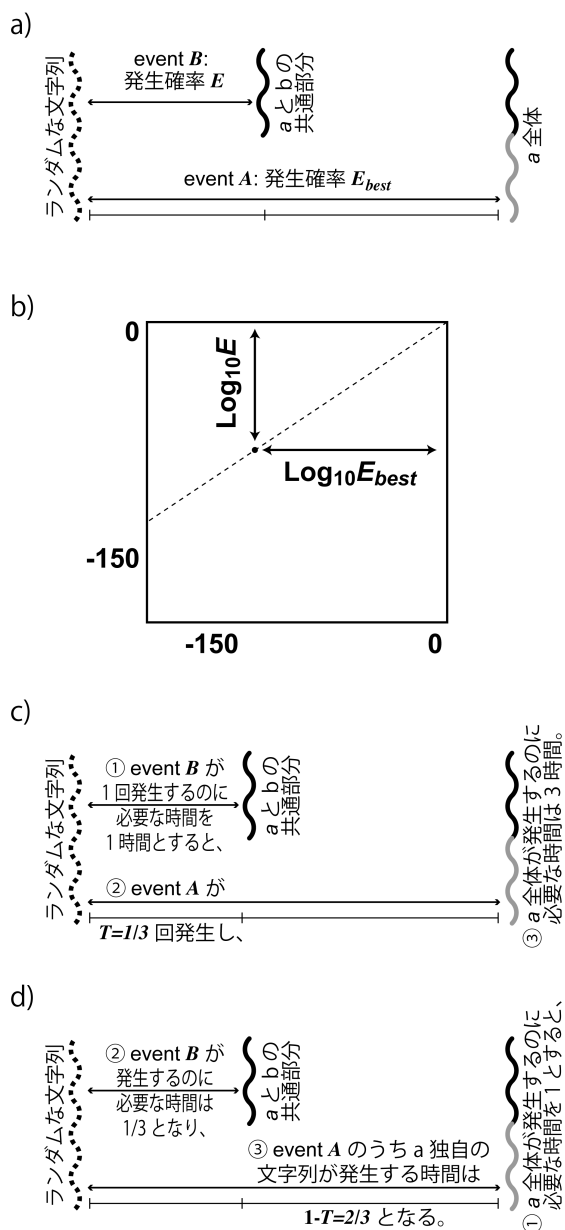


図2. 距離の求め方

本手法で得られる生物間の距離は、 $1-T$  を全遺伝子に対して計算し、それらの重み付き平均をとったものに相当する。重み付き平均は図 1 に示した通り、全遺伝子の  $\text{Log}_{10} E$  と  $\text{Log}_{10} E_{best}$  をプロットし、原点を通る直線に対して最小二乗法で傾きを求めることで得ている。つまり、原点から遠い、 $\text{Log}_{10} E$  や  $\text{Log}_{10} E_{best}$  の値が小さい(相同性が高い)遺伝子ほど、重要視される重み付き平均で

あることを示している。このことは、本手法においての仮定のうち一つ、event A と B が発生する期間中は文字列の変化速度が一定である、という仮定を満たす観点からも重要である。なぜなら、遺伝子 a と b が近い関係にあるほど、ホモロジーは高くなり、 $\text{Log}_{10} E$  や  $\text{Log}_{10} E_{best}$  の値は小さくなり、event A と B が発生する期間中はアミノ酸配列が変化する速度が一定である、という条件が満たされる可能性が高まるからである。参考までに、 $1-\text{log}_{10} E/\text{log}_{10} E_{best}$  を用いると間違った系統樹が得られることを確認している。

このようにして計算した生物 A から生物 B への距離と、生物 B から計算した生物 A への距離は少し異なっているため、これらの二つの距離の平均を生物 A と生物 B 間の進化距離とした。また、この手法による進化距離は、ゲノムの全てのタンパク質の期待値 (E-value) の対数から求めているため、ゲノムの情報量を比較したものである。これはデータベースのサイズをかけても最終的な値は殆ど影響されていないためである。この計算は、アミノ酸のスコア行列を利用してアラインメントスコアを計算し、二つのタンパク質の距離スコアを求める過程と類似している。両者の違いはアミノ酸がタンパク質、配列がゲノムへと階層が一つ上がったことである。

この手法の最大の特徴は進化距離の計算にすべてのタンパク質を使っていることである。このことは、この系統樹がゲノムの大部分の情報に基づいているだけでなく、系統樹作成における恣意的な遺伝子情報の選択を排除していることも意味している。また、一般的な系統樹はアラインメントに依存しているが、この手法はそのようなアラインメントを用いていない。その意味ではアラインメントフリーの系統樹と考えられているが<sup>17)</sup>、タンパク質を比較するときに BLAST 計算を行っているため、アラインメント (ローカルアラインメント) に基づくものとも考えることもできる。現在のところ、これに非翻訳領域や rDNA の情報を組み込んでいないので、厳密には全ゲノム配列



から計算したものではない。この手法の有利な点は、生物 A、B、C が共通するオルソログを持たない場合（極論すると 2 種の生物間にオルソログが存在しない場合）も、A-B、B-C、C-A 間の進化距離を計算できることである。これは進化的に離れた生物間でもこの方法が適応できることを意味している。一方、我々の方法では場合によっては殆ど相同性が見られないタンパク質間の比較も行っている。この場合、種間の進化距離を大きくするのに寄与しており、相同性が見られないというペナルティーを計算していることにもなる。

## 2.2. 種系統樹の構築

上記の手法で計算された進化距離をもとに、距離法（BioNJ）によって系統樹を作成した<sup>18)</sup>。まず、コンピュータシミュレーションによってこの手法の評価を行った。*E.coli 536* のすべてのタンパク質のアミノ酸をランダムに 20% 変異させる。これを一世代として *in silico* で 5 世代進化させる。得られた 32 種のゲノムから進化距離を求め、系統樹を作成したところ、*in silico* の進化を正確に再現することができた（図 3）。このことは、我々が定義した  $1-T$  が正確に進化距離を表していることを示している。次に、2011 年までにゲノムの解読が完成した真核生物 31 種、古細菌 62 種、バクテリア 994 種（計 1,087 種）の全てのゲノムを用いて Tree of life を作成した（図 4）。この系統樹では、生物は真核生物、古細菌、バクテリアの 3 つのドメインに分かれた。この樹形は、真核生物が古細菌の中から分岐したとする最近の報告と矛盾している。この点に関しては後で議論するが、それ以外に関しては、現在考えられている系統関係を反映していた。例えばシアノバクテリアの系統関係は 32 遺伝子のコンカテマーで構築したものと完全に一致した<sup>19)</sup>。また、アクウィフェクス門と  $\epsilon$  プロテオバクテリアの関係や  $\gamma$  プロテオバクテリアと  $\beta$  プロテオバクテリアの関係などは最近の新しい主張と一致している<sup>20)</sup>。調べた限りにおいては多くの点で現在の理解と良く一致している。矛盾する点においては、どちらが正しいかは今後検討すべきだろう<sup>21)</sup>。

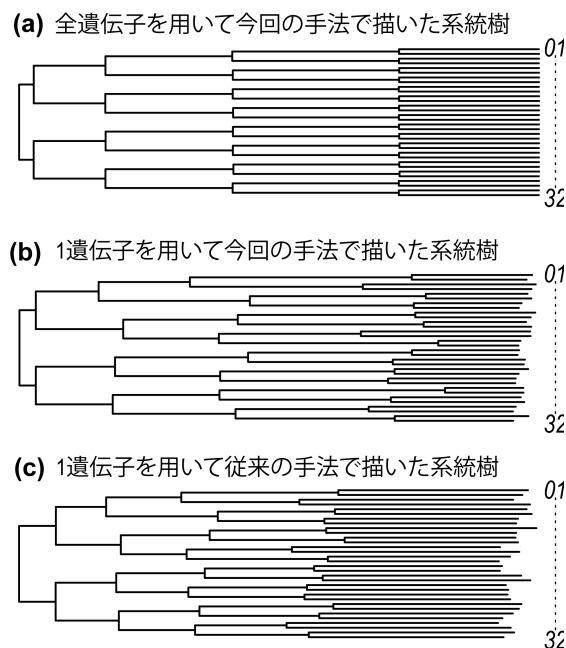


図3. *In silico* 進化の解析

*Escherichia coli 536* のタンパク質のアミノ酸配列を 1 世代当たりランダムに 20% 変異させた。これを 5 回繰り返し 32 種のゲノムを作成した。(a) ゲノムの全てのタンパク質を用い、我々の手法で構築した系統樹、(b) 一つのタンパク質（404A.A.）を用い、我々の手法で構築した系統樹 (c) 従来のアラインメントベースの系統樹

## 2.3. 系統樹の特徴

本系統樹の手法と結果は次のような特徴を持つ。

(1) 多様なゲノムを比較できる 特定の遺伝子で系統樹を構築する場合、**long branch attraction** などの問題が起こるため、正しい系統樹を作成するために、特定の遺伝子を解析から省くことが必要な場合がある。しかし、本手法で系統樹を作成する際には、2011 年までに解読されたすべてのゲノムを対象としており、ゲノム（種）の人為的な選択は行っていない。さらに細菌、古細菌、真核など、系統的に離れた、また遺伝子数が一桁以上違うゲノム間の距離も計算しているが、正確な樹形が再現された。これは、本手法が質やサイズが大きく異なったゲノムに関して堅牢であることを示している。また、全てのタンパク質を使って

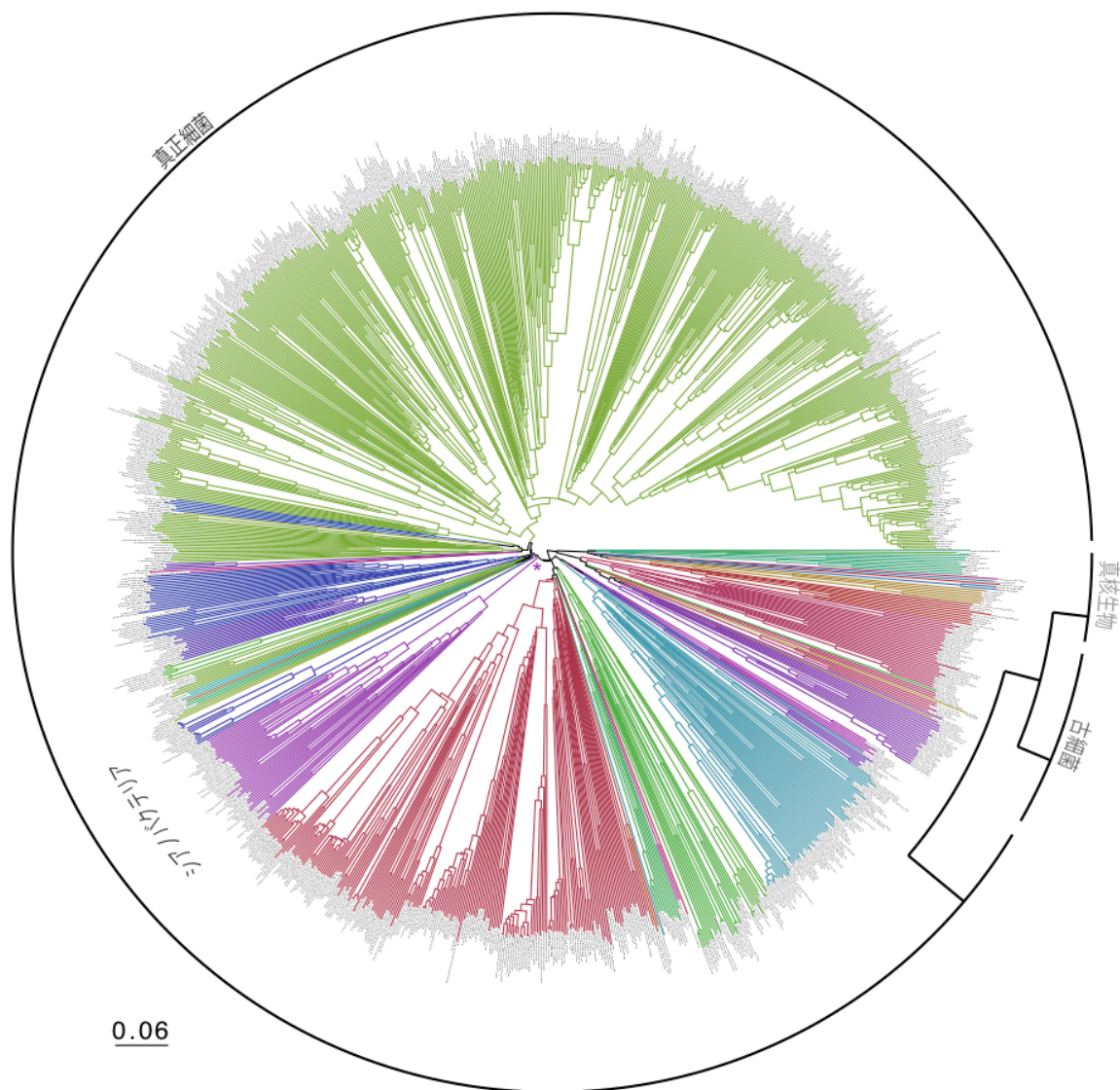


図4. 真核生物31種、古細菌62種、バクテリア994種（計1087種）のTree of life  
\*Cyanobacteria の分岐点。

いるので、ILS の影響を克服することが期待される。

(2) ドメインの関係 本系統樹で最も注意しなければならない点の一つにドメインの関係がある。翻訳関連の遺伝子で描いた系統樹は、真核生物を一つのドメインとして考えるのではなく、真核生物を含む古細菌と真正細菌の二つのドメイン (2-domain hypothesis) を支持している。さらに、古細菌のあるグループ (Asgard group) は真

核生物に特徴的な形質を持っていることもこの説を支持している<sup>5,6,7)</sup>。しかし、我々の系統樹は真正細菌、古細菌、真核生物の3つのドメイン (3-domain hypothesis) を支持している。2-domain hypothesis は現在広く受け入れられてはいるが、我々はドメインの構造に関しては、まだ議論と解析が必要と考えている。我々の系統樹と2-domain hypothesis との矛盾に関しては次のような理由が考えられる。一つは、我々の系統樹が誤りとする

ものである。真核生物は古細菌よりも真正細菌と多くの遺伝子を共有している<sup>22)</sup>。おそらく真核生物の誕生にあたっては真正細菌から多くの遺伝子が水平伝播したのであろう。また、真核生物も進化の過程で多くの独自の遺伝子を獲得した。このような遺伝子構成のため、我々の方法だと、真核生物が独立したドメインとして計算された可能性がある。もう一つは2-domain hypothesis に問題があるとする考えである。Woese 以外にも、いくつかの遺伝子で系統樹を描くと、3つのドメインに分かれることが報告されている<sup>23)</sup>。また、Asgard group は古細菌のグループとは離れ、真核生物とグループを作るとする興味深い考え方も提案されている<sup>24)</sup>。この問題が解決されれば、我々の提案した系統樹の理論的な理解も深まると思われる。また、真核光合成生物の誕生にも有益な情報を与えるであろう。

(3) 枝が同心円状に広がる 単独の遺伝子、もしくはコンカテマーで構築された系統樹において、枝の全長は生物によって大きく異なる。これは、用いた遺伝子の進化速度が生物によって異なることを示している。一方、我々の系統樹では枝の全長は全ての生物でほぼ同じであり、系統樹は円形を示す。これは、進化の時間が正確に表現されていることを示しており、我々の手法では、比較する2つのタンパク質の共通配列が偶然発生するのにかかる時間(確率の対数)と、共通配列以外の残りの配列が偶然発生するのにかかる時間の比から、両者の分岐を求めていたためであると考えられる。しかし、この結果がアーティファクトだとすると、次のような原因があげられる。我々の手法が必然的に同じ枝の長さとして計算されるとするものである。進化距離を求める際、各遺伝子の進化距離を最大1、最小0の範囲で定義しているためか、またはそれ以外にもアルゴリズムの落とし穴があるのかはわからない。たとえば、ある程度以上離れた生物を比べる際、ペナルティーの割合が大きくなるのが同心円を導いてしまうことである。しかし、ゲノムの一部の遺伝子情報のみ使うと枝の長さが同心円状にならない(未発表)ので計算手法から必然的に同心円状になるわけではない。また、単一のタンパク質

の E-value で系統樹を描くと(我々の手法を一つのタンパク質だけで行ったもの)枝の長さは異なった。これらの結果はゲノム全部の情報を使うと枝の長さが同じになることを示唆している。そうだとすると、ゲノム全体の変異速度は生物によってあまり変わらないことを示している。それでは、系統樹の内部にある半径の短い同心円上は進化の同じ時代を示しているのであろうか。これを直接確かめる方法はないが、シミュレーションの結果は参考になる(図3)。我々の手法を用いると、第2世代、第3世代、第4世代とも同じ枝の長さであり、時間を正確に表現している。一方、一般に用いられているアラインメントに依存した系統樹では途中の枝の長さも異なっている。これらのことから、我々の系統樹は、ゲノムが保持している全てのタンパク質から進化距離を求めているため、ある程度正確に年代を表していると期待している。

一方、枝の長さは進化時間と比例関係にあるわけではない。化石の情報を参考にすると、5-10億年くらい前から現在にかけて、単位時間に対する枝の長さが急に長くなる。すなわちゲノムの情報量が急に増加している。計算上の問題とも考えられたが、*in silico*の結果で補正してもこの結果はあまり変わらなかった。この原因として、計算上の問題以外に、次の二つの可能性が考えられる。一つは5~10億年前くらいから多くの変異が蓄積したことであり、酸素濃度などの地球環境の変化に影響されていたのかもしれない。もう一つは、5~10億年よりも以前には遺伝子の水平伝播が極めて活発に行われていた可能性である。我々の手法では、遺伝子の水平伝播はゲノム間の距離を近づけるように働くことが確認されている。しかし、年代ごとの水平伝播の頻度は報告されていないので、この影響は現在のところ評価できない。

(4) 水平伝播に堅牢である ほとんどの系統樹作成法では水平伝播した可能性のある遺伝子を種系統樹の作成には利用しないが、全タンパク質を利用する本手法の場合は必然的に水平伝播したタンパク質の情報も利用することになる。そこで、*in silico*の人工進化において、水平伝播を行わせたところ、驚くことに全遺伝子の40%を水

平伝播させても樹形は変わらなかった<sup>18)</sup>。また、実際の生物のゲノムデータに対して人為的に水平伝播させると、20%の遺伝子を水平伝播させても樹形に大きな影響はなかった<sup>18)</sup>。このように我々の手法は水平伝播に堅牢であることを示している。しかし、水平伝播した遺伝子は、水平伝播後は種の進化と同じ経過を示すので、移動後の系統樹にとってはノイズではなく情報として評価できることに注意が必要である。

(5) オルソログに限らない 我々の系統樹は片方ベストマッチの組み合わせの E-value を利用した。当然、これは相同性のないもの (E-value が高いもの) の組み合わせの場合もある。そこで、双方ベストマッチの組み合わせで進化距離を計算し、系統樹を作成した。この場合、オルソログの組み合わせが多いと思われる。しかし、片方ベストマッチを利用したほうが正しい樹形がえられた<sup>18,25)</sup>。これは少し不思議に感じるが、すでに議論したように、相同性がないという情報も正確な系統樹を作成するために必要なのかもしれない。

(6) 研究者の判断が排除される 一般的に系統樹を作成する場合、何らかの手法でアラインメントを作成する。この場合、解析者の判断で、ある領域を排除したり、アラインメントに修正を加えたりする場合がある。さらに、ある配列 (種) が系統樹を乱す場合もあるので、このような配列を省くこともある。このように、様々な過程で人の判断がはいる、このことが研究者によって違う系統樹を提案する一つの原因でもある。本手法は研究者の判断がすべて排除されている。また、従来の研究においては、アラインメントの不確かさが正しい系統樹の作成の支障となっていたが、これは特に古く分岐した遺伝子に顕著である。本手法はこのようなアラインメントに伴う不確かさを回避している。

以上のように本手法は様々な優れた特徴がある。しかし、注意しなければならないのは、これらの特徴のうち、どこまでが正しく、どこまでがアーティファクトであるかであろう。これは今後解決しなければならない最も重要な点である。

### 3. 光合成の進化

最初に光合成を獲得したのはどのような生物なのかは光合成研究者にとって一度は興味を持つ課題である。この問いに我々の構築した系統樹から答えてみよう。光合成細菌は光化学系 I タイプ、もしくは光化学系 II タイプのどちらかの光化学系しか持たず、光合成を行っても酸素を発生しない。そのため、地球環境の変遷も考慮に入れると、最初に生まれたのが光合成細菌で、次に2つのタイプの光合成細菌から、光化学系 I と光化学系 II を持った酸素発生型光合成生物 (シアノバクテリア) が誕生したと考えられた<sup>26)</sup>。クロロフィル代謝系の遺伝子に基づく系統樹もこの考えを支持している<sup>27)</sup>。この単純なものから複雑なものへのわかりやすい仮説は、広く受け入れられるにいたった。しかし、人の心に簡単に落ちてくる話は注意しなければならない。シアノバクテリアの遺伝子を詳しく解析したところ、シアノバクテリアが最も古く (Procyanobacteria)、ここから光合成関連の遺伝子が水平伝播した結果、光合成細菌が誕生したとの仮説が提案された<sup>28)</sup>。この考えを支持する報告も蓄積されつつあり、次第に有力な考え方になってきた。

それでは我々の系統樹ではどうだったのだろうか？ これまでに説明したように我々の系統樹では、同心円上は進化的に同じ時代であるとのやや強引な仮定を置いて光合成生物の進化を見ていくことにする。系統樹で明らかなようにシアノバクテリアは深くから分岐している。一方、光合成細菌はシアノバクテリアに比べ比較的最近分岐しており、シアノバクテリアの系統が出現したのち、光化学系 I タイプの *Heliobacteria* と *Green sulfur bacteria* が、その後光化学系 II タイプの *Purple bacteria* と *Green filamentous bacteria* が出現する。そして最後に最も古いとされるシアノバクテリア *Gloeobacter* が出現する (図 5)。この系統樹はシアノバクテリアが光合成生物として一番古いことを示唆しており、おそらくシアノバクテリアから水平伝播によって光合成機能が伝播し、光合成細菌が出現したと思われる。これが正しいとすると、クロロフィルの合成がバクテリオクロロフィルよりも古い可能性も許容する。バクテリ

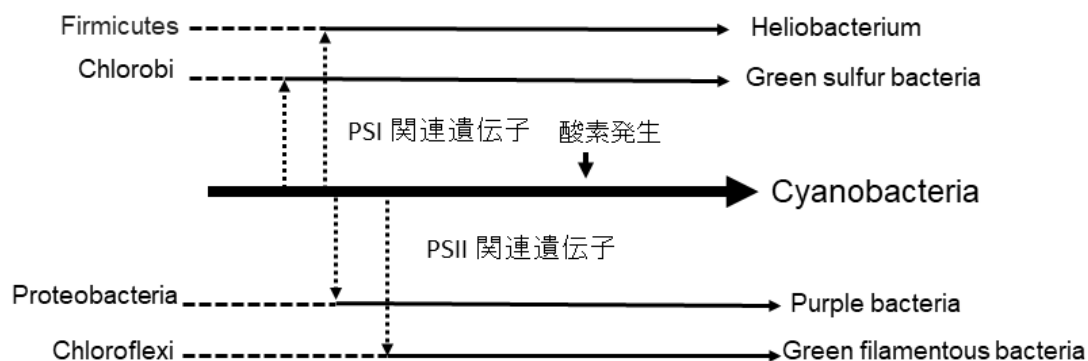


図5. 光合成細菌とシアノバクテリアの進化

図2で示された光合成細菌とシアノバクテリアの出現時期から推定された光合成生物の進化。光合成関連遺伝子が Procyanobacteria から水平伝播し、光合成細菌が誕生したことを示唆している。全ての光合成細菌が Procyanobacteria から直接遺伝子を獲得したのか、一部の光合成細菌は他の光合成細菌を経て獲得したのかは不明。

オクロフィル合成経路はクロフィル合成経路に新たな反応を付加したものだが、もし、クロフィルの合成がバクテリオクロフィルより古ければ、代謝経路の進化モデル Granick hypothesis<sup>29)</sup>とよく一致する。

これらのことを考慮に入れると、シアノバクテリア (Procyanobacteria) は、最初に光化学系 I タイプが出現し、その後光化学系 II タイプの光化学系を獲得したことになる。これは、光化学系 I タイプの光化学系が古いとする考えとよく一致する。シアノバクテリアが古いか、それとも光合成細菌が酸素発生型光合成の起源となったのか、この議論は今後しばらく続くであろう。この問いに答えるためには、Melaninabacteria<sup>30)</sup>の系統的な解析や正確な進化時間を再現する手法の開発が課題である。

#### 4. 今後の課題

我々が提案した手法は、かなり正確な系統樹の作成を可能にしている。一方、E-value の計算上の問題点も明らかになってきた。この点を改良すればより正しい系統樹の構築が期待される。また、ここで示した系統樹の作成には 2 年ほどの計算時間を必要としており、計算時間の短縮も重要である。さらに、この手法はゲノムの情報量を比較

していると考えているが、理論的な検討はまだ不足している。理論的な検討を進める上で、この手法によって作られた系統樹を何に基づいて評価すれば良いのかという課題も残されている。従来の分子系統解析法と異なる本手法の妥当性を、従来法と比較して検証するのは、一見矛盾するようだが、現在、最も信頼できる分類体系は従来の分子系統推定法によって作られたものである。この点については、コンピューターシミュレーションによる検証を含め、今後、妥当性の有効な評価方法を新たに模索すべきだろう。このような課題を解決し、理論的な解明が進めば、この手法のさらなる改良が可能になると思われる。

2種のゲノムを比較する場合、最もよく使われている手法はコンカテマーのアラインメントであり、ほとんどの系統樹はこれをもとに構築されている。しかし、残念なことに、アラインメントはゲノムのごく一部を表現したに過ぎない。アラインメント以外のゲノムの比較方法として、ゲノムが持っている遺伝子を分類しそれらを比較し、オルソログなどの存在を調べるのも有益な手段である。しかしこの手法はゲノム全体を定量的に比較したことにはならない。一方、我々の開発した E-value プロット図は全タンパク質を比較したもので、二つのゲノムを比較するのに有効な手法

であり、様々な応用・発展が期待される。本研究で示したように、全プロットの近似直線の傾きを求めることによって二つのゲノムの進化距離を計算することができる。形質の距離とゲノム配列の距離は必ずしも一致しないが、E-value プロット図が各分類群でどのような特徴を持つかを調べれば、分類群を予測できるかも知れない。一方、X 軸の近傍にある遺伝子は、類似タンパク質が相手のゲノムにはないことを示しており、種特異的な遺伝子である。この手法を進展させ、3つのゲノムの E-value プロット図を用いると、生物の形質の特徴と組み合わせることで形質に関連する遺伝子を同定することができる<sup>31)</sup>。図6は、クロロフィル *b* を持つ2種の *Prochlorococcus* とクロロフィル *b* を持たない *Synechococcus* を比較し、クロロフィル *b* 合成酵素を同定したものである。このように、E-value プロット図は単に進化距離を求めるだけでなく、様々な目的に広く利用される可能性がある。

それではどのような手法で、E-value プロット図を利用すればよいのだろうか。E-value プロット図の利用に関して、我々は全プロットを平均化したり、特定のプロットに注目したりしてきた。しかし、プロットをパターンとして捉えることも重要と思われる。この場合、深層学習が有効であろう。進化距離をより正確に測定でき、また分類群との関係がよりよく理解できる可能性がある。今後このような課題に取り組んでいきたい。

Received Oct 27, 2019; Accepted Nov 26, 2019; Published Dec 31, 2019.

参考文献

1. 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.
2. Cohen, O., Doron, S., Wurtzel, O., Dar, D., Edelheit, S., Karunker, I., Mick, E. and Sorek, R. (2016) Comparative transcriptomics across the prokaryotic tree of life. *Nucleic Acids Res.* 44, W46-W53.
3. Hug, L.A., Baker B.J., Anantharaman, K., Brown, C.T., Probst, A.J., Castelle, C.J., Butterfield, C.N.,

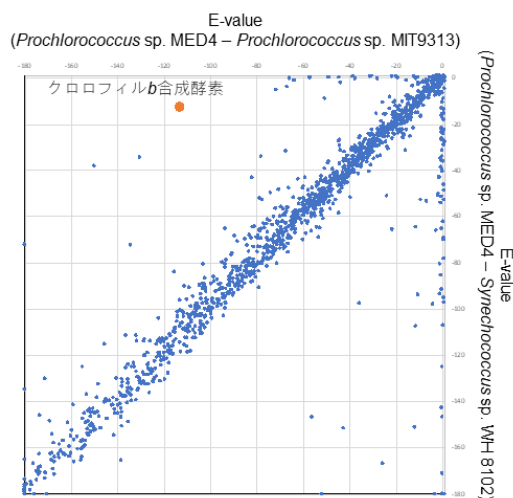


図6. 3つのゲノムのE-value プロットによる *Prochlorococcus* 特異的遺伝子の推定

図中の各点は、*Prochlorococcus* sp. MED4 の遺伝子を示し、各点の X、Y 座標はそれぞれ *Prochlorococcus* sp. MIT9313、*Synechococcus* sp. WH 8102 のベストマッチ遺伝子間の E-value を表す。また、クロロフィル *b* 合成遺伝子の位置を図中に示した。グラフの対角線上には、3つのゲノムに共通の遺伝子が含まれており、*Prochlorococcus* 特異的遺伝子はグラフの左上部分に位置している。Satoh and Tanaka (2006) より描き直す<sup>31)</sup>。

4. HERNSDORF, A.W., AMANO, Y., ISE, K., SUZUKI, Y., DUDEK, N., RELMAN, D.A., FINSTAD, K.M., AMUNDSON, R., THOMAS, B.C. and BANFIELD, J.F. (2016) A new view of the tree of life. *Nat. Microbiol.* 1, 16048
5. CICCARELLI, F.D., DOERKS, T., VON MERING, C., CREEVEY, C.J., SNEI, B., BORK, P. (2006) Toward automatic reconstruction of a highly resolved tree of life. *Science* 311, 1283-7
6. SPANG, A., SAW, J.H., JØRGENSEN, S.L., ZAREMBA-NIEDZWIEDZKA, K., MARTIJN, J., LIND, A.E., VAN EIJK, R., SCHLEPER, C., GUY, L., and ETTEMA, T.J.G. (2015) Complex archaea that bridge the gap between prokaryotes and eukaryotes. *Nature* 521, 173-179.
7. ZAREMBA-NIEDZWIEDZKA, K., CACERES, E.F., SAW, J.H., BÄCKSTRÖM, D., JUZOKAITE, L., VANCAESTER, E., SEITZ, K.W., ANANTHARAMAN, K., STARNAWSKI, P., KJELSDEN, K.U., STOTT, M.B., NUNOURA, T., BANFIELD, J.F., SCHRAMM, A., BAKER, B.J., SPANG, A., ETTEMA,

- T.J.G. (2017) Asgard archaea illuminate the origin of eukaryotic cellular complexity. *Nature* 541, 353–358.
7. Eme, L., Spang, A., Lombard, J., Stairs, C.W. and Ettema, T.J.G. (2017) Archaea and the origin of eukaryotes. *Nat. Rev. Microbiol.* 15, 711–723.
  8. Mendes, F.K. and Hahn, M.W. (2018) Why concatenation fails near the anomaly zone. *Syst. Biol.* 67, 158–169.
  9. Liu, L. and Edwards, S.V. (2009) Phylogenetic analysis in the anomaly zone. *Syst. Biol.* 58, 452–460.
  10. Matsui, M. and Iwasaki, W. (2019) Graph splitting: A graph-based approach for superfamily-scale phylogenetic tree reconstruction. *Syst. Biol.* In press
  11. Suvorov, A., Hochuli, J. and Schrider, D.R. (2019) Accurate inference of tree topologies from multiple sequence alignments using deep learning. *Syst. Biol.* In press
  12. Snel, B., Huynen, M.A. and Dutilh, B.E. (2005) Genome trees and the nature of genome evolution. *Annu. Rev. Microbiol.* 59, 191–209.
  13. Katoh, K. and Standley, D.M. (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.* 30, 772–80.
  14. Jarvis, E.D., Mirarab, S., Aberer, A.J., Li, B., Houde, P. *et al.* (2014) Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds. *Science* 346, 1320–31.
  15. Dagan, T., Artzy-Randrup, Y. and Martin, W. (2008) Modular networks and cumulative impact of lateral transfer in prokaryote genome evolution. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 105, 10039–10044.
  16. Treangen, T.J. and Rocha, E.P. (2011) Horizontal transfer, not duplication, drives the expansion of protein families in prokaryotes. *PLoS Genet.* 7, e1001284.
  17. Palmer, M., Venter, S.N., McTaggart, A.R., Coetzee, M.P.A., Van Wyk, S., Avontuur, J.R., Beukes, C.W., Fourie, G., Santana, Q.C., Van Der Nest, M.A., Blom, J., Steenkamp, E.T. (2019) The synergistic effect of concatenation in phylogenomics: the case in *Pantoea*. *PeerJ* 7, e6698.
  18. Yokono, M., Satoh, S. and Tanaka, A. (2018) Comparative analyses of whole-genome protein sequences from multiple organisms. *Sci. Rep.* 8, 6800.
  19. Howard-Azzeh, M., Shamseer, L., Schellhorn, H.E. and Gupta, R.S. (2014) Phylogenetic analysis and molecular signatures defining a monophyletic clade of heterocystous cyanobacteria and identifying its closest relatives. *Photosyn. Res.* 122, 171–185.
  20. Eveleigh, R.J., Meehan, C.J., Archibald, J.M. and Beiko, R.G. (2013) Being *Aquifex aeolicus*: Untangling a hyperthermophile’s checkered past. *Genome Biol. Evol.* 5, 2478–2497.
  21. Saitou, N. (2018) Prokaryote genomes, in *Introduction to evolutionary genomics* (Saitou, N., ed.) pp 175–191, Springer, Berlin, Germany
  22. Nasir, A., Kim, K.M., Da Cunha, V. and Caetano-Anollés, G. (2016) Arguments reinforcing the three-domain view of diversified cellular life. *Archaea*, 2016, 1851865.
  23. Da Cunha, V., Gaia, M., Gabelle, D., Nasir, A. and Forterre, P. (2017) Lokiarchaea are close relatives of Euryarchaeota, not bridging the gap between prokaryotes and eukaryotes. *PLoS Genet.* 13, e1006810.
  24. Fournier, G.P., Poole, A.M. (2018) A briefly argued case that Asgard archaea are part of the eukaryote tree. *Front. Microbiol.* 9, 1896.
  25. Satoh, S., Mimuro, M. and Tanaka, A. (2013) Construction of a phylogenetic tree of photosynthetic prokaryotes based on average similarities of whole genome sequences *PLoS One* 8, e70290.
  26. Blankenship, R.E. (1992) Origin and early evolution of photosynthesis. *Photosyn. Res.*, 33, 91–111.
  27. Xiong, J., Fischer, W.M., Inoue, K., Nakahara, M. and Bauer, C.E. (2000) Molecular evidence for the early evolution of photosynthesis. *Science* 289, 172430.
  28. Mulikidjanian, A.Y., Koonin, E.V., Makarova, K.S., Mekhedov, S.L., Sorokin, A., Wolf, Y.I., Dufresne, A., Partensky, F., Burd, H., Kaznadzey, D., Haselkorn, R., Galperin, M.Y.. (2006) The cyanobacterial genome core and the origin of photosynthesis. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 103, 13126–13131.
  29. Granick S. (1965) Evolution of heme and chlorophyll, in *Evolving genes and proteins*

- (Bryson, G. and Vogel, H.J., eds.) pp 67–88, Academic Press, New York, U.S.A.
30. Magnabosco, C., Moore, K.R., Wolfe, J.M., Fournier, G.P. (2018) Dating phototrophic microbial lineages with reticulate gene histories. *Geobiology* 16, 179–189.
31. Satoh, S. and Tanaka, A. (2006) Identification of chlorophyllide *a* oxygenase in the *Prochlorococcus* genome by a comparative genomic approach. *Plant Cell Physiol.* 47, 1622–1629.

## Construction of the tree of life and the evolution of oxygen evolving photosynthesis

Ayumi Tanaka<sup>1</sup>, Souichirou Satoh<sup>2</sup>, Makio Yokono<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University

<sup>2</sup>Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University

<sup>3</sup>Nippon Flour Mills Co., Ltd., Innovation Center



## 解説

シアノバクテリアの物質生産の現状と展望<sup>†</sup>

東京大学・大学院総合文化研究科  
早稲田大学・教育・総合科学学術院  
池内 昌彦\*

光合成による物質生産はカーボンニュートラルで、地球温暖化や資源の枯渇などの危機的状況では有望な対策の一つである。シアノバクテリアは酸素発生型光合成を行う原核生物で、増殖が速く、遺伝子改変が容易で、しかも細胞内区画が単純で、物質生産のプラットフォームとしても最適である。そのためエンジニアリングをベースとした物質生産はシアノバクテリアでよく研究されており、実にさまざまな物質が合成され、代謝経路や合成生物学的アプローチも詳しく研究されている。その一方で、光合成の従来の研究との整合はまだ十分ではなく、さまざまな課題が残っているといわざるを得ない。本稿では、これらの観点から、シアノバクテリアの光合成による物質生産のエンジニアリングに注目して、その現状を紹介するとともに、今後の課題について議論する。

## 1. 歴史

シアノバクテリアでの遺伝子の改変が可能になった 1980 年代中頃より、遺伝子破壊による光合成機能の基礎研究の傍ら、外来遺伝子のヘテロ発現も散発的に研究されてきた。このような研究が広く認知され爆発的に広がったのは、1996 年のシアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 (以下、Syn6803) のゲノムの決定が契機であった。それに続くトランスクリプトーム解析やプロテオーム解析などに続いて、ツールの開発や代謝フラックスの解析などが物質生産の研究の後押しをした。さらにこれらの研究が融合して、それなりに大量の物質生産が実現されたのは 2010 年代ころからである。これらの幅広い研究によって、生産性の高い株を使用し、シアノバクテリアの代謝系に即した発現系を構築し、基質供給や生成物の排出などを組合せ、さまざまな物質の生産を増強することが可能になってきた<sup>1,2,3)</sup> (表 1)。しかし、その生産レベルはまだ実用化にはほど遠く、多くの課題が残っていることも明らかになって

きた。シアノバクテリアは酸素発生型光合成生物としてはもっともエンジニアリングと評価がしやすいので、この次のブレイクスルーに到達するのもやはりシアノバクテリアであろうと期待される。

## 2. 光合成増殖と生産

細胞分化をほとんど示さない微細藻類において、バイオマス生産は光合成増殖と同等といえる。微細藻類の稠密な培養液の光の吸収率は実質 100% となり、当然ではあるが、照射光あたりの生産効率も陸上植物よりはるかに高い。もちろん、光の吸収率イコール利用率ではなく、照射面付近では強光障害を引き起こし、反対側では極端な弱光となる。その解消のためには、液全体を十分に攪拌しなければならないが、これにはエネルギー投入が必要になる。別の解決法としては、光吸収のアンテナをダウンサイズする株が提案されている。理論的には、これは光の有効利用につながるが、フィコビリソームやクロロフィル結合アン

<sup>†</sup> 第 10 回日本光合成学会シンポジウム

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

表1. シアノバクテリアと葉緑体の類似性

シアノバクテリア株	倍加時間	特徴	文献
<i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	6.6 h (30°C 300 μmol/m <sup>2</sup> /s 3% CO <sub>2</sub> )	モデル株、通性光独立栄養、自然形質転換能	Yu et al. 2015 <sup>7)</sup>
<i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942	4.9 h (38°C 300 μmol/m <sup>2</sup> /s 3% CO <sub>2</sub> )	モデル株、絶対光独立栄養、自然形質転換能	Yu et al. 2015 <sup>7)</sup>
<i>Synechococcus</i> sp. UTEX 2973	2.1 h (41°C 500 μmol/m <sup>2</sup> /s 3% CO <sub>2</sub> )	高速増殖、絶対光独立栄養、接合による形質転換、Syc7942に近縁	Yu et al. 2015 <sup>7)</sup>
<i>Synechococcus</i> sp. PCC 11801	2.3 h (41°C 1000 μmol/m <sup>2</sup> /s air)	高速増殖、絶対光独立栄養、自然形質転換能、Syc7942に近縁	Jaiswal et al. 2018 <sup>8)</sup>
<i>Synechococcus</i> sp. PCC 7002	4.1 h (38°C 500 μmol/m <sup>2</sup> /s 3% CO <sub>2</sub> )	モデル株、通性光独立栄養、自然形質転換能	Wlodarczyk et al. 2019 <sup>9)</sup>
<i>Synechococcus</i> sp. PCC 11901	2.14 h (38°C 600 μmol/m <sup>2</sup> /s 1% CO <sub>2</sub> )	高速増殖、通性光独立栄養、自然形質転換能、Syc7002に近縁	Wlodarczyk et al. 2019 <sup>9)</sup>
<i>Arthrospira platensis</i> BL0909	24 h (outdoor pond)	戸外培養	Taton et al. 2012 <sup>10)</sup>
<i>Leptolyngbya</i> sp. BL0902	23 h (outdoor pond)	戸外培養、接合による形質転換可	Taton et al. 2012 <sup>10)</sup>
<i>Thermosynechococcus elongatus</i> BP-1	4 h (55°C 5000lux 5% CO <sub>2</sub> )	モデル株、自然形質転換、戸外培養可	Yamaoka et al. 1978 <sup>11)</sup>

テナは複合体を形成しているため、増殖に不利にならないように変異株を選ぶ必要があるかもしれない。一種の強光応答が固定されたような株であれば、アンテナサイズを減らして光ストレスを回避しながら、培養液全体に光がゆきわたることが可能と思われるが、今後の研究を待ちたい。

一般に、微細藻類の増殖(バイオマス生産)は、“スピルリナ”( *Arthrospira* 属)のように藻体をそのまま食品などとして利用する場合は別として、特定物質の生産においては培養コストがかさむ一因となる。培養コストの削減のためには、物質生産モードのときは細胞は増殖しない方がよいことになる。つまり、高速増殖のための光合成と代謝経路を特定物質の生産だけに振り向けることが望ましく、そうすると必然的に細胞は増殖を停止もしくは大幅に低下することになる <sup>4,5)</sup>。つまり、従属栄養の細菌を発酵工学においてバイオリアクターとして利用することに似ているが、光合成生産では光が均一に供給されることが重要なちがいである。なお、物質生産を増強する

と、増殖に必要な代謝物が不足して増殖抑制にはたらくことも考えられるが、積極的に増殖を抑制すれば代わりに生産が増強されるかは自明ではない。光合成は細胞内代謝ネットワークのほぼすべてを光エネルギーで駆動しているため、強制的にその一部をとめることがエネルギーの節約になるか、バランスを崩して生産に負に作用するかは、個別に評価するべきである。発酵工学では細胞内代謝経路の一部を借りることが多いが、光合成による生産ではシステム全体のバランスが重要といえる。

シアノバクテリアの物質生産においても、植物の葉の葉緑体の生産系がもっとも理想的ともいえる。成熟葉では葉緑体は分裂することはなく、ひたすら光合成による炭酸固定と付随する代謝反応にいそしんでいる。このような葉の光合成活性を規定しているのは、光合成産物を利用するシンクの作用であり、切り離された葉が老化しやすいのはシンクの作用がなくなったため(シンク律速)である。シアノバクテリアの物質生産で我々

が真に実現したいのは、このような物質生産をシンクとして、光合成活性をむしろ増強しようとするポジティブフィードバックがかかる細胞をエンジニアリングで構築することである<sup>4,5)</sup>。

とはいえ、特定の物質を生産する本稿の目的においても、光合成増殖速度は重要である。つまり、増殖速度の遅い株では光合成の最大活性や代謝フラックスの許容量は低く保たれていることが多く、単に律速段階を増強するだけでは大きな増強は見込めない。後述する高速増殖する株は、特定の物質生産においても優れた結果を出しているが、これまであまり注目されてこなかった遺伝子ソースとしての利用価値も検討に値すると思われる。

### 3. 株の選定

シアノバクテリアの培養株の選定は重要である。表1は、物質生産に使用される代表的な株を示す。これらの株は窒素固定をしないため、その光合成増殖（生産）は大同小異と考えられるが、代謝物フローやストレス耐性などさまざまな特徴は株ごとに異なっている可能性がある。モデル生物とその派生株、カスタムに選抜した株があるが、それぞれに得失がある。Syn6803株に代表されるモデル株はこれまでの膨大な情報の蓄積があり、すでに整備されたツールやコンストラクト、変異体を活用することができ、多重改変した生産株を効率よく構築することが出来る<sup>6)</sup>。また、モデル株でも塩耐性が比較的強い Syn6803 や *Synechococcus* sp. PCC 7002 (Syc7002) 株は海水もしくはその派生培地で大量培養が可能である。一方、モデル株の派生株のうち、光合成生産（光合成増殖）にすぐれたものはモデル株の資産を活用しつつ、生産力を向上させるプラットフォームとして注目されている。また、近年優れた新株が単離されると、そのゲノムや遺伝子発現などの解析がなされ、データがすみやかに利用可能になることが多い。また、近縁株の比較によって生産性の違いの原因を特定することも可能になる。

たとえば、*Synechococcus elongatus* PCC 7942 (Syc7942)と近縁な *Synechococcus elongatus* UTEX 2973 (SycUTEX2973) は高速増殖を目印に UTEX

株から再単離された株で、比較的高温 (41°C)、強光 (500  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )、3% CO<sub>2</sub> 条件で倍加時間約 2 h で増殖する<sup>7)</sup>。この SycUTEX2973 株のゲノム配列は Syc7942 と非常に近縁である (両者間でわずか 55 箇所の変異があるのみ)。これはわずかの遺伝的変異で、光合成増殖の効率、つまりバイオマス生産速度が大きく変動しうることを示している<sup>7)</sup>。これよりもさらに高速増殖 (とくに低 CO<sub>2</sub> 条件) で、しかも自然形質転換が可能な株 *Synechococcus elongatus* PCC 11801 も報告されている<sup>8)</sup>。今後は、これらの高速増殖株が単なる生産量のレベルアップに使われるだけでなく、基礎技術の開発研究にももっと使われていくようになると思われる。海洋性では、Syc7002 の光合成増殖は倍加時間約 4 h と非常に速いが、その近縁株 (*Synechococcus* sp. PCC 11901) はもっと高速増殖 (倍加時間約 2 h) といわれている<sup>9)</sup>。また戸外で培養できる *Arthrospira platensis* は食用や色素生産などに実用化されているが、形質転換が容易でない。そのため、類似の戸外培養が可能でしかも形質転換できる株として *Leptolyngbya* sp. BL0902 も報告されている<sup>10)</sup>。好熱性シアノバクテリアとして広く使われている *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 も形質転換でき、戸外培養が可能である<sup>11)</sup>。

表には窒素固定型は示していないが、糸状性の *Anabaena* sp. PCC 7120 (以下 Ana7120) は窒素固定とヘテロシスト形成などを中心によく研究されているモデル株であり、その近縁株も含めて水素生産の優れたプラットフォームである<sup>12)</sup>。ヘテロシスト細胞は厚い細胞壁と呼吸系の発達、光化学系 II 選択的失活によって、細胞内を嫌気に保つことができる。このような特徴を利用する物質生産も報告されている<sup>13)</sup>。

### 4. 物質生産の例

シアノバクテリアでの物質生産はこの 10 年ほどでそれなりのレベルに到達している (表 2)。今後の課題は、シアノバクテリア固有の一般的な対策の開発である。たとえば、光合成の活性増強、代謝経路の最適化、競合経路の排除、生産物の毒

表2. シアノバクテリアの光合成による物質生産の例

物質	株	生産量	文献
エタノール	Syn6803	5.5 g/L	Gao et al. 2012 <sup>15)</sup>
2,3 ブタンジオール	Syc7942	2.38 g/L	Oliver et al. 2013 <sup>29)</sup>
	Syc7942	12.6 g/L*	Kanno et al. 2017 <sup>30)</sup>
ソルビトール	Syn6803	2.39 g/L	Chin et al. 2019 <sup>24)</sup>
スクロース	Syc7942	2.6 g/L	Ducat et al. 2012 <sup>18)</sup>
	SycUTEX2973	3.3 g/L	Song et al. 2016 <sup>40)</sup>

\*光混合栄養条件

性の回避などがある。以下に代表的な例をいくつか挙げて、改善と今後の課題を述べる。

エタノールやブタノールなどの低分子アルコール、アルデヒドはおもにピルビン酸などの中央代謝経路から供給される。エタノール生産を例にとると、外来の耐熱性エタノール生産細菌 (*Zymomonas mobilis*)由来のピルビン酸デカルボキシラーゼとアルコール脱水素酵素 (ADH) を導入することで実現された<sup>14)</sup>。一般にシアノバクテリアの内在酵素より高活性の外来酵素の発現のほうが物質生産に適していることが多い。ところが、ADH の場合は、Syn6803 内在の Slr1393/ADH の発現増強によってエタノール生産は約 10 倍上昇した。酵素の特性を調べると、ADH 活性自体は *Zymomonas* の酵素のほうが約 100 倍も高いが、基質特異性が NADH 要求型であるのに対し、内在酵素は NADPH 要求型であるためと考えられる<sup>15)</sup>。還元力は物質生産一般の重要な基質であるが、NADH 供給が優占する大腸菌などの多くの細菌とちがって、シアノでは葉緑体と同様に NADPH 濃度が高いことがわかっている<sup>16)</sup>。この NADPH はシアノバクテリアの多くの代謝経路でも消費される。この競合経路をフラックス解析によって推定し、シアノバクテリアの光合成の環状電子伝達に関与する NdhF を破壊することで、エタノール生産の増強に成功した例もある<sup>17)</sup>。なお、シアノバクテリア固有の NADPH やフェレドキシンを介した還元力供給の実態と改変の研究はまだ不十分で、さまざまなアプローチで評価する必要がある。一方、外来酵素の安定性も問題と

なることがある。*Zymomonas* は通性嫌気発酵によるエタノール生産を利用しているため、一部の酵素は酸素感受性といわれている。一方、窒素固定型糸状性シアノバクテリア Ana7120 のヘテロシスト細胞は酸素感受性のニトロゲナーゼを安定に発現できるように、藻体が光合成をしているときもヘテロシスト細胞内を嫌気に保つしくみをもっている。これを利用して、ヘテロシスト固有のプロモータで *Zymomonas* の酵素を発現させることで、エタノール生産性が増強されている<sup>13)</sup>。

シアノバクテリアの光合成の初期主要産物は糖であるが、糖の生産工学を詳しく検討した例はあまりない。その中で、Ducat らは塩ストレスに応答した適合溶質としての糖 (スクロース) 生産を報告している<sup>18,19)</sup>。たとえば、Syc7942 に大腸菌のスクロース輸送体 CscB を導入し、150 mM 程度の NaCl ストレスで、致死的ではないがスクロース合成の誘導と組み合わせると、CscB による排出のおかげで、細胞内にはスクロースはあまり蓄積せず、他の競合経路の破壊などと組み合わせることで最大 36mg sucrose L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> の生産を 3 日間持続できる (計 2.59g/L に相当)。CscB はスクロースとプロトンの共輸送体なので、増殖で培地を酸性化する多くの細菌では取込みにはたらく、重炭酸イオンを取込み増殖するシアノバクテリアでは培地をアルカリ性に傾かせるので、排出に向いている。この生産は NaCl によって誘導される細胞本来の生理的応答であるため、光合成の阻害は見られず、むしろ光化学系 II の量子収率が増加した。つまり、スクロースの排出は光合成のシ

ンクとして有効にはたらくことが示された<sup>5)</sup>。多くの物質生産では、生産された物質によるフィードバック阻害によって光合成活性が低下すること（シンク律速）が知られている。今後、光合成活性の増強を目指すためには、このようなシンク律速のかからない生産系を構築する必要がある。

糖アルコールは炭酸固定経路の産物である糖を還元してつくられるので、糖生産のバリエーションともいえる。これまでマニトール、エリスリトール、ソルビトールなどの生産が報告されている<sup>20,21,22)</sup>。これらは糖リン酸の還元酵素とホスファターゼの組合せでつくられる。還元力の供給としての NADH 依存型酵素ではソルビトール生産はみられず、NADPH 依存酵素で生産されることは、エタノール同様にシアノバクテリアの細胞内の NADPH の優占を示している。ソルビトール生産におよぼす還元力供給の増強法として、酸化ペントースリン酸回路の酵素の増強や環状電子伝達成分の破壊、光化学系 I の電子受容側の酸化経路の破壊などいくつか試みたが、増産効果は見られなかった。一方、エネルギー依存型トランスヒドロゲナーゼの遺伝子を増強したところ、増産効果はあったが、細胞内 NADPH 量の明確な増強は見られなかった。そもそも光合成状態で NADPH 量が優占しているので、これをさらに増強することは容易でないと思われるが、評価系を整備して還元力供給をさらに詳しく検討しなければならない。ソルビトール生産では、カルビン回路の律速酵素フルクトース 1,6 ビスホスファターゼの増強でも増産効果がみられており、糖生産の増強につながったかもしれない。糖アルコール生産に必要な糖アルコールリン酸ホスファターゼは同定されていないことが多い。我々が採用したリンゴのソルビトール生産の場合も、そのホスファターゼ活性は確認されているが、その酵素は同定されておらず、もちろん遺伝子も不明である。我々は未知のソルビトールリン酸ホスファターゼを、細胞内で発現する特異性の広い一群のホスファターゼから見いだし<sup>23)</sup>、これをシアノバクテリアに発現することでソルビトール生産の増強に成功した<sup>24)</sup>。おもしろいことに、この特異性の広いホスファターゼだけを発現すると、光合

成増殖は明らかに抑制されたが、ソルビトールリン酸還元酵素を共発現するとその抑制が解除された。これは特異性の低い酵素であっても、基質供給など連動する反応と組み合わせることで、前者の欠点を補えることを示しており、興味深い。後でも述べるように、合成生物学の進展によって、新しい酵素や代謝経路が次々と開発される時代では、このような組合せで欠点を補えるという事例は参考になると期待される。

脂肪酸、アルカンなどの長鎖炭化水素をもつ物質の生産においては、アシル-アシルキャリアタンパク質 (ACP) などを出発物質とする。たとえば、脂肪酸生産においては、アシル-ACP 合成酵素を破壊して脂肪酸の再利用を止めることと、大腸菌などのチオエステラーゼの導入によるアシル-ACP の加水分解によって実現される。また、脂肪酸は細胞内に蓄積するので、細胞外への排出も重要なステップである<sup>25)</sup>。一方、Schirmer らはシアノバクテリアが本来もつ炭化水素合成能に着目した<sup>26)</sup>。多くのシアノバクテリアのもつアルデヒドレダクターゼとアルデヒド脱ホルミル化オキシゲナーゼを用いて上述のアシル-ACP を脂肪酸アルデヒドに還元し、これを脱ホルミル化することで C15 および C17 のアルカン、アルケン類を生産する。これらの生産系を強化することで、光合成による長鎖炭化水素の生産が実現されている<sup>26)</sup>。しかし、これらの酵素の発現も活性は十分ではなく生産を律速している。そのため、活性の高い酵素の探索やエンジニアリングによる活性増強に注力されている<sup>27)</sup>。上記の 2 つの酵素は長鎖の疎水性基質をやりとりするため、酵素間で特別な受け渡し（チャネリング）をする可能性がある。今後は両者の組合せの最適化も検討する必要がある。

なお、トリグリセリドの生産量では、緑藻などの真核藻による生産がよく研究されている。多くの場合、増殖段階に応じて光合成増殖からトリグリセリド蓄積に変換され、特定の脂肪顆粒として蓄積される。このような現象は真核細胞に固有で、シアノバクテリアではこのようなしくみは知られていない。しかし、脂質顆粒に蓄積するタンパク質のホモログがシアノバクテリアにも存在す

ることがわかってきている<sup>28)</sup>。このようなタンパク質の改変で脂質顆粒の形成を操作することができれば、シアノバクテリアにおける油脂物質の生産制御の展望も開けてくるかもしれない。

なお、表2には、2,3-ブタンジオールの生産として、光合成によるもの(2.38 g/L)と光混合栄養条件によるもの(12.6 g/L)も示す<sup>29,30)</sup>。戸外培養や自然光を利用する場合は、光混合栄養での生産も重要であり、ここでは絶対光独立栄養のSyc7942に糖輸送体を導入して実現されている。しかし、本稿ではあくまでも光合成生産の観点から考えたい。その意味では、表2に示す生産量はグラムオーダーで、光混合栄養条件や大腸菌などの従属栄養での生産に近づけるためには、さらに光合成の増強(後述)などさまざまな改良が今後必要であろう。

## 5. 光合成代謝のフラックス解析

主要な代謝経路であるカルビン回路(カルビンベンソン回路)や酸化的ペントースリン酸経路、解糖系、クエン酸回路などの代謝物の流れは<sup>13</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>や<sup>13</sup>C-グルコースを用いてさまざまな培養条件で解析されている。初期の解析は<sup>13</sup>C-グルコース代謝をSyn6803暗所と明所で比較し、前者で酸化的ペントースリン酸経路が主要な経路であること、後者ではルビスコによるCO<sub>2</sub>固定が大きく、またリンゴ酸酵素などの経路が大きいことを見だしている<sup>31)</sup>。その後、光独立栄養や光従属栄養などでのフラックス解析も多くされている<sup>32,33,34)</sup>。光従属栄養ではグルコースはおもに酸化的ペントースリン酸経路を介してNADPH生産に使われ、産物のペントースリン酸は再びグルコース6リン酸に戻されている。また、グリセルアルデヒドリン酸脱水素酵素は解糖系のもの(GAP1)と光合成のもの(GAP2)があるが、フラックス解析によれば前者が光従属栄養ではたらし、後者は光混合栄養や光独立栄養ではたらいている。また、リンゴ酸酵素はピルビン酸供給の主要酵素であり、クエン酸回路を逆に回してリンゴ酸脱水素酵素でNADHを消費し、リンゴ酸酵素でNADPHに変換していると思われる。このようなシアノバクテリア固有の代謝経路は物質生

産の要となるピルビン酸の供給に深く関わっている。今後はこれらのシアノバクテリア固有の経路が改変の対象となるかもしれないが、手取り早い生産系の構築では考慮しておく必要がある。なお、上記の酸化的ペントースリン酸経路やリンゴ酸酵素だけでなく、クエン酸回路のイソクエン酸脱水素酵素もNADP<sup>+</sup>特異的であり、細胞内の還元力供給が限りなくNADPHに集約されていることも特筆に値する。

シアノバクテリアのクエン酸回路では、2-オキソグルタル酸脱水素酵素が欠けていることはよく知られている。近年、このステップに、別の酵素セット(2-オキソグルタル酸デカルボキシラーゼとコハク酸セミアルデヒド脱水素酵素)やγ-アミノ酪酸を介する経路の存在も指摘されている<sup>35,36)</sup>。しかし、上記のフラックス解析によれば、2-オキソグルタル酸→コハク酸の間のフローは非常に小さく、2-オキソグルタル酸はおもにグルタミン酸の供給源となっている<sup>32,34)</sup>。このようにフラックス解析と他の解析を組み合わせることで、より深いシステムの構築が可能になると期待される。

## 6. 光合成活性の増強

エンジニアリングによる光合成の増強は物質生産の要であるが、光合成遺伝子の単純な増強では簡単には実現できない。呼吸の場合は、呼吸基質や酸素はおおむね十分にあって、呼吸活性はエネルギーの需要によって制御される。これに対し、光合成の場合は、需要(光合成産物の消費=シンク)も重要であるが、光エネルギーという外力によって駆動されているため、過剰なエネルギーは傷害(光障害)を引き起こす。また、エネルギーだけを取り出す呼吸はエネルギー消費反応と独立しているが、光合成では代謝物の供給も光合成が担っており、さらに明反応は光化学系Iと系IIの連携で成り立っている。そのため光合成の制御は非常に複雑にならざるを得ない。したがって、光合成の調節系や過剰な光エネルギーを解消する因子の増強や破壊はさまざまな物質生産に取り入れられているが、まだ統一的な理解には至っていない。

需要の律速（シンク律速）になると、入力的光エネルギーが過剰になるため、光阻害を起こさないように光合成装置を減らし、それでも過剰になるエネルギーを捨てるようになる。シアノバクテリアの液体培養で増殖が静止期に到達すると、光合成色素が減少し、光合成活性が大幅に低下することはよく知られている。従来の光合成の研究ではこのような静止期の細胞を扱わず、対数増殖期のもっとも活発に光合成をしている細胞を材料としてきた。しかし、上記のスクロース生産やエタノール生産、ソルビトール生産でももっとも生産速度が高くなるのは静止期の細胞である<sup>15,18,24</sup>。このような静止期の細胞の光合成活性を高く保つ現象は、シンクの創出によって実現されたはずだが、そのしくみはまだよくわかっていない。

シアノバクテリアでも炭酸固定回路の律速はルビスコといわれており、ルビスコの発現強化が生産性に貢献するという報告もある<sup>26</sup>。また、カルビン回路の律速酵素であるフルクトース 1,6 ビスホスファターゼや回路の他の酵素の増強による促進も報告されているが、まだ検討は不十分である<sup>20,37</sup>。また、ルビスコとは別の炭酸固定経路を構築する試みもある。一例は、緑色非硫黄細菌 *Chloroflexus aurantiacus* のもつ 3-ヒドロキシプロピオン酸バイサイクル経路による炭酸固定が、Syc7942 に導入されている<sup>38</sup>。このような新規経路の高機能化が実現すれば、ルビスコに起因する光呼吸による損失の回避や CO<sub>2</sub> 濃縮機構によるエネルギーの消費の抑制なども可能になるかもしれない<sup>39</sup>。

## 謝辞

本稿は、筆者の思い込みもあって、多くの引用すべき研究や貢献を言及していない可能性があります。このような不備に関して、関係者の方々には陳謝します。最後に本記事を書く機会をいただいた成川礼氏には深く感謝いたします。

Received Nov 28, 2019; Accepted Dec 1, 2019; Published Dec 31, 2019.

## 参考文献

1. Carroll, A.L., Case, A.E., Zhang, A. and Atsumi, S. (2018) Metabolic engineering tools in model cyanobacteria. *Metab. Eng.* 50, 4756.
2. Xie, M., Wang, W., Zhang, W., Chen, L. and Lu, X. (2017) Versatility of hydrocarbon production in cyanobacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101, 905–919.
3. Dexter, J., Armshaw, P., Sheahan, C. and Pembroke, J.T. (2015) The state of autotrophic ethanol production in cyanobacteria. *J. Appl. Microbiol.* 119, 11–24.
4. Oliver, J.W.K. and Atsumi, S. (2015) A carbon sink pathway increases carbon productivity in cyanobacteria. *Metab. Eng.* 29, 106–112.
5. Abramson, B.W., Kachel, B., Kramer, D.M. and Ducat, D.C. (2016) Increased photochemical efficiency in cyanobacteria via an engineered sucrose sink. *Plant Cell Physiol.* 57, 2451–2460.
6. Camsund, D. and Lindblad, P. (2014) Engineered transcriptional systems for cyanobacterial biotechnology. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2, 40.
7. Yu, J., Liberton, M., Cliften, P.F., Head, R.D., Jacobs, J.M., Smith, R.D., Koppelaar, D.W., Brand, J.J. and Pakrasi, H.B. (2015) *Synechococcus elongatus* UTEX 2973, a fast growing cyanobacterial chassis for biosynthesis using light and CO<sub>2</sub>. *Sci. Rep.* 5, 8132.
8. Jaiswal, D., Sengupta, A., Sohoni, S., Sengupta, S., Phadnavis, A.G., Pakrasi, H.B. and Wangikar, P.P. (2018) Genome features and biochemical characteristics of a robust, fast growing and naturally transformable cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 11801 isolated from India. *Sci. Rep.* 8, 16632.
9. Włodarczyk, A., Selao, T.T., Norling, B. and Nixon, P.J. (2019) Unprecedented biomass and fatty acid production by the newly discovered cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 11901. *bioRxiv*, DOI: doi.org/10.1101/684944.
10. Taton, A., Lis, E., Adin, D.M., Dong, G., Cookson, S., Kay, S.A., Golden, S. S. and Golden, J.M. (2012) Gene transfer in *Leptolyngbya* sp. strain BL0902, a cyanobacterium suitable for production of biomass and bioproducts. *PLoS ONE* 7, e30901.
11. Yamaoka, T., Satoh, K. and Katoh, S. (1978) Photosynthetic activities of a thermophilic blue-green alga. *Plant Cell Physiol.* 19, 943–954.

12. Masukawa, H., Sakurai, H., Hausinger, R.P. and Inoue, K. (2017) Increased heterocyst frequency by *patN* disruption in *Anabaena* leads to enhanced photobiological hydrogen production at high light intensity and high cell density. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 101, 2177–2188.
13. Ehira, S., Takeuchi, T. and Higo, A. (2018) Spatial separation of photosynthesis and ethanol production by cell type-specific metabolic engineering of filamentous cyanobacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102, 1523–1531.
14. Dexter, J. and Fu, P. (2009) Metabolic engineering of cyanobacteria for ethanol production. *Energy Environ. Sci.* 2, 857–864.
15. Gao, Z., Zhao, H., Li, Z., Tan, X. and Lu, X. (2012) Photosynthetic production of ethanol from carbon dioxide in genetically engineered cyanobacteria. *Energy Environ. Sci.* 5, 9857–9865.
16. Cooley, J.W. and Vermaas, W.F. (2001) Succinate dehydrogenase and other respiratory pathways in thylakoid membranes of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803: capacity comparisons and physiological function. *J. Bacteriol.* 183, 4251–4258.
17. Yoshikawa, K., Toya, Y. and Shimizu, H. (2017) Metabolic engineering of *Synechocystis* sp. PCC 6803 for enhanced ethanol production based on flux balance analysis. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 40, 791–796.
18. Ducat, D.C., Avelar-Rivas, J.A., Way, J.C. and Silver, P.A. (2012) Rerouting carbon flux to enhance photosynthetic productivity. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 2660–2668.
19. Du, W., Liang, F., Duan, Y., Tan, X. and Lu, X. (2013) Exploring the photosynthetic production capacity of sucrose by cyanobacteria. *Metab. Eng.* 19, 17–25.
20. Chin, T., Okuda, Y. and Ikeuchi, M. (2018) Sorbitol production and optimization of photosynthetic supply in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *J. Biotechnol.* 276–277, 25–33.
21. Jacobsen, J.H. and Frigaard, N.U. (2014) Engineering of photosynthetic mannitol biosynthesis from CO<sub>2</sub> in a cyanobacterium. *Metab. Eng.* 21, 60–70.
22. van der Woude, A.D., Perez Gallego, R., Vreugdenhil, A., Puthan Veetil, V., Chroumpi, T. and Hellingwerf, K.J. (2016) Genetic engineering of *Synechocystis* PCC6803 for the photoautotrophic production of the sweetener erythritol. *Microb. Cell Fact.* 15, 60.
23. Chin, T. and Ikeuchi, M. (2018) Detection of active sorbitol-6-phosphate phosphatase in the haloacid dehalogenase-like hydrolase superfamily. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 64, 248–252.
24. Chin, T., Okuda, Y. and Ikeuchi, M. (2019) Improved sorbitol production and growth in cyanobacteria using promiscuous haloacid dehalogenase-like hydrolase. *J. Bacteriol.* In press.
25. Kato, A., Takatani, N., Ikeda, K., Maeda, S.I. and Omata, T. (2017) Removal of the product from the culture medium strongly enhances free fatty acid production by genetically engineered *Synechococcus elongatus*. *Biotechnol. Biofuels* 10, 141.
26. Schirmer, A., Rude, M. A., Li, X., Popova, E. and del Cardayre, S. B. (2010) Microbial biosynthesis of alkanes. *Science* 329, 559562.
27. Kudo, H., Hayashi, Y. and Arai, M. (2019) Identification of non-conserved residues essential for improving the hydrocarbon-producing activity of cyanobacterial aldehyde-deformylating oxygenase. *Biotechnol. Biofuels* 12, 89.
28. Singh, D. K. and McNellis, T. W. (2011) Fibrillin protein function: the tip of the iceberg? *Trends Plant Sci.* 16, 432441.
29. Oliver, J.W., Machado, I.M., Yoneda, H. and Atsumi, S. (2013) Cyanobacterial conversion of carbon dioxide to 2,3-butanediol. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 12491254.
30. Kanno, M. and Atsumi, S. (2017) Engineering an obligate photoautotrophic cyanobacterium to utilize glycerol for growth and chemical production. *ACS Synth. Biol.* 6, 6975.
31. Yang, C., Hua, Q. and Shimizu, K. (2002) Metabolic flux analysis in *Synechocystis* using isotope distribution from <sup>13</sup>C-labeled glucose. *Metab. Eng.* 4, 202216.
32. Nakajima, T., Kajihata, S., Yoshikawa, K., Matsuda, F., Furusawa, C., Hirasawa, T. and Shimizu, H. (2014) Integrated metabolic flux and omics analysis of *Synechocystis* sp. PCC 6803 under mixotrophic and photoheterotrophic conditions. *Plant Cell Physiol.* 55, 16051612.
33. You, L., Berla, B., He, L., Pakrasi, H.B. and Tang, Y.J. (2014) <sup>13</sup>C-MFA delineates the photomixotrophic metabolism of *Synechocystis* sp. PCC 6803 under light- and carbon-sufficient conditions. *Biotechnol. J.* 9, 684692.
34. You, L., He, L. and Tang, Y.J. (2015) Photoheterotrophic fluxome in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 and its implications for cyanobacterial bioenergetics. *J. Bacteriol.* 197, 943950.



35. Xiong, W., Brune, D. and Vermaas, W.F. (2014) The gamma-aminobutyric acid shunt contributes to closing the tricarboxylic acid cycle in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Mol. Microbiol.* 93, 786796.
36. Zhang, S. and Bryant, D.A. (2011) The tricarboxylic acid cycle in cyanobacteria. *Science* 334, 15511553.
37. Liang, F. and Lindblad, P. (2016) Effects of overexpressing photosynthetic carbon flux control enzymes in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Metab. Eng.* 38, 5664.
38. Shih, P.M., Zarzycki, J., Niyogi, K.K. and Kerfeld, C.A. (2014) Introduction of a synthetic CO<sub>2</sub>-fixing photorespiratory bypass into a cyanobacterium. *J. Biol. Chem.* 289, 9493–9500.
39. Ducat, D.C. and Silver, P.A. (2012) Improving carbon fixation pathways. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 16, 337–344.
40. Song, K., Tan, X., Liang, Y. and Lu, X. (2016) The potential of *Synechococcus elongatus* UTEX 2973 for sugar feedstock production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 7865–7875.

## Photosynthetic production of chemicals in cyanobacteria; current status and future directions

Masahiko Ikeuchi

Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo,  
Faculty of Education and Integrated Arts and Sciences, Waseda University

## トピックス

光合成型複合体 I がフェレドキシン依存的に循環型電子伝達を行う構造基盤<sup>†</sup><sup>1</sup>大阪大学・蛋白質研究所<sup>2</sup>横浜市立大学・大学院生命医科学研究科<sup>3</sup>Max Planck Institute of Biochemistry<sup>4</sup>Ruhr University Bochum栗栖 源嗣<sup>1\*</sup>、田中 秀明<sup>1</sup>、小沼 剛<sup>2</sup>、池上 貴久<sup>2</sup>、Jan M. Schuller<sup>3</sup>、Marc M. Nowaczyk<sup>4</sup>

循環型光合成電子伝達を担う膜タンパク質複合体のうち光合成型複合体 I (NDH 様複合体: NDH1L) に着目し、その構造-機能相関の解明に取り組んだ。まずクライオ電子顕微鏡により光合成型 NDH1L の立体構造を 3.3 Å 分解能で明らかにした。次に、NDH1L の可溶性領域に存在する NdhS サブユニットを組換え体として別途調製し X 線結晶構造解析すると共に、NMR の化学シフトパータベーション法により、Fd と NdhS の相互作用部位を検証することができた。NMR 解析により想定される NDH1L の Fd との結合様式は PS1 とは大きく異なり、FNR との相互作用に近く、末端領域を釣り糸のように使う “fly-casting” 型の相互作用が確認された。これにより世界で初めて Fd が NDH1L の電子供給元となる構造基盤を実証した。

植物や藻類が行う光合成反応のうち光に依存する電子伝達は、チラコイド膜上の複数の膜蛋白質複合体で還元力が供給され、可溶性の電子伝達蛋白質と脂溶性のキノンを介して電子が伝達される。光合成電子伝達には、直鎖型と循環型の 2 種類存在することが知られており、直鎖型電子伝達 (Linear Electron Flow: LEF) では、光化学系 II と光化学系 I (PS1) とが直列に連結されて、NADPH の還元と ATP 合成を駆動する一方で、循環型の電子伝達 (Cyclic Electron Flow: CEF) では、PS1 によってのみ駆動力が供給され ATP の合成にのみエネルギーが利用される<sup>1)</sup>。植物や藻類は、直鎖型と循環型の電子伝達を絶妙に調節することで、酸素発生型光合成を日々摂動する動的な光環境に適応させて生活していることがわかっている。

光合成型複合体 I と呼ばれる NDH 様複合体 (NADH dehydrogenase-like complex I: NDH1L) は、シアノバクテリアや高等植物に見出されており、PS1 により励起された電子をストロマ空間からチラコイド膜に循環させる働きを担っている<sup>2,3)</sup>。この電子の循環に伴い、プロトンをストロマ側からルーメン側に汲み出すプロトンポンプとしても働いている。光合成型 NDH1L は呼吸鎖の NADH 脱水素酵素複合体 (呼吸鎖 NDH) と構造的に類似していることが知られているが、可溶性部位の末端に位置する N-モジュールと呼ばれる電子取り込み口 (NuoE、NuoF と NuoG) を欠損している。この N-モジュールは NADH の脱水素反応 (酸化反応) を行うサブユニットであり、8 つある鉄硫黄クラスターのうち 5 つが含まれている<sup>4)</sup>。すなわち、光合成型 NDH1L は呼吸鎖 NDH とは全く異なる電子の取り込み口をもつ必

<sup>†</sup> 第 10 回日本光合成学会シンポジウム

\*連絡先 E-mail: gkurisu@protein.osaka-u.ac.jp

要があるのである。また、光合成型 NDH 1 L のプロテオーム解析から、光合成特有のサブユニットが少なくとも 8 種類存在することもわかってきた<sup>5-11)</sup>。おそらくフェレドキシンに依存して電子が供給されるであろうと考えられていたが、直接的な証拠はなく、その構造基盤も明らかになっていなかった<sup>12,13)</sup>。

今回、我々は好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* から結晶化用に改良した Twin-strep タグを用いて光合成型 NDH 1 L を精製し、そのクライオ電子顕微鏡構造を 3.3 Å 分解能で決定した<sup>14)</sup>。NdhV サブユニットを除く全てのサブユニットの配置を決定することに成功した(図1)。光合成型 NDH 1 L は、可溶性サブユニットで電子を受け取り、チラコイド膜中のキノンへと伝達したのち、キノン還元と共役してプロトンポンプされると考えられる。膜貫通領域の構造を見てみると、光合成特有のサブユニットは NdhQ、NdhP と NdhL の 3 つだけで、それ以外の膜貫通サブユニットの構造は全て呼吸鎖 NDH と基本的に相同であった。呼吸鎖 NDH でプロトンポンプ機構に重要であると言われているアミノ酸残基は膜貫通領域中に全て保存され

ており、プロトンポンプする仕組みは呼吸鎖と光合成で共通であると考えられる。一方で、NdhQ と NdhP の二つのサブユニットは、小さな膜貫通ヘリックスで、近傍に β-カロテンや脂質分子を伴っていた。おそらく疎水性のキャビティーを形成するフェンスとして機能しているのではないかと考えている。

次に、可溶性サブユニットの構造を見ていこう。前述の通り、光合成型 NDH 1 L には N-モジュールと呼ばれる NADH 酸化部位が存在しない。N-モジュール以外の Q-モジュールと呼ばれるキノン還元部位には、呼吸鎖 NDH と相同なサブユニットが 4 つ存在する (NdhH、NdhI、HdhJ と NdhK)。Q-モジュールには 3 つの [4Fe-4S] クラスター (分子表面から N6a、N6b、N2) を保持している。この 4 つの呼吸鎖 NDH と相同なサブユニットを取り囲む様に、光合成特有のサブユニット 4 つ (NdhM、NdhN、NdhO と NdhS) が結合して Q-モジュールの分子表面を特徴的にチューニングしていた。特に N6a の [4Fe-4S] クラスターの近傍には、NdhK、NdhI と NdhS により形成されるプラスに帯電した塩基性パッチが存在し、酸性蛋白質である Fd との相互作用を示唆

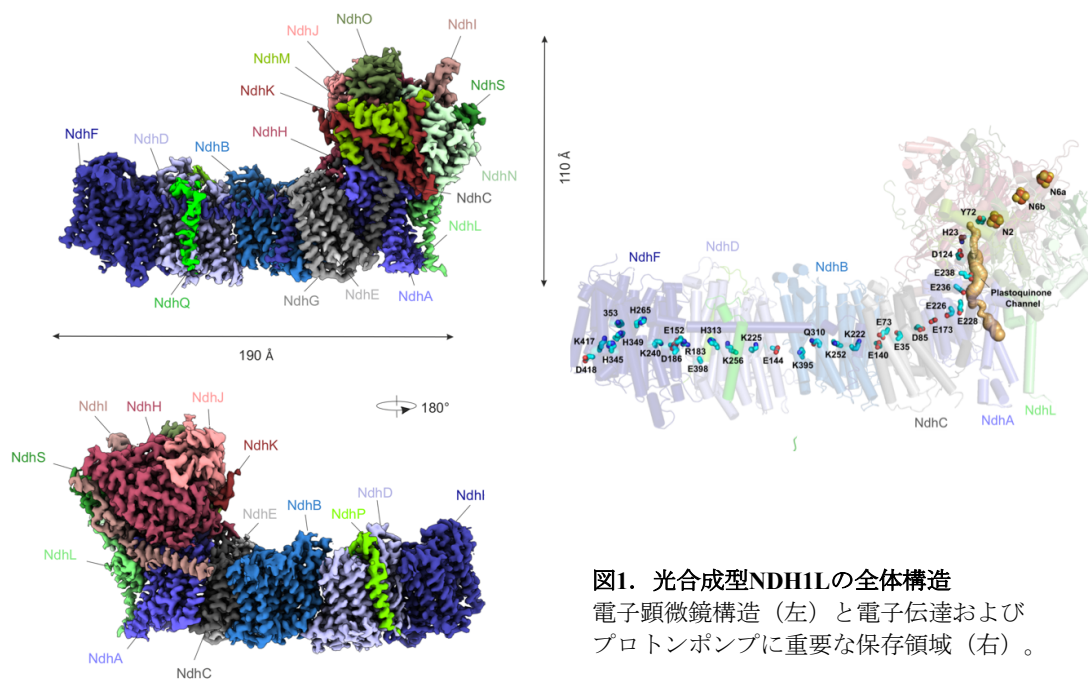


図1. 光合成型NDH1Lの全体構造  
電子顕微鏡構造(左)と電子伝達および  
プロトンポンプに重要な保存領域(右)。

する。最近の *Arabidopsis thaliana* や *Synechocystis* sp. PCC 6803 を使った機能解析の結果から、可溶性のサブユニット NdhS が電子伝達に重要であることが示唆されていた<sup>12,13)</sup>。しかし、NdhS は補欠分子族を持たず、どのように CEF 反応に関与しているのかは不明であった。そこで、我々は NdhS の組換え体を作成し、クライオ電子顕微鏡構造解析とは別に単体 NdhS の高分解能 X 線構造解析と NMR を用いた機能解析を行った。

まず *T. elongatus* 由来 NdhS の組換え体を大腸菌発現系により調製し、NdhS 単体の結晶構造を 1.90 Å 分解能で決定した。この構造は光合成型 NDH 1 L の電子顕微鏡構造中にある NdhS の構造とほぼ同一で、単独で発現させても NdhS は立体構造を保持していることを確認した。次に、安定同位体 <sup>15</sup>N で標識した Fd に対し、組換え NdhS を滴定して化学シフトの変化を観測した。図 2 に示す通り、NdhS は FNR と一部重複する領域を利用して Fd と結合することが確認された。さらに逆に <sup>15</sup>N 標識した NdhS へ非標識の Fd を滴定する実験も行い、NdhS 側の相互作用領域も検討した。その結果、NdhS の C 末端領域が Fd との相互作用に最も用いられていることが確認された。NdhS の C 末端領域は構造が柔軟で、クライオ電

子顕微鏡でも X 線結晶解析でも構造モデルを構築できていない領域であった。そこで、光合成型 NDH 1 L は NdhS サブユニットの C 末端領域を fly-fishing の casting の要領で Fd を N6a クラスター近傍ヘリクルートする結合モデルを提唱した(図 3)。このようなフレキシブルな末端構造を用いた Fd の結合は高等植物の FNR にもみられる結合様式であり、速い電子伝達反応に重要な様式かもしれない<sup>15)</sup>。

我々は NdhS サブユニットの高分解能結晶構造を用いて、Protein Data Bank 中の類似構造を検索した。その結果、大変興味深いことにアミノ酸配列の相同性はないにもかかわらず 3 次元構造が最も似ているエントリーとして Ferredoxin-Thioredoxin Reductase (FTR) の V サブユニットと PS1 の PsaE サブユニットがヒットした。FTR:Fd (PDB ID: 2PUK) および PSI:Fd (PDB ID: 5ZF0) の共結晶構造は既に報告されているので、これら共結晶構造を鋳型として、NdhS:Fd の複合体構造を計算機上で予測してみた。大変興味深いことに、予想構造は 2 つともよく似ていて上述の NMR 構造解析の結果を十分に満足するものであった(図 4)。さらに我々は Wolfgang Lubitz 教授(Max Planck 化学エネルギー変換研究所)、Pierre Setif 教

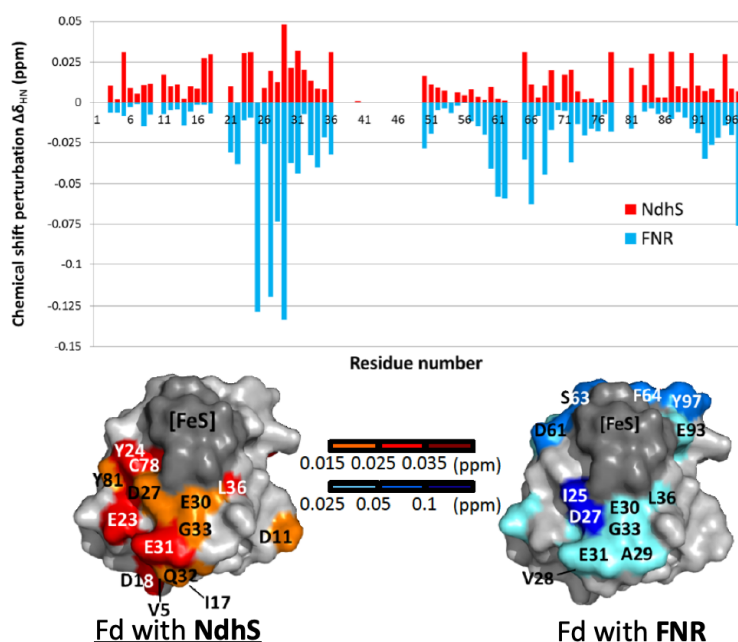


図2. <sup>15</sup>N-Fdを用いたNMRによる NdhSとの相互作用解析

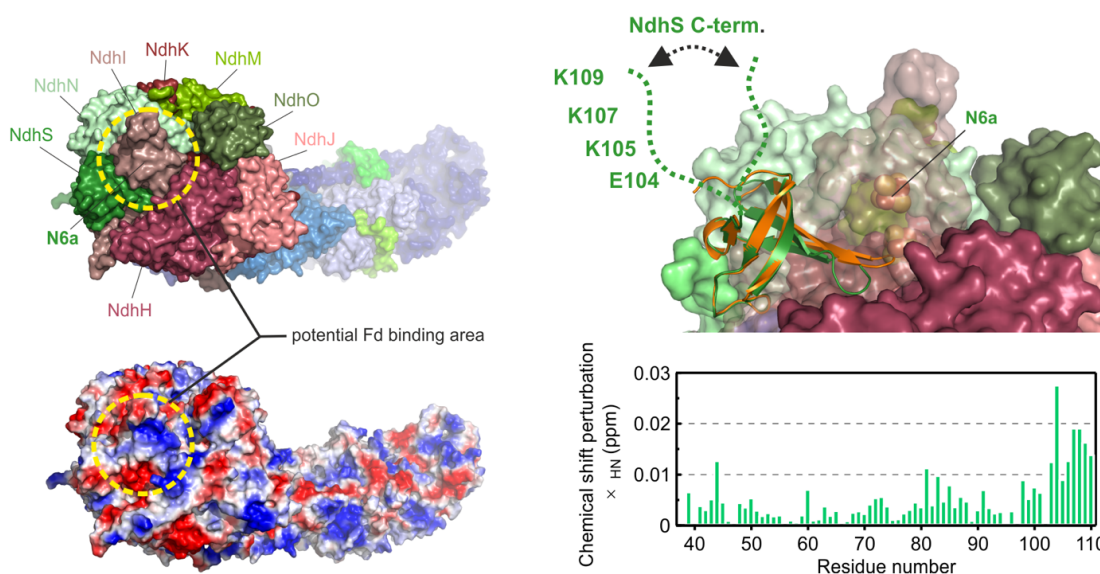


図3. 光合成型NDH1Lの想定されるFd結合部位  
分子表面（左）と $[^{15}\text{N}]$ -NdhSを用いたNMRによるFdとの結合様式（右）。

授 (CEA パリ大学 Saclay) との共同研究として、高速吸収分光と ESR 分光解析を個別に計測することにより、分光学的にも独立に Fd と光合成型 NDH1L 間の電子伝達をモニターすることに成功した。我々は光合成型 NDH1L の NdhS サブユニットが Fd を引き寄せて結合させ、可溶性領域にある鉄硫黄クラスター-N6a を介して電子をチラコイド膜に循環させてキノンを還元する仕組みを突き止めた。

最後に、一連の構造解析の結果を分子進化の観点で議論したい。光合成型 NDH 1 L と呼吸鎖 NDH の共通構造である Q-モジュールの最小機能ユニットは、古細菌由来ヒドロゲナーゼとの共通点が多い。古細菌由来ヒドロゲナーゼに近い共通の祖先型酵素は、N-モジュールを獲得して呼吸鎖

NDH へと進化し、Q-モジュールを改変することで Fd-依存性を強化して光合成型 NDH 1 L へと進化したのであろう。最も進化した高等植物の場合に、光合成型 NDH1L に特有の小さなサブユニット (NdhP, NdhQ) が PS1 との超複合体形成に重要な役割を担っている可能性も指摘しておきたい。今後、高等植物由来の NDH1L:PSI-LHCI 超複合体の構造が明らかになれば、機能がよくわかっていない NdhP や NdhQ の役割についても、その疑問が解消するであろう。本研究を進める上で、NDH1L と NdhS, Fd の精製には三角裕子、濱岡紀之両氏の協力があつた。深く感謝申し上げる。

Received Nov 28, 2019; Accepted Dec 8, 2019; Published Dec 31, 2019.

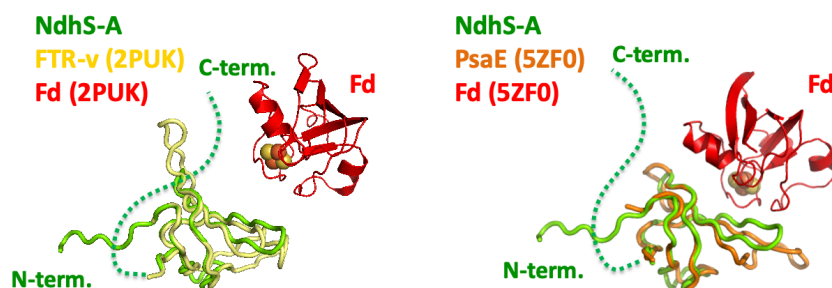


図4. FdとNdhSとの予想複合体構造  
FTR を鋳型にした場合 (左) と PS1 を鋳型にした場合 (右)。Fly casting モデルで利用されるフレキシブルな C 末端は点線で表している。

## 参考文献

- Munekage, Y., Hashimoto, M., Miyake, C., Tomizawa, K., Endo, T., Tasaka, M. and Shikanai, T. (2004) Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis. *Nature* 429, 579–582.
- Peltier, G., Aro, E.-M. and Shikanai, T. (2016) NDH-1 and NDH-2 plastoquinone reductases in oxygenic photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.* 67, 55–80.
- Battchikova, N., Eisenhut, M. and Aro, E.-M. (2011) Cyanobacterial NDH-1 complexes: Novel insights and remaining puzzles. *Biochim. Biophys. Acta* 1807, 935–944.
- Sazanov, L.A. (2015) A giant molecular proton pump: Structure and mechanism of respiratory complex I. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 16, 375–388.
- Fan, X., Zhang, J. Li, W. and Peng, L. (2015) The NdhV subunit is required to stabilize the chloroplast NADH dehydrogenase-like complex in Arabidopsis. *Plant J.* 82, 221–231.
- Nowaczyk, M. M., Wulfhorst, H., Ryan, C.M., Souda, P., Zhang, H., Cramer, W. A. and Whitelegge, J.P. (2011) NdhP and NdhQ: Two novel small subunits of the cyanobacterial NDH-1 complex. *Biochemistry* 50, 1121–1124.
- Ogawa, T. (1992) Identification and characterization of the *ictA/ndhL* gene product essential to inorganic carbon transport of *Synechocystis* PCC6803. *Plant Physiol.* 99, 1604–1608.
- Battchikova, N., Zhang, P., Rudd, S., Ogawa, T. and Aro, E.-M. (2005) Identification of NdhL and Ssl1690 (NdhO) in NDH-1L and NDH-1M complexes of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 280, 2587–2595.
- Prommeenate, P., Lennon, A.M., Markert, C., Hippler, M. and Nixon, P.J. (2004) Subunit composition of NDH-1 complexes of *Synechocystis* sp. PCC 6803: Identification of two new *ndh* gene products with nuclear-encoded homologues in the chloroplast Ndh complex. *J. Biol. Chem.* 279, 28165–28173.
- Rumeau, D., Bécuwe-Linka, N., Beyly, A., Louwagie, M., Garin, J. and Peltier, G. (2005) New subunits NDH-M, -N, and -O, encoded by nuclear genes, are essential for plastid Ndh complex functioning in higher plants. *Plant Cell* 17, 219–232.
- Battchikova, N., Wei, L., Du, L., Bersanini, L., Aro, E.-M. and Ma, W. (2011) Identification of novel Ssl0352 protein (NdhS), essential for efficient operation of cyclic electron transport around photosystem I, in NADPH:plastoquinone oxidoreductase (NDH-1) complexes of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 286, 36992–37001.
- Friedrich, T., Steinmüller, K. and Weiss, H. (1995) The proton-pumping respiratory complex I of bacteria and mitochondria and its homologue in chloroplasts. *FEBS Lett.* 367, 107–111.
- Peng, L., Shimizu, H. and Shikanai, T. (2008) The chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complex interacts with photosystem I in Arabidopsis. *J. Biol. Chem.* 283, 34873–34879.
- Schuller, J.M., Birrell, J.A., Tanaka, H., Konuma, T., Wulfhorst, H., Cox, H., Schuller, S.K., Thiemann, J., Lubitz, W., Sétif, P., Ikegami, T., Engel, B.D., Kurisu, G. and Nowaczyk, M.M. (2019) Structural adaptations of photosynthetic complex I enable ferredoxin-dependent electron transfer, *Science*, 363, 257–260.
- Maeda, M., Lee, Y.-H., Ikegami, T., Tamura, K., Hoshino, M., Yamazaki, T., Nakayama, M., Hase, T. and Goto, Y. (2005) Identification of the N- and C-terminal substrate binding segments of ferredoxin-NADP<sup>+</sup> reductase by NMR. *Biochemistry*. 44, 10644–10653.

Structural basis for the ferredoxin-dependent  
cyclic electron transfer of photosynthetic complex I

Genji Kurisu<sup>1</sup>, Hideaki Tanaka<sup>1</sup>, Tsuyoshi Konuma<sup>2</sup>,  
Takahisa Ikegami<sup>2</sup>, Jan M. Schuller<sup>3</sup>, Mark M. Nowaczyk<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institute for Protein Research, Osaka University

<sup>2</sup> Graduate School of Medical Life Science, Yokohama City University

<sup>3</sup>Max Planck Institute of Biochemistry

<sup>4</sup>Ruhr University Bochum

## 表紙の紹介

緑藻 *Chromochloris zofingiensis* の光合成スイッチ機構の解析

Lawrence Berkeley National Laboratory  
Molecular Biophysics & Integrated Bioimaging Division  
岩井 優和

表紙は、従属栄養状態下の緑藻 *Chromochloris zofingiensis* を構造化照明顕微鏡 (Structured Illumination Microscopy) を用いて取得した超解像度ライブセルイメージング立体画像のモンタージュである (細胞の表面から中心への光学切片を左上段から右下段にかけて順に示す) <sup>1)</sup>。赤色はクロロフィル、緑色は BODIPY 染色した脂質体を示す。2017 年の全ゲノム解析によって <sup>2)</sup>、*C. zofingiensis* の遺伝子解析ツールが整い、光独立栄養状態から従属栄養状態に移行する際 (光合成スイッチ機構) に生じる様々な表現型の解析に本研究室では取り組んでいる。その表現型の一つに、従属栄養状態下で大量の脂質体を生成することに焦点を当てた解析を進めている <sup>3)</sup>。さらに *C. zofingiensis* は、光独立栄養状態から従属栄養状態に移行する際、細胞が巨大化し、大量のアスタキサンチンを細胞内に生成する。変異体スクリーニングによって得られたヘキソキナーゼ変異株では、これらの表現型を示さないことが分かった <sup>4)</sup>。今後は遺伝子発現解析やタンパク質網羅的解析によって従属栄養状態時に起きるより詳細な代謝機構の解析を行い、*C. zofingiensis* の光合成スイッチ機構の解明を目指す。(裏表紙は、クロロフィル蛍光のみを示した同じモンタージュ画像の一部)。

## 参考文献

1. Iwai, M., Roth, M.S., Niyogi, K.K. (2018) Subdiffraction-resolution live-cell imaging for visualizing thylakoid membranes. *Plant J.* 96, 233–243.
2. Roth, M.S. et al. (2017) Chromosome-level genome assembly and transcriptome of the green alga *Chromochloris zofingiensis* illuminates astaxanthin production. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114, E4296–E4305.
3. Roth, M.S., et al. (2019) Regulation of oxygenic photosynthesis during trophic transitions in the green alga *Chromochloris zofingiensis*. *Plant Cell* 31, 579–601.
4. Roth, M.S., Westcott, D.J., Iwai, M., Niyogi, K.K., (2019) Hexokinase is necessary for glucose-mediated photosynthesis repression and lipid accumulation in a green alga. *Cummun. Biol.* 2, 347.

## 特別企画：若手研究者の海外留学レポート！

## 第8回「ウィスコンシンでの一次代謝研究」

University of Wisconsin-Madison  
横山 諒

「ウィスコンシン州」と聞いたとき、それが広い北米大陸のどこに位置するか分かる方は、ほぼいないのではないでしょうか。北米大陸のほぼ真ん中に位置する五大湖の左側（正確にはミシガン湖の西側）にウィスコンシン州があります。そしてその位置を知ると「寒そうだね」という返事が大抵返ってきます。当たりです。とてもとても冬は寒いです。2018-19年の冬は-34度まで気温が下がりました。そんな冬は南極よりも寒くなるウィスコンシン州の州都マディソンで、私は学位取得後2017年4月よりポスドクとして研究をしています。本稿では、ウィスコンシンに赴任するまでの経緯や、現在の研究と生活について紹介したいと思います。



写真 ハロウィンの日に降った大雪に喜ぶ娘2人

## 1. 留学先を決めるまで

私は、京都大学理学研究科の鹿内利治先生の下で、シロイヌナズナを用いた光合成とチラコイド構造の研究で学位を取得しました。学位取得後の進路を考え出したのはD2の夏あたりです。学位取得後も願はくば研究の世界で生きていきたいと思っていた私にとって、ポスドク先候補を探すことは、これから十数年何を研究していきたいかというlong-term goalを考えることと同義でした。鹿内研は光合成の生理学や分子遺伝学、生化学を習得するには絶好の場所でしたが、「このまま光合成（電子伝達や集光の制御、チラコイドなど）の分野で生きて行くべきか、それとも思い切って異分野に飛び込むのがいいか」の問いに答えを出すのに時間をかけました。結果的には、研究分野を変えるなら学位取得直後のタイミングがいい、分野を変えればこれまで誰もしてこなかった独創的な研究がしやすい、という先輩方のアドバイスを受け、研究分野を変える決心をしました。当時から私の一貫した研究の興味は葉緑体でしたが、同時にGC-MSや安定同位体を用いた最先端メタボロミクス技術にも興味がありました。よくよく文献を調べると、光合成（特に光化学反応）とアミノ酸合成などの一次代謝は同じ葉緑体で行われているにもかかわらず、それらの研究は独立に行われ、結びつきが弱いと感じました。そのため、一次代謝を研究するのに必要な知識や技術をポスドク期間中に身につけることで、双方の分野を熟知した研究者として新たな研究を将来推し進めることができるのではと考えました。以上の経緯から、ポスドク先候補としてメタボロミクス技術やそれに付随する酵素学を学べる場所を探し始めました。また博士課程当時、すでに結婚し子供もいたため、家族で住むのに十分な治安・教育レベルというのも重要なファクターでした。文献や様々なラボのHPを見た結果、ドイツ・ポツダムにあるマックスプランク研究所と、アメリカ・ウィスコンシン大学のHiroshi Maeda博士の研究室が最後の候補として



残りしました。前者は、言わずと知れた植物メタボロミクス分野のメッカで、HP を見る限り多くの研究者が在籍しているビッグラボですが、分野が変わる人間にとってボストンの十分なディスカッションの時間がとれるかどうかには不安があり、また生化学・酵素学よりもメタボロミクスの技術開発に力を入れている印象でした。そのため、より生化学・酵素学に研究の軸を置く後者の Maeda 博士のラボを第一希望としてコンタクトを取りました。それが D2 の冬、2016 年 1 月のことです。幸運なことにその年の植物生理学会に Maeda 博士が参加するとのことでしたので、学会中に会い、受け入れが決まりました。その後、JSPS 及び上原記念生命科学財団のサポートを受けて 2017 年春からアメリカにて研究を始めています。

## 2. ウィスコンシンでの研究活動

名前からご想像できる通り、Maeda 博士は日本出身の方で、大阪大学で修士号を取得後、植物の Tocopherol (ビタミン E) 研究でミシガン州立大学で博士号を取得されています。ウィスコンシン大学植物学部に Maeda lab ができたのは数年前のことで、ラボの規模は学生・ポスドクが 2-3 人ずつという小規模なグループですが、すでにくつものハイインパクトな論文が出されており、とても生産性の高いラボだと感じています。2 週間に一度 Maeda 博士との 1 対 1 のミーティングがあり、進捗報告や実験計画の相談のほか、実験上の些細な質問も気軽にできるのが高い生産性に繋がっているのだと思います。ミーティングでは必ず Maeda 博士から What's your plan/idea? と自分の考えを聞かれ、Maeda 研では様々な面で学部生からポスドクにいたる全員が independent になるよう強く求められます。しかし、その分 Maeda 博士からのサポートも手厚く、親身に実験・キャリアの両面で相談にのってもらえるため、独立した研究者を目指すには最良の環境だと感じています。また、ラボメンバーは勿論日本語話者ではないため、Maeda 博士とのコミュニケーションは 2 人だけの状況でも全て英語で行なっており、英語力という面でも鍛えられる環境です。京大鹿内研ではラボミーティングを英語で行ったり、多くの外国人研究者との一対一ミーティングをセッティングしていただけたらしたおかげで、ある程度は英語でのコミュニケーションも最初からスムーズにできました。ただ、英語力という面ではまだまだ精進が必要だと感じています。

現在ラボのメインテーマは、植物におけるシキミ酸経路及びそれに続く芳香族アミノ酸 (チロシン・フェニルアラニン・トリプトファン) 合成経路についてです。植物シキミ酸経路は葉緑体に局在し、光合成によって固定された炭素源の最大 30% もがシキミ酸経路に流入し、膨大で多種多様な芳香族アミノ酸由来の二次代謝産物を作り出します。植物細胞壁の主成分であるリグニン、電子伝導に必要不可欠なプラストキノン・ユビキノ、植物発生のマスターレギュレーターであるオーキシン、その他様々な植物ホルモンや生理活性物質を含む芳香族二次代謝産物の合成はすべてこのシキミ酸経路を経由します。そのため、光合成由来の炭素源が如何にしてシキミ酸経路へと流入するか、その制御機構を理解することは植物由来の有用芳香族化合物の代謝工学にとどまらず、光合成や発生といった植物の生理機能の多面的な理解に繋がります。現在私は *in vitro* の酵素活性測定を中心に、分子遺伝学やメタボロミクスを組み合わせてこの課題に挑んでいます。

## 3. Maeda 研でよかった点

現在ラボ在籍 3 年目ですが、とても有意義なポスドクライフを過ごしています。その理由は主に 3 つあり、1 つ目の理由は当初思い描いていた通りのことができている点です。これまで HPLC や GC-MS の使用経験はありませんでしたが、研究室が所有しているものを使用でき、かつ小さいラボであるため気兼ねなく Maeda 博士やラボメンバーに不明な点を聞けるため、新しい技術を効率よく吸収できています (まだまだ精進が必要ですが.....)。もちろん鹿内研時代に鍛えられたシロイヌナズナの分子遺伝学や生化学も現在の研究に活かしています。2 つ目の理由は、研究分野が変わったことによって様々な恩恵を受けていることです。ラボメンバーは代謝やその周辺分野のバックグラウンドを持つ人が多く、かつウィスコンシン大学には光合成の基礎研究をしているラボがありません。そのため、ウィスコンシン大学に着任したときから、キャンパス内でほぼ一番光合成に詳しい研究者になってしまったのです (もちろんこの記事を読んでおられる日本の優秀な光合成研究者の皆様を前にして自分が「光合成のエキスパート」だとは口が裂けても言え

ませんが.....)。しかしその結果、キャンパス内では"Ryo Yokoyama = 光合成の人"と認識してもらえ、「光合成の論文でわからないところがあるんだけど、このパラメータは何を表しているの?」「自分の研究のオミクス解析で光合成に関係する xxx が出てきたけど、これってどういう機能なの?」といった質問を受けることがよくあります。Maeda 博士からも授業で話す光合成の最新の知見について質問を受けたり、最終的には Maeda 博士が受け持つ学部生・大学院生向けの講義のうち、NPQ や D1 repair といった光合成制御の回を受け持ち、アメリカで講義デビューを果たしました。これらは、光合成に馴染みのない環境に飛び込んだおかげだと感じています。その分、しっかりと光合成分野の最新の知見をアップデートする必要もあるため、昔と同様に光合成関連の論文もよく読みます。最後に、Maeda 博士が各ラボメンバーの将来についてしっかりと考えてくれている点です。年 1, 2 回は必ずキャリアに関するミーティングを行い、その際には Individual Development Plan (IDP) を予め作成し議論に望みます。IDP には、自身の長期的な目標と、それを達成するために必要な具体的な計画、過去に立てた目標の達成度などを列挙します。頭の中で漠然と考えていることを具体的に書き出す作業は時に辛いこともありますが、「何が自分の目指すゴールで、そのために何が必要で、今の自分には何が足りないのか」を把握することは非常に有益なことです。また Maeda 博士にそれら目標を宣言(?) することで、よいモチベーションの維持にも繋がります。IDP の存在は日本にいたときは知りませんでした。ウィスコンシン大学のポストドク組織(労働組合のようなもの)も IDP の作成を推奨しており、ある程度一般的なものなのかもしれません。私は現在光合成を少し離れて一次代謝の分野にいますが、今の分野で様々な技術や知識を吸収して、いつか光合成と一次代謝の分野を結びつけるような研究がしたいという目標を持っています。この目標には Maeda 博士も賛同してくれており、そのために何ができるか、必死に頭と手を日々動かしている最中です。

#### 4. マディソンでの生活

冒頭でも紹介した通り、ウィスコンシン州はアメリカ中西部の最北端に位置し、マディソンは州都になります。ウィスコンシン大学マディソン校のキャンパスとダウンタウンは 2 つの大きな湖に挟まれた所にあります。そのため、キャンパスから見た湖の景色は四季を問わず綺麗です。マディソンは大学関係者と州政府関係者が多い街なため、治安はアメリカとは思えないほどよく、昨年はアメリカで最も子供が住みやすい街に選ばれました。物価もアメリカの海岸沿い(サンフランシスコ、LA、シアトル、NY、ボストンなど)に比べて高くはなく、特に家族連れには優しい街です。

キャンパス内には家族のいる教職員・学生用のアパート郡あり、私達家族もそこに住んでいます。家賃はそこまで高くなく、家のインターネットは学内のネットワークを使っているため、家にいながら論文を自由にダウンロードできるのが助かっています。アパート郡とキャンパス中心部は無料バスで結ばれており、寒い冬や夜遅くでも家と研究室の往復には困りません。アメリカ海岸部やヨーロッパの大都市では物件の絶対数が少なく、かつ家賃が非常に高いため、家探しが非常にストレスフルだとよく聞きますが、ウィスコンシン大学やその他の中西部の大学は家族向けのアパートを用意することで差別化を図り、より優秀な人材を獲得しようと努力しているようです。入居の申し込みも渡米前にオンライン上でできたため、特に私のように海外から初めてアメリカに移住してくる家族にとってはありがたかったです。またキャンパス内アパート郡には、本当に様々な国から来た家族が住んでいます。子供を外の公園で遊ばせると、子供経由で親同士が仲良くなり、子育てからお互いの国の事情に至るまで多種多様な話ができます。それぞれ家で自国の料理を振る舞い、異文化交流をすることもしばしばです。その際に重要なのが、自分の国のことを他国の人に英語で伝えるスキルです。皆さん自分の研究分野のことなら比較的簡単に説明できますが、社会システムや文化に関係することとなるとまず単語を知らないことも多いため、自分の教養レベルが大切になってきます。これから海外に行く方には、自分の専門分野だけではなく様々なトピックについて英語で勉強することを強くオススメします。

ウィスコンシンを走る車のナンバーには"America's Dairyland"と書かれています。「酪農の国」という意味どおり、アメリカの中でも乳製品が有名な土地です。大学で開かれるレセプションなどでは必ず名産品のチーズが振る舞われたり、教職員やアパートの住人にアイスクリームが無料

で振る舞われる **Ice Cream Social** というイベントが頻繁に開かれたりと、ウィスコンシンの名産を味わう機会が多くあります。もう一つのウィスコンシンの名産品はビールですが、残念ながら私はお酒が飲めないため、その美味しさは未体験です。他にも、肉類は日本よりも安いので、夏には友人たちと頻繁に家の裏で **BBQ** をします。渡米以来、**BBQ** の火起こしと肉の焼き方はかなり上達しました。

ここまでウィスコンシンでの生活のいい面を紹介しましたが、もちろん悪い面も多く存在します。その最たる例が、冬の厳しさです。この原稿を書いている 10 月末に大雪が降り、早朝には雪かきをしました。最高気温は摂氏 5°C 前後、最低気温は 0°C 以下です。そして真冬は -10°C 以上なら暖かい方で、寒い日は -30°C まで下がります。そのため外出をする際は南極探検に行くような重装備で外を歩き、かつ外にいる時間は最小限にしなくてははいけません。屋内は気密性が高くセントラルヒーティングが働いているため問題がありませんが、小さい子供にとっては外で遊ぶことができないためストレスがたまるようです（もちろんそれに伴い親も疲弊します）。積雪量はそこまで多くはないですが、4-5 月まで雪が降ることもあるので、衣替えのタイミングにいつも悩みます。もう一つのウィスコンシン（というよりアメリカ全体）での不便な面は、健康保険料や保育園料がとて高いことです。保育園の質はとていいので不満はそこまでありませんが、健康保険と病院に行った際の自己負担額はとて高く、できるだけ病院に行かないように健康に気をつける日々です。家族が渡米してから半年ほどで次女が産まれましたが産後 2 日で退院せねばならなかったり（日本だと通常 1 週間程度）、新規の病院予約が 2-3 ヶ月後しか空いてなかったりと、病院関連ではカルチャーショックの連続です。病院や公共サービスなどではフラストレーションがたまることも多いため、下手な英語でも粘り強く交渉すること、そして時には潔く諦めることも求められます。

## 5. 留学はすべき？

これまでのマディソンでの研究や生活を通して、私は学位取得後のタイミングでマディソンに来るという選択をしてとてよかったと思っています。ただ、私のケースはコントロールのない  $n=1$  の実験と同じで、すべての人が海外に行くべき、すべての人が研究分野を変えるべきとは思っていません。海外に行くことが目的化してしまうと、いざ海外に行ってしまった後のモチベーション維持が難しくなってしまうでしょう。重要なのは、自分の学術的な興味、バックグラウンド、将来の計画などに加えてプライベートな事情を考慮し、自分のベストな選択をすることです。その上で、海外に研究拠点を移したいと思うのであれば、私は心の底から応援したいと思います。もちろん、海外・国内両方の選択肢を考慮した上で、国内に残るという選択肢を選ぶというのも素晴らしいことだと思います。一方で、英語に自信がないから、業績がないからなどという理由で、海外で研究をするという選択肢を最初から検討しないということはとて勿体無いことです。もし興味があるラボが海外にあるが様々な理由で悩んでいる方の精神的な障壁が少しでも低くなれば幸いです。

最後になりましたが、研究者としての基礎をご教授下さり、留学にあたり親身なアドバイスとサポートをしてくださりました京都大学鹿内利治先生と、ウィスコンシン大学での研究を支えてくださっている **Maeda** 博士を始めとしたラボメンバー、そして日々絶え間なく私を励ましてくれる妻と子供たちに心よりお礼申し上げます。

## 報告記事

## 「新光合成-光合成若手の会ジョイント若手ワークショップ 2019」 開催報告

関西学院大学工学部生命科学科  
西村 健司

今年8月29-30日、神戸セミナーハウスにて新学術領域「新光合成：光エネルギー変換システムの再最適化」と日本光合成学会若手の会によるジョイント若手ワークショップを開催しました。同様のジョイント若手ワークショップが2017年にも開催されており（光合成研究2017年12月号参照）、今回で2回目でした。



会場は神戸の山間に位置し、都会の喧騒からも最寄駅からも遠く離れていましたが、総勢33名の光合成研究に取り組む学部生・大学院生を中心とした若手研究者の方々が参加してくれました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。一泊二日の短期間でしたが、合宿形式（相部屋）により寝食を共にするなかで、参加者の研究交流と親睦が深まったのではないかと思います。実際、懇親会やその後のフリーディスカッションは深夜まで続き、大変賑やかなものでした。そのせいか翌朝の朝食時はとても静かでした。

プログラムは、初日が招待講演2題とポスター発表14題、2日目が招待講演1題と一般口頭発表3題という内容でした：

招待講演では、千葉大学の華岡光正先生、大阪大学の朝倉由香里博士、東北大学の高木大輔博士の3名の方々に話題提供して頂きました。華岡先生には、葉緑体生物学の中心課題の一つである葉緑体-核間のレトログレードシグナルに関して、特に光環境や概日時計に応答した光合成関連遺伝子の発現制御機構におけるプラスチドシグナルの役割についてご講演頂きました。朝倉博士には、葉緑体遺伝子発現制御について、主にイントロンスプライシングを制御するRNA結合タンパク質の発見の歴史について、米国留学時のお話も交えて振り返って頂きました。高木博士には、光合成の観点から植物栄養学分野の未解明の現象をとらえ直す中で見出した、リン酸毒性の発症に至る分子メカニズムについて、代謝変動や細胞内ストレス状態等の詳細な解析結果と共に報告いただきました。

一方、一般口頭発表・ポスター発表では、実験材料もアプローチも様々なバラエティーに富んだ研究報告がなされました。今回が初めての学外あるいは研究室外での発表という学生の方も多く、同世代の研究者の発表や情報交換・ディスカッション等が良い刺激となったようです。また光合成研究の学際的魅力についても知るよい機会になったのではないかと思います。

最後になりますが、日本光合成学会若手の会会長の清水隆之先生、東京大の神保晴彦先生、関西学院大の米田公平先生、宗景ゆり先生、そして新学術領域「新光合成」代表の皆川純先生には多大なご尽力を頂きました。どうも有り難うございました。

## 報告記事

## 「藍藻の分子生物学 2019」開催報告

静岡大学

成川 礼、兼崎 友、栗井 光一郎

2019年11月29日（金）午後から30日（土）の夕刻まで、木更津市のかずさアカデミアホールにて藍藻の分子生物学 2019 が2日間の日程で開催されました。藍藻の分子生物学は1998年からほぼ隔年で開催している研究会で、今年で12回目になります。当初の4回は光合成学会の元会長でもある村田紀夫先生を中心とした世話人により基礎生物学研究所で開催されていましたが、2005年の第5回からは、かずさDNA研究所の田畑哲之先生のサポートを受け、かずさアカデミアホールで開催されています。研究会の発表の様子については、静岡大学の三宅敬太さんに報告記事としてまとめてもらいましたので、詳しくはそちらをご覧ください。

今回の研究会では、招待講演19件、ポスター発表51件の発表があり、総勢114名の参加がありました。教職員と学生の比率はおおよそ半々で、比較的学生の参加が多く活気のある研究集会だと思います。本研究会は各発表の内容はもちろん、質疑応答も活発です。例えば発表者が把握していない内容の質問に対して共同研究者ではない他の参加者が代わりにコメントするなど、研究会全体として科学の発展を第一義に考えているところも魅力の一つです。懇親会は、光合成学会と同様、ポスター会場で行われるため、より議論も白熱し、聞くところによると場所を移して深夜まで続いたようです。

次回は、立命館大学の寺内一姫先生を世話人として2021年11月頃に開催の予定です。みなさまの積極的なご参加をお待ちしています。



集合写真

## 報告記事

### 「藍藻の分子生物学 2019」に参加して

静岡大学大学院 自然科学系教育部  
博士課程1年  
三宅 敬太

2019年11月29日から30日にかけて、かずさDNA研究所アカデミアホールにて『藍藻の分子生物学 2019』が開催されました。今回の研究会は、二日を通して、19題の招待講演および51枚のポスター発表にて構成されていました。

初日は、藍藻における物質生産に関するセッションから始まりました。このセッションでは、特定の遺伝子を改変・制御することによって、特定の物質を生産させる取り組みや日本固有種が生産する天然の多糖類がバイオ資源となる可能性に関して、議論されました。次のセッションでは、光合成遺伝子の制御から光合成装置の修復や Chl. *f* が組み込まれた光化学系の構造・機能に関して報告されました。初日の最後のセッションでは、藍藻の分類に関する議論から実際の海洋における藍藻と藍藻に感染するファージとの相関に関して報告されました。初日、最後のセッションの後に、ポスター発表が行われ、このポスター発表が行われた会場にて、懇親会も開催されました。懇親会は、気軽に先生達と親交を深めることができる場となっており、なかには食事を片手に、引き続きポスターの前で議論している様子も見受けられました。私自身も今後の研究に関わる貴重な情報交換ができ、非常に有意義な時間を過ごすことができました。

二日目は、藍藻の光の強度や質そして塩ストレスへの応答に関するセッションから始まりました。次のセッションでは藍藻における代謝経路を動的に捕捉することで、中間代謝物質の生合成速度を直接的に知る手がかりとなる技術の開発とそれを応用した物質生産に関する報告が行われました。最後のセッションでは、藍藻のなかでも研究のモデルとして扱いにくい種の培養や保存に関する視点や実際の藍藻がどのように水中を動くかといった形態学的な視点からの研究報告も行われました。

私は、このように分子・形態・生態・生理・応用など様々な視点で藍藻を捉えた研究の最新情報を交換できる研究会に参加できたことをありがたく感じるとともに、今後も藍藻における未解明な領域の理解を進める研究に尽力するという覚悟を基に、これからも精進していきたいと思います。

最後になりますが、本研究会を主催していただいた栗井先生、兼崎先生、成川先生、田畑先生、そして有意義な時間を共有してくださいました参加者の皆様に、この場をお借りして感謝申し上げます。

## 事務局からのお知らせ

### ★入会案内

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

### ★会費納入のお願い

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

〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町

京都大学 理学部研究科 鹿内利治 研究室内

日本光合成学会

TEL : 075-753-4247

FAX : 075-753-4257

ホームページ: <http://photosyn.jp/>

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

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

名前: ニホンコウゴウセイガッカイ



## 日本光合成学会会則

### 第1条 名称

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

### 第2条 目的

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

### 第3条 事業

本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催などの事業を行う。

### 第4条 会員

#### 1. 定義

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

#### 2. 権利

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

#### 3. 会費

会員および賛助会員は本会の定めた年会費を納めなければならない。

### 第5条 組織および運営

#### 1. 役員

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

#### 2. 幹事

幹事数名をおく。幹事任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

#### 3. 常任幹事会

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

#### 4. 幹事会

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

#### 5. 事務局

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

#### 6. 役員および幹事の選出

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

### 第6条 総会

1. 総会は会長が招集し、出席会員をもって構成する。議長は出席会員から選出される。

2. 幹事会は総会において次の事項を報告する。

1) 前回の総会以後に幹事会で議決した事項

2) 前年度の事業経過

3) 当年度および来年度の事業計画

3. 幹事会は総会において次の事項を報告あるいは提案し、承認を受ける。

- 1) 会計に係わる事項
- 2) 会則の変更
- 3) その他の重要事項

#### 第7条 会計

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

#### 付則

第1 年会費は個人会員1,500円、賛助会員一口50,000円とする。

第2 本会則は、平成14年6月1日から施行する。

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

第4 本会則の改正を平成21年6月1日から施行する。

#### 日本光合成学会の役員選出に関する申し合わせ

平成27年5月27日 幹事会

##### 1. 選挙管理委員会

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

##### 2. 会長 [会則第5条第6項]

###### 1) 幹事および常任幹事による若干名の候補者の推薦方法

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

###### 2) 会長選挙

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

#### 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。

## 「光合成研究」 投稿規定

### 総則

1. 「光合成研究」(本報)は光合成に関連する諸分野における記事を掲載する。
2. 1年に3回(4月、8月、12月号)冊子体として発行し、電子版を光合成学会のホームページ上に公開する。
3. 原稿が E-mail において受付処理をされた日を以て受付日とし、編集委員が掲載可と判断した日を採択日とする。ただし原稿が本規定に合わない場合受け付けないことがある。
4. 編集委員は、原稿の審査に際し、原則的に適切な査読者を選んで査読を依頼し、掲載の可否を判断する。
5. 掲載論文の著作権(冊子体および電子版)は日本光合成学会に属する。
6. 図やそこで使われる写真が過去論文として発表したものもしくは発表されたものであった場合は、それらの著作権問題を著者ら自身でクリアする必要がある。
7. 投稿に当たっては、全ての著者が投稿に同意し、かつ原稿の内容について責任を持たなければならない。また、全ての著者は代表著者が全著者を代表して原稿の掲載に関する事項を執り行うことに同意するものとする。

### 一般的事項

- (1) Microsoft Word ファイルを基本とする。字数制限は設けないが、「解説」は A4 サイズ 6~8 ページ、「トピックス」、「研究紹介」は 4 ページ程度を目安にする。1 ページ当りの文字数は、図表を含めて 1800 字程度。日本語は MS 明朝、英数字は Times New Roman とする。
- (2) 本文の最初に、日本語および英語での論文題名、著者所属機関名、氏名を記載する。
- (3) 句読点は「、」「。」「。」に統一する。
- (4) 300 字程度の日本語要旨を作成すること。
- (5) 参考文献、表、図のキャプションは、本文の後ろにつける。

- (6) 本文中に図の大体の位置を指示する。(図を貼り付けてもよい。)

### 参考文献

- (1) 参考文献は、本文中の該当箇所に、右上付きで、1)、1,2)、1-3) のように示す。
- (2) 参考文献の表記は下記のとおりとする。  
雑誌例
  1. Berthold, D.A., Babcock, G.T. and Yocum, C.F. (1981) A highly resolved, oxygen-evolving photosystem II preparation from spinach thylakoid membranes. EPR and electron-transport properties. *FEBS Lett.* 134, 231-234.
  2. Nanba, O. and Satoh, K. (1987) Isolation of a photosystem II reaction center consisting of D-1 and D-2 polypeptides and cytochrome *b*-559. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84, 109-112.

### 書籍例

3. Diner, B.A. and Babcock, G.T. (1996) Structure, dynamics, and energy conversion efficiency in photosystem II, in *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions* (Ort, D.R. and Yocum, C.F., Eds.) pp 213-247, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.

### 図/写真

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

日本光合成学会「光合成研究」編集委員会  
2017年12月23日改訂

## 幹事会名簿

秋本誠志	神戸大学大学院理学研究科	高林厚史	北海道大学低温科学研究所
栗井光一郎	静岡大学学術院理学領域	田中 歩	北海道大学低温科学研究所
池内昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	田中 寛	東京工業大学資源化学研究所
石北 央	東京大学大学院工学研究科	田中亮一	北海道大学低温科学研究所
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	民秋 均	立命館大学総合理工学院
伊藤 繁	名古屋大学	田茂井政宏	近畿大学農学部生物機能科学科
井上和仁	神奈川大学理学部	都筑幹夫	東京薬科大学生命科学部
伊福健太郎	京都大学大学院生命科学研究所	出羽毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
榎並 勲	東京理科大学	寺島一郎	東京大学大学院理学系研究科
得平茂樹	首都大学東京大学院理工学研究科	輅 達也	東京理科大学理学部
大岡宏造	大阪大学大学院理学研究科	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	静岡大学学術院理学領域
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
小俣達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	野口 巧	名古屋大学理学研究科
垣谷俊昭	名古屋大学	長谷俊治	大阪大学蛋白質研究所
菓子野康浩	兵庫県立大学理工学部	林 秀則	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
柏山祐一郎	福井工業大学環境情報学部	原登志彦	北海道大学低温科学研究所
金井龍二	埼玉大学	彦坂幸毅	東北大学大学院生命科学研究所
神谷信夫	大阪市立大学複合先端研究機構	久堀 徹	東京工業大学研究院化学生命科学研究所
熊崎茂一	京都大学大学院理学研究科	日原由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
栗栖源嗣	大阪大学蛋白質研究所	福澤秀哉	京都大学大学院生命科学研究所
小池裕幸	中央大学理工学部	藤田祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
小林正美	筑波大学大学院数理物質科学研究科	古本 強	龍谷大学農学部
坂本 亘	岡山大学資源生物科学研究所	前 忠彦	東北大学
佐賀佳央	近畿大学理工学理学部	牧野 周	東北大学大学院農学研究科
櫻井英博	早稲田大学	増田真二	東京工業大学
佐藤公行	岡山大学		バイオ研究基盤支援総合センター
佐藤直樹	東京大学大学院総合文化研究科	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
鹿内利治	京都大学大学院理学研究科	松浦克美	首都大学東京都市教養学部
篠崎一雄	理化学研究所植物科学研究センター	松田祐介	関西学院大学理工学部
嶋田敬三	首都大学東京	真野純一	山口大学農学部
白岩義博	筑波大学生物科学系	皆川 純	基礎生物学研究所
沈 建仁	岡山大学異分野基礎科学研究所	宮尾光恵	東北大学大学院農学研究科
杉浦昌弘	名古屋大学	宮下英明	京都大学大学院地球環境学堂
杉浦美羽	愛媛大学プロテオサイエンスセンター	宗景 (中島) ゆり	関西学院大学理工学部
杉田 護	名古屋大学遺伝子実験施設	村田紀夫	基礎生物学研究所
杉山達夫	名古屋大学	本橋 健	京都産業大学総合生命科学部
鈴木祥弘	神奈川大学理学部	本橋令子	静岡大学学術院農学領域
園池公毅	早稲田大学教育学部	矢守 航	東京大学大学院理学系研究科
高市真一	東京農業大学生命科学部	和田 元	東京大学大学院総合文化研究科
高橋裕一郎	岡山大学異分野基礎科学研究所		

## 編集後記

今年は夏から秋にかけて、豪雨・大型台風など多くの気象災害が発生しました。被害に見舞われた地域の皆様には、心からお見舞い申し上げます。

さて、今号は第10回日本光合成学会年会において、鹿内学会長がオーガナイズされたシンポジウムでお話しいただいた、佐藤さん、田中さん、池内さん、栗栖さんに執筆いただきました。進化から物質生産、タンパク質構造まで多彩な話題が提供されています。また、前号の表紙を担当いただいた吉田さんによる、葉緑体とミトコンドリアの分裂装置に関する記事も掲載されています。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、ぜひ私までご連絡ください。

今年5月より改元されて始まった令和元年もまもなく終わります。新しい元号の幕開けとともに、日本の光合成研究がより活性化されることを願っています。そのためには、若い研究者の皆さんの活躍が不可欠です。光合成学会でポスター賞を受賞された方々は「光合成研究」に記事を執筆する機会が得られます。記事の執筆は、若手の皆さんが自身の研究をアピールする絶好の場です。皆さんの投稿をお待ちしておりますので、是非よろしくお願います。

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

編集長・成川 礼（静岡大学）

## 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、編集長の成川（narikawa.rei@shizuoka.ac.jp）までご連絡ください。

「光合成研究」編集委員会

編集長 成川 礼 (静岡大学)  
編集委員 高林 厚史 (北海道大学)  
編集委員 宗景 ゆり (関西学院大学)  
編集委員 矢守 航 (東京大学)

---

日本光合成学会 2019年度役員

会長 鹿内 利治 (京都大学)  
事務局長 園池 公毅 (早稲田大学)

常任幹事 杉浦 美羽 (愛媛大学) 年会 2017年  
常任幹事 古本 強 (龍谷大学) 年会 2017年  
常任幹事 石北 央 (東京大学)  
常任幹事 伊福 健太郎 (京都大学) 前編集長  
常任幹事 牧野 周 (東北大学) 年会 2018年  
常任幹事 宮尾 光恵 (東北大学) 年会 2018年  
常任幹事 本橋 健 (京都産業大学) 年会 2019年  
常任幹事 菓子野 康浩 (兵庫県立大学)  
常任幹事 熊崎 茂一 (京都大学) 光生物学協会  
常任幹事 成川 礼 (静岡大学) 編集長  
常任幹事 矢守 航 (東京大学) ホームページ

会計監査 高橋 裕一郎 (岡山大学)  
選挙管理委員 和田 元 (東京大学) ・増田 建 (東京大学)

---

光合成研究 第29巻 第3号 (通巻86号) 2019年12月31日発行

日本光合成学会

〒606-8502 京都府京都市左京区北白川追分町

京都大学 理学研究科 鹿内利治 研究室

TEL : 075-753-4247

FAX : 075-753-4257

e-mail : jspr@photosyn.jp

ホームページ : <http://photosyn.jp/>

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

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

名前 : ニホンコウゴウセイガッカイ

---