



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on relationship between evolution of photosystems and evolution of chlorophyllide a oxygenase in green plants [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	功刀, 基
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11839号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59027
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Motoshi_Kunugi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 功 刀 基

学 位 論 文 題 名

Study on relationship between evolution of photosystems and evolution of chlorophyllide *a* oxygenase in green plants

（緑色植物における光化学系の進化とクロロフィル *b* 合成酵素の進化に関する研究）

光合成生物は光エネルギーを集めて光合成を行うために、光化学系においてクロロフィル・カロテノイド・フィコビリリンといった光合成色素を用いて、光を集めるためのアンテナを構築しており、生育環境に応じてそれら光合成色素の量や分子種を調節することで、環境に適合した光化学系を構成していると考えられている。その中でもクロロフィルは、地球上で最も多い分子と考えられており、現在までに 9 種類のクロロフィル（クロロフィル *a*, *b*, *c1*, *c2*, *c3*, *d*, *f*, divinyl-chlorophyll *a*, *b*）が確認されている。緑色植物は、クロロフィル *a* とクロロフィル *b* を用いて光化学系を構築し、集光を行っている。光化学系において、クロロフィル *a* は光合成生物が共通して持っているが、クロロフィル *b* は一部のシアノバクテリアと緑藻類・陸上植物が属する緑色植物が持っている。先行研究より、クロロフィル *a* は、光化学系の反応中心複合体の内側のインナーアンテナ複合体、および、外側の周辺アンテナ複合体の両方に組み込まれていることが明らかになっている。一方、クロロフィル *b* はインナーアンテナ複合体には用いられず、周辺アンテナ複合体のみに組み込まれていると考えられてきた。

このクロロフィル *b* は、クロロフィル *a* からクロロフィル *a* 酸化酵素（CAO）によって合成される。そのため、クロロフィル *b* を持つ光合成生物は、CAO の活性を調節することでクロロフィル *b* の合成量を制御して、集光アンテナの大きさの調節を行っている。配列の保存性から、CAO は、クロロフィル *b* の合成を実際に行っている触媒ドメインと CAO タンパク質の安定性の制御に関与し、クロロフィル *b* の量の調節を行う制御ドメインから成り立っていると考えられている。またアミノ酸配列の比較から考えると、制御ドメインは陸上植物でのみ保存されていることから、制御ドメインは緑藻類から陸上植物への進化の過程で獲得した配列であると考えられる。一方、触媒ドメインは、高等植物間だけでなく緑藻類やシアノバクテリアといったクロロフィル *b* を持つすべての生物間で高く保存されていることから、高等植物や緑藻類の祖先にあたる生物も触媒ドメインのみの CAO を保持していた可能性が考えられる。しかし、CAO の分子進化が光化学系の進化にどのような影響してきたのかは不明であった。

近年、Mamiellales に属する、海産性緑藻類の *Micromonas* と *Ostreococcus* の全ゲノム解読が行われた結果、この両者が非常に特徴的な CAO を有していることがわかった。これらの緑藻の CAO は、制御ドメインを有していないだけでなく、触媒ドメインを分割して二つの遺伝子にコードしていることがわかった。これらの緑藻の CAO の特徴は陸上植物やモデル緑藻の *Chlamydomonas* と大きく異なっている。そこで、本研究では、CAO の構造が光化学系に与える影響を調べるため、初めに *Micromonas* の CAO（MpCAO）を用いた逆遺伝学的手法と *Micromonas* の光化学系の生化学的な解析を詳細に行った。その結果、*Micromonas* の光化学系は周辺アンテナ複合体だけでなく、インナーアンテナ複合体にもクロロフィル *b* を組み込んでいることがわかった。また MpCAO を、クロロフィル *b* を持たないシロイヌナズナ (*ch1-1*) に導入すると、シロイヌナズナ中で *Micromonas* と同様の光化学系を構築することがわかり、シロイヌナズナにおいて *Micromonas* の光化学系が再現した。これらの結果から、CAO の構造は光化学系の構造に影響を与える可能性が示唆された。

本研究では *Micromonas* が、インナーアンテナ複合体にもクロロフィル *b* を持っていることを明らかにした。当研究室での先行研究より、インナーアンテナ複合体にクロロフィル *b* を

多く組み込むと、海中の光環境では有利である一方、淡水域や陸上などの強光環境では不利である可能性が考えられている。陸上植物が属する Streptophyta は淡水域や陸上に生息する一方、緑藻類が属する Chlorophyta では、海産性の緑藻が多く存在する。進化的には、クロロフィル *b* は細胞内共生（一次共生）後に、緑色植物が獲得したクロロフィル色素であると考えられ、その後緑色植物は、Streptophyta と Chlorophyta に分かれ、現在の高等植物や緑藻類（微細藻、大型藻含む）へと進化を遂げた。Streptophyta は、淡水性緑藻から蘚苔類を介して高等植物へと進化を遂げ、Chlorophyta は、海産性微細藻類、淡水性微細藻類、そして海藻類へと進化を遂げた。Streptophyta と Chlorophyta は、クロロフィル *b* 以外にも多くの共通した光合成色素を保持しており、色素系の類似性は高い。一部、綱特有の光合成色素の保持も見受けられるが、Streptophyta か Chlorophyta のどちらか一方だけが特異的に持っている光合成色素は存在していない。そのため、共通祖先種の緑色植物から Streptophyta と Chlorophyta への進化の際に、新たな光合成色素の獲得が重要であったとは考えにくく、何が光化学系の進化に影響を与えたのかは明らかになっていなかった。そこで私は、先の実験結果から淡水性の Streptophyta と海産性の Chlorophyta の光化学系では、インナーアンテナ複合体におけるクロロフィル *b* の利用様式が異なるのではないかと。さらにその利用様式の異なりに CAO の構造が関係しているのではないかとという仮説を立てた。

その仮説の妥当性を明らかにするため、Streptophyta に属する 2 種の緑藻とモデル高等植物のシロイヌナズナ、および Chlorophyta に属する 9 種の緑藻を用いて、各々の光化学系の解析を行った。その結果、Streptophyta は 3 種全てでクロロフィル *b* を周辺アンテナ複合体のみに組み込んでいた。また、Chlorophyta に属する淡水性の 2 種も同様に、クロロフィル *b* を周辺アンテナ複合体のみに組み込んでいた。一方、海産性の Chlorophyta は、7 種全てで、クロロフィル *b* を周辺アンテナ複合体とインナーアンテナ複合体の両方に組み込んでいた。CAO の構造に関しては、Streptophyta の CAO の構造は用いた 3 種で共通していたが、Chlorophyta の CAO は制御ドメインの構造が様々であり、共通性は確認できなかった。これらの結果から緑色植物は、海中における光環境に適応するためにクロロフィル *b* を周辺アンテナ複合体とインナーアンテナ複合体の両方に組み込んでいる一方、淡水や陸上における光環境に適応するためにクロロフィル *b* を周辺アンテナ複合体のみに組み込んでいるという相関関係を明らかにした。しかし、このクロロフィル *b* の利用様式に CAO の構造が密接に関係しているかどうかを、明らかにするには至らなかった。Micromonas を用いた研究結果も併せて考えると、本研究の結果は、緑色植物の Streptophyta と Chlorophyta への進化の分岐において、クロロフィル *b* の利用様式の違いが大きく寄与した可能性を示唆している。