



Title	ナンキョクカワノリが獲得した遠赤色光利用型光合成そのメカニズムと進化系統
Author(s)	小杉, 真貴子; Kosugi, Makiko
Citation	低温科学, 83, 49-59
Issue Date	2025-03-29
DOI	https://doi.org/10.14943/lowtemsci.83.49
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/94820
Type	departmental bulletin paper
File Information	05_p049-059_LT83.pdf



ナンキョクカワノリが獲得した遠赤色光利用型光合成 そのメカニズムと進化系統

小杉 真貴子¹⁾

2024年12月1日受付, 2025年1月6日受理

ナンキョクカワノリは南極の陸上環境に大きなコロニーを形成することで知られている。最近の研究から、ナンキョクカワノリは可視光が届きにくいコロニーの内部環境で可視光より長波長の遠赤色光を吸収する光捕集アンテナ蛋白質 (Pc-frLHC) を発現し、アップヒル型のエネルギー移動により可視光より低いエネルギーの光で酸素発生型の光合成を行うことが明らかになった。構造解析の結果、Pc-frLHCは11量体のリング構造をしており、長波長吸収型の3量体クロロフィルを結合することが分かった。系統解析の結果、Pc-frLHCはトレブクシア藻綱の中で、緑藻の多くが持っている可視光吸収型LHCIのひとつからアミノ酸配列の変化を経て進化したことが示唆された。

Far-red light driven photosynthesis acquired in the evolutionary process of an Antarctic alga, *Prasiola crispa* ~Its mechanism and evolutionary lineage~

Makiko Kosugi¹

Prasiola crispa is known to form large colonies in terrestrial environments of Antarctica. In our recent studies, it has been revealed that *P. crispa* expresses a far-red light-harvesting chlorophyll (Chl)-binding protein complex (Pc-frLHC) in the internal environment of colony where infrared light is predominant, and performs photosynthesis using far-red light, which is lower energy than visible light, through uphill energy transfer. Structural analysis has revealed that Pc-frLHC has a homo 11-mer ring like structure and binds long-wavelength absorbing trimeric chlorophylls. Phylogenetic analysis suggests that Pc-frLHC evolved in Trebouxioophyceae, through changes in amino acid sequence from one of the visible light absorbing LHCI that is a common LHC in green algae.

キーワード：南極, 光合成, 緑藻, アップヒル型励起エネルギー移動

Antarctica, photosynthesis, green algae, uphill excitation energy transfer

1. 南極光合成生物の生育環境

1.1 南極の環境と生態系

南極地域 (南緯60°以南) は、気候の違いから海洋性気候 (Maritime Antarctica) と大陸性気候 (Continental Antarctica)

の2つの地域に大きく分けられる (Holdgate 1964, Holdgate 1970, Terauds et al. 2012, Terauds and Lee 2016)。島が点在する南緯46°から60°の地域である亜南極地域 (Subantarctica) も生物地理学上、南極と同列に扱われることが多い。海洋性南極および亜南極は、年間を通して気温差が少なく

連絡先

小杉 真貴子

基礎生物学研究所 環境光生物学研究部門

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

Tel: 0564-55-7517

Email: mkosugi@nibb.ac.jp

1) 自然科学研究機構 基礎生物学研究所

環境光生物学研究部門

Division of Environmental Photobiology, National Institute

for Basic Biology, National Institutes of Natural Sciences,

Okazaki, Japan

降水量が多い温暖・湿潤な気候で、南米大陸の南に位置する南極半島とその周辺の島々が含まれる。南極大陸の大半を占める大陸性南極は、海洋性南極に比べて気温が低く降水量が砂漠並みに少なく、多くの生物にとって極限的環境である。大陸性南極の中で生物が主に生息しているのは、氷河の後退によって沿岸部に形成された露岩域(ice free area)と呼ばれる地域である。冬と夏の平均気温は、亜南極で -2°C と $+8^{\circ}\text{C}$ 、海洋性南極で -12°C と $+2^{\circ}\text{C}$ であるのに対し、大陸性南極沿岸では -30°C と -3°C ほどである(Convey 2006)。南極の生態系は温暖湿潤な環境ほど豊かであり、維管束植物は大陸性南極に分布しないが、海洋性南極には2種(ナンキョクコメススキ、ナンキョクナデシコ)、亜南極には60種が分布している(Convey 2006)。極域の植生で大きな生物量を占める蘚類は、大陸性南極では25種であるのに対して、海洋性南極では100種、亜南極では250種が分布している(Convey 2006)。降水量の少ない大陸性南極の露岩域では、水環境が光合成生物の分布に大きく影響を与えており、湖沼、氷河融解水の流路、“スノードリフト”(障害物の風下に形成される雪だまり)の周辺が主な生育地となっている。また、湖沼の深部を除き陸上環境で生物が利用可能な液体の水が存在する期間は夏季に限定される。そのため、陸上に生育する光合成生物は共通して優れた乾燥耐性を有し、長期間の乾燥に休眠状態として耐え、水が利用可能になると吸水後に代謝を迅速に回復させる能力を持つ(Heber et al. 2006, Satoh et al. 2002, Kosugi et al. 2010)。

1.2 光合成への光ストレスの影響

南極の陸上環境ではシアノバクテリアや藻類、蘚類、地衣類などの光合成生物が一次生産者として生態系を支えている。全ての光合成生物にとって、光は光合成に不可欠であるが、過剰な光エネルギーが吸収されると活性酸素を生成し細胞に損傷を与える「光阻害」を引き起こすため危険である(Kok 1959)。光阻害が起こるメカニズムとして、①光化学系II反応中心の水分解に関わるマンガングラスタターが光エネルギーによって破壊されることで引き起こされるもの(Hakala et al. 2005, Ohnishi et al. 2005, Tyystjärvi et al. 2002, Hakala et al. 2006, Sarvikas et al. 2006)と、②電子伝達系で処理しきれない過剰な酸化還元力が生じることで引き起こされるものが知られている(Jones and Kok 1966, Santabarbara et al. 2001, Asada 1999, Bondarava et al. 2010, Zulfugarov et al. 2014, Nishiyama et al. 2001, 2004, Allakhverdiev et al. 2004, Takahashi and Asada 1988, Jung and Kim 1990, Terashima et al. 1994, Sonoike 2011, Sonoike et al.

1995)。①はマンガングラスタターが吸収する紫外線や青色光で特に起こりやすく、②は光合成色素が吸収した光エネルギーに依存する。低温や乾燥のストレス環境下で炭酸固定が抑制されることでより起こりやすくなるため(Takahashi and Asada 1988, Jung and Kim 1990, Terashima et al. 1994, Sonoike 2011, Sonoike et al. 1995)、南極の陸上環境では光阻害が光合成生物の生育に与える影響が大きいと考えられている。

著者らは南極の露岩域に生育する地衣類、蘚類、藻類の光阻害の影響を調べるために、光阻害でダメージを受けやすい光化学系IIの最大量子収率(F_v/F_m)を指標として320~750 nmの間の11光波長における光阻害の速度定数を測定した(Kosugi et al. 2018, 小杉真貴子, 小池裕幸 2019)。光損傷による光化学系II最大量子収率(F_v/F_m)の低下は蛋白質合成阻害剤の存在下で照射時間に対して1次反応で起こることが知られており、次の式で表される(Wünschmann and Brand 1992, Tyystjärvi et al. 1994, Tyystjärvi et al. 1996)。

$$y = a \times e^{-k_{pi} \times t}$$

反応係数 k_{pi} は速度定数、 a は初期値の定数である。 k_{pi} は光子の波長あるいは光量子束密度(photon flux density)に依存する。単色光による照射を行う場合、 k_{pi} はエネルギー束密度(energy flux density) (I)に対する反応係数(E_{pi})に置き換えることが可能である。

$$E_{pi} \times I = k_{pi}$$

$$y = a \times e^{-E_{pi} \times I \times t}$$

自然光下における光損傷の速度定数は各波長の速度定数(k_{pi})を積算したものとなるので以下の式で求められる。

$$k_{pi} = \sum_{320\text{nm}}^{750\text{nm}} \{ (E_{pi})_{\lambda} \times I_{\lambda} \}$$

(320 nmから750 nmまでの照射エネルギーに対する速度定数)

南極で採集した緑藻類ナンキョクカワノリ(*Prasiola crispa*)、地衣類ネナシイワタケ(*Umbilicaria decussata*)、蘚類ヤノウエノアカゴケ(*Ceratodon purpureus*)の光化学系IIにおける光阻害の波長依存性を比較したところ、ナンキョクカワノリは短波長ほど光阻害を起こしやすく、紫外線と青色光で特に影響が見られた。これに対して地衣類はどの波長においても反応係数がほぼゼロで光阻害が見られず、蘚類ではUV-Bの波長(320 nm)において若干の

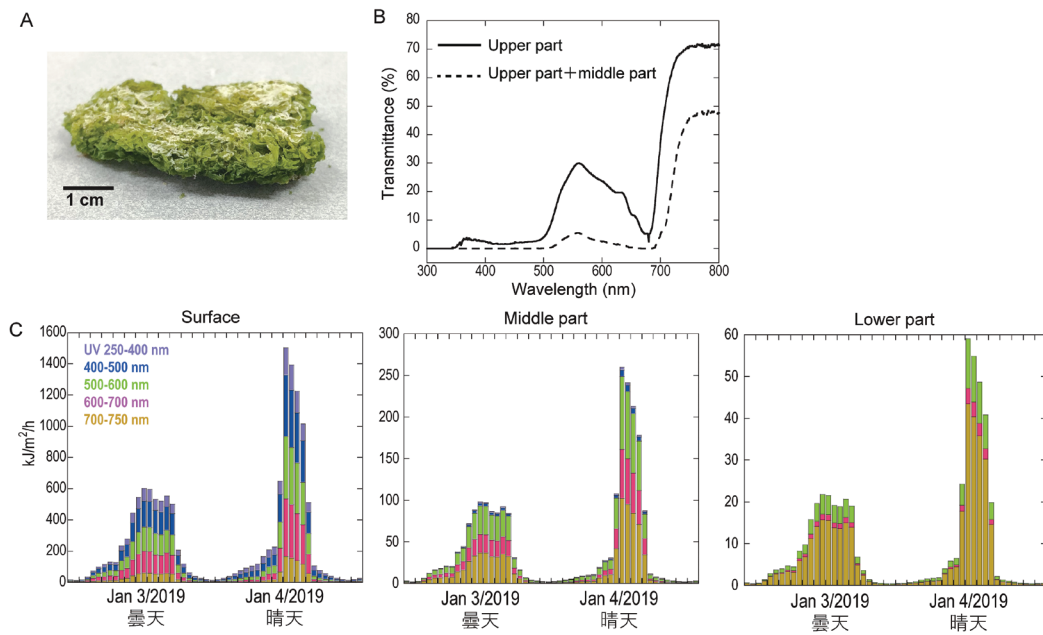


図1：ナンキョクカワノリコロニーの光環境

南極で採集したナンキョクカワノリのコロニー (A) をカミソリで上層 (Upper part), 中層 (Middle part), 下層 (Lower part) の3層にスライスし, ソーラーシミュレーター HAL-100 (朝日分光) を光源として各層の透過スペクトルを測定し透過率スペクトルを算出した (B). 南極昭和基地から20キロほど離れた露岩域であるラングホブデ, 四つ池谷のナンキョクカワノリ生育地に設置した微気象観測機で得た2日間の波長別光強度のデータとBのコロニー内部の透過率スペクトルから, コロニー表層, 中層, 下層における1時間ごとの積算光強度を250-400 nm (紫), 400-500 nm (青), 500-600 nm (緑), 600-700 nm (赤), 700-750 nm (黄土色) で色分けして示した.

光阻害が見られたものの反応速度定数 (k_{pi}) はナンキョクカワノリの7分の1程度であった. このことから, ナンキョクカワノリは地衣類や蘚類に比べて南極の生育環境下で光阻害を起こしやすく, 光阻害によるダメージの回復に多くのコストを払っていると考えられた.

2. ナンキョクカワノリの適応戦略

2.1 南極での分布

トレブクシア藻綱に属するPrasiola属は, 日本を含めて世界中に35種類ほどが知られている. 南極では数種が記載されていたが, 分子系統解析および形態と生態に基づく分類の見直しによりナンキョクカワノリ *P. crisper* (気生藻), と *P. glacialis* (気生藻), *P. borealis* (地衣類 *Mastodia tessellata* の共生藻) の3種に集約されている (Pérez-Ortega 2010, Moniz et al. 2012). 海洋性, 大陸性南極の両地域の露岩に広く分布するナンキョクカワノリは, 鳥の営巣地の周辺など富栄養環境に分布する傾向がみられる. 海洋性南極では地表に広がる大きなコロニーを形成するため, 藻類の中で特に目立つ存在である. ナンキョクカワノリは一層の細胞からなる葉状体が広がるように成長し, 複数

の葉状体が重なって層構造を形成する. 一方, *P. glacialis* は貧栄養環境を好み, *Nostoc* などの窒素固定シアノバクテリアと混生することが多く, ロス海に面した米国観測基地マクマード基地周辺や乾燥したマクマードドライバレー周辺で生育が確認されている (Broady 1996). また, *P. borealis* を共生させている地衣類 *M. tessellata* は海洋性南極に分布し, 塩耐性があり海岸近くの岩上に着生するようである. 昭和基地周辺の露岩域ではナンキョクカワノリ以外のPrasiola属は確認されていない. 昭和基地から20キロほど南方に位置するラングホブデの四つ池谷に比較的大きなコロニーが存在している.

2.2 生理生態学的特徴

これまでにナンキョクカワノリの乾燥や強光に対する優れた耐性に着目した研究がなされて来た (Kosugi et al. 2010, Lud et al. 2001, Holzinger et al. 2006). 乾燥に対する応答は地衣類や蘚類と似ており, 細胞内の水分が減少すると全ての代謝を停止して休眠状態となるが, 水を再度吸水すると即座に活性を回復する. 乾燥時には, 光合成系が吸収した光エネルギーを安全に消去し光阻害を防ぐ機構を持つことが知られている. しかし, 前項で示した

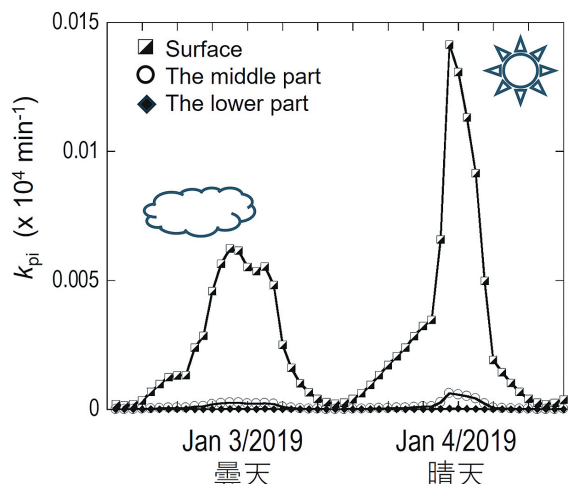


図2：ナンキョクカワノリコロニー表層と内部における光阻害の反応係数の日変動

図1のCで算出したナンキョクカワノリコロニーの表層および中層、下層における波長別の光強度データと、Kosugi et al. 2018で測定したナンキョクカワノリの光化学系IIにおける光阻害の反応係数を用いて、実際の微気象観測データからナンキョクカワノリコロニー表層と内部の光阻害反応速度係数を推定した。反応速度係数が大きいほど光阻害を起こしやすく、ダメージの回復にかかるコストが大きくなる。

通り吸水状態においてナンキョクカワノリは地衣類や蘚類に比べて波長が短くエネルギーの大きな紫外線や青色光で光阻害を起こしやすいことが分かっている。一方で、南極の露岩域においてナンキョクカワノリは葉状体の個体が何層にも重なったコロニーを形成することが多くコロニーの表層と内部では光環境が大きく異なる(図1)。日射の強い環境においてコロニー上層の葉緑素(クロロフィル)が光阻害により減少して白っぽくなるのに対して、コロニーの中層から下層は葉緑素が多く光阻害の影響は少ないと考えられた。図1のCで算出したナンキョクカワノリコロニーの表層および中層、下層における波長別の光強度データと、Kosugi et al. 2018で測定したナンキョクカワノリの光化学系IIにおける光阻害の反応係数を用いて、ナンキョクカワノリ生育地の微気象観測データからナンキョクカワノリコロニー表層と内部の光阻害反応速度係数を推定すると、表層に比べて中層では反応速度係数は10分の1以下となり、下層では快晴の日中もほぼゼロであった(図2)。

緑藻類の葉緑素であるクロロフィルaとbは青色光と赤色光を主に吸収するため、コロニーの内部ほど青と赤の割合が少なく緑や可視光より長波長(>700 nm)の光が卓越する(図1)(Kosugi et al. 2023, 小杉ら 2020)。一般的な酸

素発生型の光合成では700 nmより長波長の光は光合成にほとんど使われないため、コロニー内部は光合成に不利な環境である。しかし著者らの最近の研究から、コロニー内部に位置するナンキョクカワノリの細胞は葉緑素の一部が遠赤色光(700~750 nm)を吸収できるように変化し、長波長の光を光合成に利用する能力があることが分かった(Kosugi et al. 2020)。この特性はコロニー内部の光合成生産量を高めることに寄与していると考えられる。

3. ナンキョクカワノリに見つかった遠赤色光利用型光合成

3.1 遠赤色光利用型光合成の学術的重要性

酸素発生型光合成は光エネルギーで水を分解して得た還元力とATPで二酸化炭素を固定する反応であり、電荷分離反応を起こす2つの反応中心蛋白質、光化学系Iと光化学系IIが関わっている(Kok 1963, Döring et al. 1969)。光化学系IIは電荷分離により水を分解し電子とプロトン(H⁺)を電子伝達系に供給する。この時、水から生じた酸素は細胞外に放出されるため、酸素の発生速度の計測により光合成活性を測定することができる。一部のシアノバクテリアを除く酸素発生型光合成生物の光化学系IIは680 nmに相当する赤色光で励起されるため、680 nmよりエネルギーの低い長波長の光では励起効率が大きく下がる(Laisk et al. 2014)。

光合成生物の酸素発生活性の作用スペクトルを測定すると赤色光域の680 nm付近に酸素発生活性のピークが観測されるが、ナンキョクカワノリにおいては680 nmに加えて遠赤色光の710 nm付近に明瞭な酸素発生活性のピークが確認される。藻体の吸収率スペクトルにおける680 nmと710 nmのピーク高の比率は、作用スペクトルにおけるピーク高の比率とほぼ同じであった。このことは、藻体に吸収された光子のうち光化学系IIを励起する光子の割合が680 nmと710 nmで変わらないことを示唆している。

3.2 アップヒル型の励起エネルギー移動

光化学系IIの反応中心が一般的な藻類と同じP680である場合、ナンキョクカワノリに吸収された遠赤色光のエネルギーは効率的なアップヒル型の励起エネルギー移動により赤色光のエネルギーに変換されていると考えられる。光合成系において光エネルギーはクロロフィルやカロテノイドによって吸収され、色素間の励起エネルギー移動を経て反応中心のクロロフィルへ伝達される。アップヒル型の励起エネルギー移動は、色素間のエネルギー差が熱エネルギーによって補填される範囲で生じるとされている。ここで、

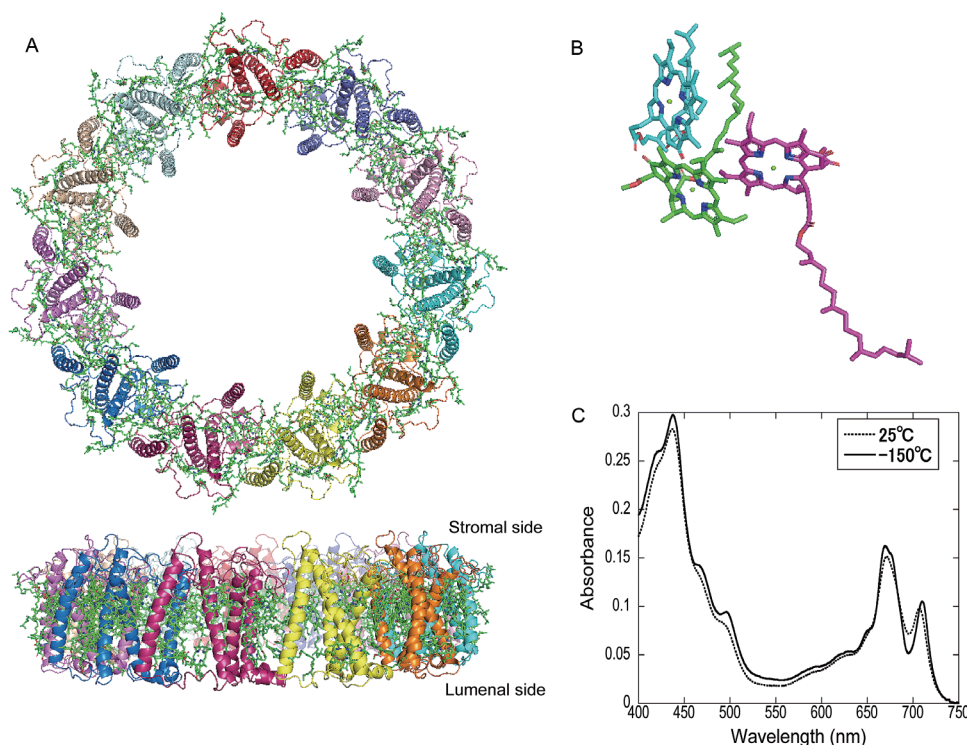


図3：ナンキョクカワノリから精製したPc-frLHCの構造解析モデル

ナンキョクカワノリから遠赤色光吸収型LHCであるPc-frLHCを精製し、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により得られた構造解析分子モデル (A)。上図はストロマ側から見たもので下図はチラコイド膜断面から見たもの。異なるサブユニットのペプチドを異なる色で示した。クロロフィル (緑) がサブユニットに11個ずつ結合し、そのうちのChl603-609-708が3量体を形成する (B)。Pc-frLHCの吸収スペクトル (C) にはクロロフィルaのQy帯である680 nm付近の吸収帯に加えて、708 nmに吸収ピークを持つ多量体クロロフィルaの吸収帯が存在する。

680 nmで励起されるクロロフィルと710 nmで励起される長波長クロロフィルの2分子間における励起エネルギー移動を考えてみる。波長680 nmと710 nmのエネルギー差は熱に換算すると1光子あたり622°C (12.36×10^{-19} kJ) ほどになる。そのエネルギー差を乗り越えて励起エネルギーが、680 nmのエネルギーレベルのクロロフィルに存在する確率は、ボルツマン分布から25°Cにおいて約7%と計算される。一般的なアンテナ蛋白質において可視光励起によるダウンヒル型のエネルギー移動は100%近い効率で生じることを考えると、ナンキョクカワノリの細胞に吸収された710 nmと680 nmの光子の光化学系II励起収率が同等であることは興味深く、効率的なアップヒル型の励起エネルギー移動のメカニズムが存在する可能性がある (Kosugi et al. 2023)。

3.3 ナンキョクカワノリの遠赤色光吸収型アンテナ蛋白質

アップヒル型の励起エネルギー移動を含んだ遠赤色光利用型光合成メカニズムの詳細を明らかにするためには遠赤色光を吸収する光合成色素および色素が結合する蛋白質を同定する必要がある。著者らはモデル緑藻クラミド

モナスで用いられている方法を応用し、ショ糖密度勾配遠心と陰イオン交換カラムにより光合成蛋白質の精製を行った。最終的に遠赤色光に顕著な吸収帯を持つ新規のクロロフィル結合型光捕集アンテナ蛋白質複合体が同定され、*Prasiola crista* far-red light-harvesting chlorophyll binding protein complex (Pc-frLHC) と命名した (Kosugi et al. 2023)。高速液体クロマトグラフ (HPLC) による色素分析の結果、Pc-frLHCに結合する色素は一般的な緑藻で報告されている、クロロフィルa、bとカロテノイドのロコキササンチンおよびビオラキササンチンであった。このうちクロロフィルaは有機溶媒中で660 nm付近に吸収を持つが、クロロフィルのポルフィリン環同士が接近して π - π スタッキングを形成すると電子軌道の安定化により吸収が長波長にシフトすることが知られており、シアノバクテリアや植物において2量体や3量体化したクロロフィルaによる吸収帯の長波長シフトが知られている。このことから、Pc-frLHCの顕著な遠赤色光吸収帯はクロロフィルaの多量体化によるものであると考えられた (Kosugi et al. 2023)。

3.4 構造解析

2010年代後半から、クライオ電子顕微鏡を用いた蛋白質構造解析が急速に普及し、一般の研究者も利用可能な状況となった。それまで主流であったX線による構造解析では蛋白質の結晶化が必要であり、非モデル生物でサンプル量が非常に限られているナンキョクカワノリのような生物では構造解析のハードルが非常に高かった。Pc-frLHCの構造解析は、生命科学・創薬研究支援基盤事業(BINDS)のサポートを受けて高エネルギー加速器研究機構の千田俊哉センター長の協力の元、2019年度に同機構の200 kVのクライオ電子顕微鏡により取得した画像データで行われ、3.13Åの分解能で構造を解くことに成功した(図3A)(Kosugi et al. 2023)。

Pc-frLHCは11個の4回膜貫通型のサブユニットがリング状に繋がった巨大な複合体であった。なお、この解析は11個のサブユニットが全て同じものであることを前提として11回回転対象性を考慮しているため、サブユニット間の細かい違いは見ることができない。リング中央の穴にも蛋白質が存在している可能性があるが、中央部には11回対象性が無いためモデル上から消失している。これまでに報告されている緑藻の光合成アンテナ蛋白質はLHCスーパーファミリーと呼ばれ単系統である(Green and Parson 2003, Koziol et al. 2007, Dolganov et al 1995)が、11量体のリング構造はナンキョクカワノリのPc-frLHCで初めて報告された。1つ1つのサブユニットはモデル緑藻や植物のアンテナ蛋白質(LHC)と相同性が高く、特に緑藻の4回膜貫通型LHCIに系統が近いことが示唆された。Pc-frLHCにはサブユニット当たり11個のクロロフィルと2種類のカロテノイド、ロコキサニンとビオラキサニンが1分子ずつ結合している。クロロフィルのポルフィリン環の励起相互作用の計算から、11個のクロロフィルのうち接近した3つのクロロフィル(Chl603, Chl609, Chl708)が多量体化した3量体クロロフィルとしてアサインされ、708 nmに吸収ピークを持つ長波長クロロフィルであると考えられた(図3B, C)。この3量体クロロフィルは他のLHCには存在せず、近縁の4回膜貫通型LHCIにも存在しないことから、Pc-frLHCの遠赤色光利用型光合成の進化の鍵であると考えられる。

4. Pc-frLHCの系統と発現メカニズム

4.1 ナンキョクカワノリのゲノム解析

Pc-frLHCの分子生物学的解析を進めるためにはナンキョクカワノリのゲノム情報が必要である。著者らは2016年度の科研費先進ゲノム支援による援助を受け、ナンキョクカ

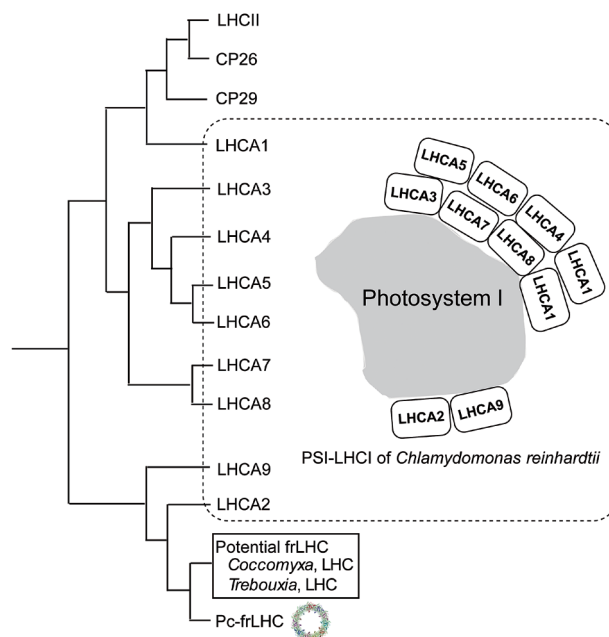


図4：緑藻型LHCの系統樹

ナンキョクカワノリと様々な緑藻および植物のLHCのアミノ酸配列を用いた系統解析結果(Kosugi et al. 2024)を簡略に示した。LHCIに関しては藻類種間でシノニムに相当するものに異なる名称が付けられているため、モデル緑藻であるクラミドモナスで命名されているLHCI名を示し、各LHCIと光化学系I(Photosystem I)の結合様式を図に示した。

ワノリの培養株(*Prasiola crista* 4113)の、核ゲノムを含むゲノムシーケンス解析と遺伝子予測を行った(Kosugi et al. 2024)。培養株は島根大学の谷修司教授(現名誉教授)が1999年に南極昭和基地周辺で採取した土壌サンプルから単離培養されたものを使用した。イルミナHiSeqによるショートリードとPacBioによるロングリードによるシーケンスを行い、核ゲノムサイズ92.2 Mbp, 1,045本のスキマホールドを得た。RNA-seqにより得たトランスクリプトームデータを用いて解析し、210,244個の遺伝子が推定された。

4.2 Pc-frLHCの系統解析

光合成関連の遺伝子のうち、真核光合成生物の光捕集アンテナ蛋白質(LHC)の遺伝子は全て核ゲノムにコードされている。ナンキョクカワノリの核ゲノムには26個のLHC遺伝子が見つかり、そのうち4個がPc-frLHCの遺伝子と推定された(Kosugi et al. 2024)。ナンキョクカワノリのLHC遺伝子から推定されたアミノ酸配列と様々な緑藻や植物のLHC配列を使って系統解析を行った(図4)。その結果、モデル緑藻クラミドモナスが持つ9つのLHCI(LHCA1~9)(Elrad et al. 2002, Stauber et al. 2003, Minagawa and Takahashi 2004, Tokutsu et al. 2004)にそれぞれ相当するシノ

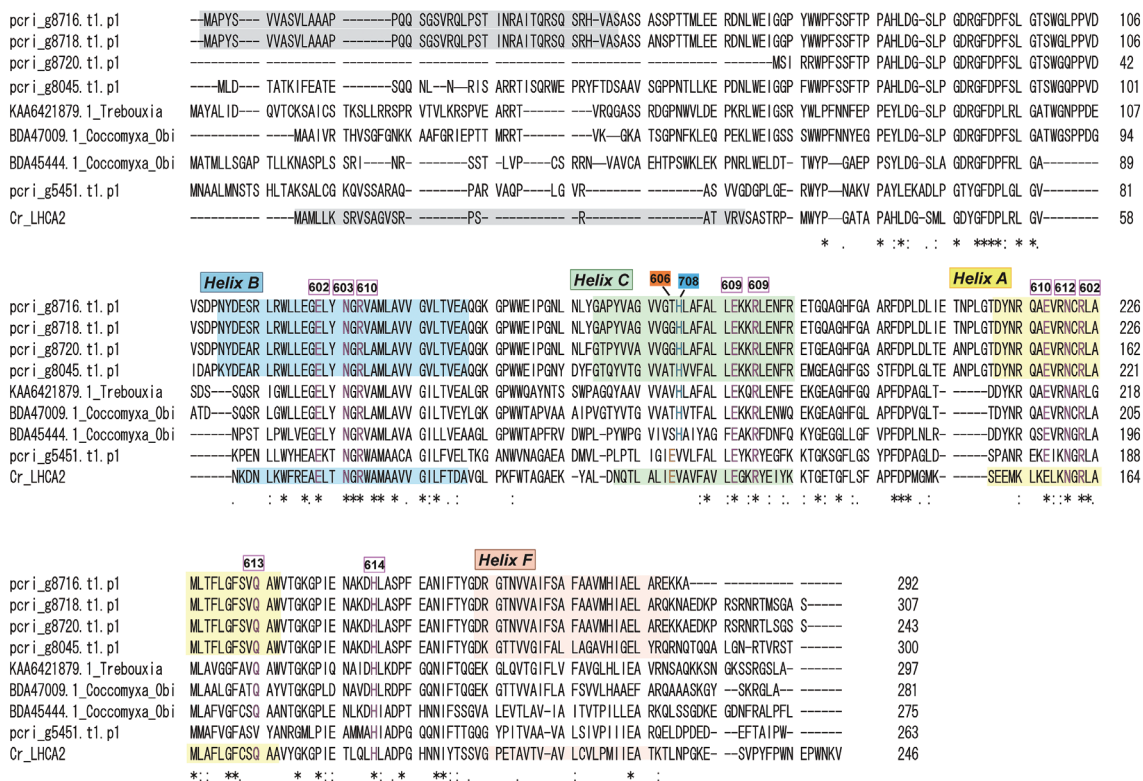


図5：遠赤色光吸収型LHCと4回膜貫通型LHCIのアミノ酸配列比較

ナンキョクカワノリのゲノムからアサインされた4つのPc-frLHC遺伝子から推定されたアミノ酸配列 (pcri_g8716.t1.p1, pcri_g8718.t1.p1, pcri_g8720.t1.p1, pcri_g8045.t1.p1) と同一性が高い*Trebouxia*および*Coccomyxa*のLHC (KAA6421879.1_Trebouxia, BDA47009.1_Coccomyxa_Obi, BDA45444.1_Coccomyxa_Obi) とナンキョクカワノリとクラミドモナスの4回膜貫通型LHCI (pcri_g5451.t1.p1, Cr_LHCA2) のアミノ酸配列をClustal omega (EMBL-EBI) によりアライメントした。配列上部の数字は配位するクロロフィルの番号。構造解析から膜貫通ヘリックス部分が特定されているものは色違いの影を付けた。Pc-frLHCのChl708はヒスチジン (H) に、4回膜貫通型LHCIのChl606はひとつ隣のグルタミン酸 (E) に配位している。

ニム遺伝子をナンキョクカワノリが持つことが分かった。4つのPc-frLHC遺伝子はひとつのクレードを形成し、モデル緑藻のLHCのうち4回膜貫通型LHCI (LHCA2) のクレードに最も近縁であった。このことから、Pc-frLHCは緑藻の4回膜貫通型LHCIから進化したことが示唆された。更に、データベース上で検索し見つかったPc-frLHCと同一性の高いアミノ酸配列を持つ*Coccomyxa*と*Trebouxia* sp.のLHCを系統解析に加えたところ、4回膜貫通型LHCIとPc-frLHCの間のクレードに分類された。これらのLHCの機能は明らかにされていないが、Pc-frLHCと同様に遠赤色光吸収型のLHCである可能性がある。Pc-frLHCと*Coccomyxa*および*Trebouxia*のLHCを4回膜貫通型LHCIと共にアライメントすると、Pc-frLHCにおいて3量体クロロフィル (Chl603-609-708) を形成するChl708が配位するアミノ酸 (ヒスチジン, H) 残基が*Coccomyxa*と*Trebouxia*のLHCにも確認された (図5)。一方で4回膜貫通型LHCIではこのヒスチジンが中性アミノ酸に置き換わっており、ひとつとなりのアミノ

酸 (グルタミン酸, E) にChl606が配位していた。このことから、4回膜貫通型LHCIからPc-frLHCが進化する過程で、アミノ酸変異によりChl606がひとつC末側のアミノ酸へ移動したことでChl708となり、Chl603-609との空間距離が近くなったことで3量体Chl603-609-708が形成されたと考えられる (図6)。

4回膜貫通型LHCIは原始緑藻オストレオコッカスも遺伝子を持っており、PSI-LHCIの構造解析から、クラミドモナスの4回膜貫通型LHCIと同じ位置に結合していることが分かっている (Ishii et al. 2023)。このことから、4回膜貫通型LHCIは緑藻の進化の初期に既に存在していたと考えられる。一方でChl708が結合するヒスチジンはトレブクシア藻綱の中に見つからないことから、4回膜貫通型LHCIからナンキョクカワノリが持つ遠赤色光吸収型LHCへの進化はトレブクシア藻綱の中で起きた可能性がある。

トレブクシア藻綱 (Lemieux et al. 2014) は陸上環境に生育する気生藻が多く含まれるグループで、*Coccomyxa*や

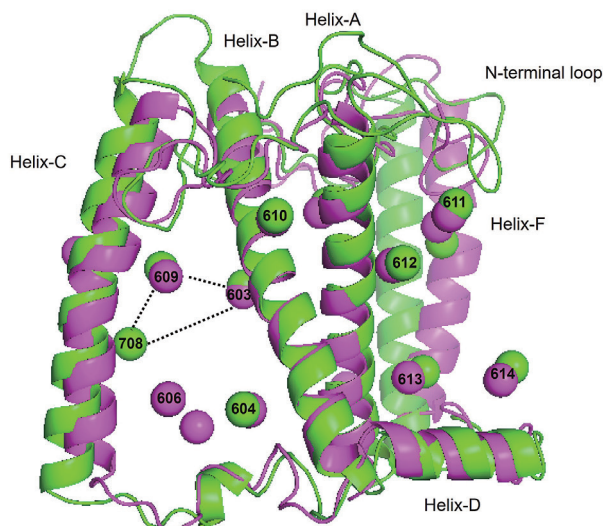


図6：Pc-frLHCと4回膜貫通型LHClサブユニットの構造比較
Pc-frLHC（緑、PDB：8HW1）とモデル緑藻クラミドモナスの4回膜貫通型LHCl、Cr_LHCA2（マゼンタ、PDB：7dz8）の構造モデルの比較。クロロフィルのマグネシウムをボールで示し、クロロフィルの番号を示した。遠赤色光吸収クロロフィルとしてアサインされた3量体クロロフィルを点線で示した。

*Trebouxia*属はナンキョクカワノリと同様に南極の土壤などから単離される他、地衣類の共生藻としても知られている。赤外線は水に吸収されるため水中では遠赤色光を光合成に利用するメリットが少ないと考えられる。祖先型の緑藻は水中で進化を遂げてきた。水深が深いほど、波長の長い光は届きにくく青や緑色の光が残る場合が多い。オゾン層が形成され、陸上環境に徐々に生物が進出し始めたころ、藻類の一部も浅瀬や陸上環境へ生育範囲を広げたと考えられる。浅瀬や陸上では、ナンキョクカワノリのコロニーのように局所的に可視光より赤外線が卓越するような微環境が形成されることがある。藻類マット内部や土壌中は可視光が制限されるが紫外線のダメージを避けられる点からメリットが大きかったと考えられる。ナンキョクカワノリが有するPc-frLHCはトレブクシア藻綱が陸上へ進出する過程で獲得されたのかもしれない。

4.3 Pc-frLHCの発現制御メカニズム

ナンキョクカワノリの培養株は白色蛍光灯下ではPc-frLHCをほとんど合成しないが、赤色LED（ピーク波長650 nm）下へ置くとPc-frLHCを合成する。RNA-seqによる発現変動解析では、4つのPc-frLHC遺伝子は赤色LED下に移動後、1週間ごろまで発現が増加し、その後発現量が減少した（Kosugi et al. 2024）。一方、蛋白質はSDS-PAGEで確認する限り発現が減少した後もすぐに分解されること

はなかった。Pc-frLHC遺伝子の共発現遺伝子を特定するため、Pc-frLHC遺伝子の発現の挙動と相関性がある遺伝子を検索したところ、複数の発現関連因子や輸送関連因子が抽出されたがPc-frLHC以外の光捕集蛋白質などの光合成蛋白質は含まれなかった。蛍光灯から赤色LED下へ移動させることによって、LHCIIやLHCI、核にコードされている光化学系反応中心複合体のサブユニットの発現は増加するが、Pc-frLHC遺伝子の発現が頭打ちになり減少を始めた後も、一様に増加を続けていることがわかった。このことは、Pc-frLHCは他の光合成蛋白質とは異なる転写制御を受けていることを示している。Pc-frLHC遺伝子の共発現遺伝子として抽出されたものの中には、青色光受容体として知られているクリプトクロムとフォトトリピンに関連遺伝子が複数含まれていた。最近の研究から、青色光がPc-frLHC遺伝子の発現を抑制する実験データが得られている。一方で、赤色/遠赤色光受容体として知られているフィトクロムの遺伝子はナンキョクカワノリのゲノム上には確認されなかった。ゲノムの網羅的解析から、トレブクシア藻綱を含む緑藻の多くのグループはフィトクロム遺伝子を持たないことが示唆されている。原始緑藻はフィトクロムを持つものが確認されており、シアノバクテリアと植物がフィトクロムを有することを考慮すると、緑藻の一部は進化の過程でフィトクロムの遺伝子を失った可能性が高い。長波長光が届きにくい海中ではフィトクロムを利用する必要性は少ないと思われるが、陸上化を果たした気生藻は大量の赤外線が降り注ぐ環境に晒されることになった。今後、赤外線が卓越する微環境へ適応する過程で獲得されたと考えられるPc-frLHC遺伝子の発現と翻訳制御機構を解明することにより、トレブクシア藻綱の陸上進出を成功させた適応進化の一端を明らかにすることができるとも考えられる。

5. おわりに

地衣類や蘚類が非常に優れた光阻害防御機構を持つのに対して、光損傷を受けやすいナンキョクカワノリは層状に重なったコロニーを形成することによって上層が遮光の役目を果たし、可視光が制限されるコロニー内部の環境において遠赤色光利用型光合成を発達させた。ナンキョクカワノリの遠赤色光による光化学系IIの励起現象は、コロニー全体の光合成効率と純生産量を増加することに役立っていると考えられ、南極におけるナンキョクカワノリの生育優位性を高めている可能性がある。ナンキョクカワノリや他の真核藻類に見られる遠赤色光利用型の光

合成システムがどのような進化の経路を経て獲得されたのかは興味深く、今後の生理学的、分子生物学的な研究の進展が期待される。

謝辞

ここで紹介したナンキョクカワノリに関する研究は、国立極地研究所の工藤 栄博士、伊村 智博士、中央大学の小池 裕幸博士、兵庫県立大学の菓子野 康浩博士、東北大学の柴田 穰博士、秋田県立大学の原 光二郎博士、東京農業大学の高市 真一博士、高エネルギー加速器研究機構の千田 俊哉博士、川崎 政人博士、安達 成彦博士（現筑波大学）、守屋 俊夫博士、国立遺伝学研究所の豊田 敦博士、島根大学の太谷 修司博士、岡山大学の高橋 裕一郎博士、小澤 真一郎博士、基礎生物学研究所の亀井 保博博士、西出 浩世博士、皆川 純博士、など多くの方との共同研究により進められました。研究の一部は、科研費 [24770030, 17K19431, 22K06380 (小杉), 19H03187 (柴田), JP23H02504 (菓子野), JP21H05040, JP23H04960 (皆川), JP16H06279 (PAGS)], 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) のBINDS [JP20am0101071, 22ama121001 (千田)] および住友財団 [151376 (小杉)] からの助成と、国立極地研究所 [31-29 (菓子野), AAS6006 (小杉)], 自然科学研究機構 基礎生物学研究所の共同研究支援 [15-604, 17-702, 18-506, 19-704 (小杉)], 自然科学研究機構 生命創成探究センター特別共同研究 [22-S6, 23-S7, 24-S4 (小杉)] およびアストロバイオロジーセンターの支援を得て行われました。図 1 で使用した微気象観測データは第60次, 61次, 62次, 63次日本南極地域観測隊の協力の元、取得されました。深く御礼申し上げます。

参考文献

- Allakhverdiev, S.I., Murata, N. (2004) Environmental stress inhibits the synthesis de novo of proteins involved in the photodamage–repair cycle of Photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta* 1657: 23–32.
- Asada, K. (1999) The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Molecul. Biol.* 50: 601–639.
- Bondarava, N., Gross, C.M., Mubarakshina, M., Golecki, J.R., Johnson, G.N., Krieger-Liszskay, A. (2010) Putative function of cytochrome b559 as a plastoquinol oxidase. *Physiol. Plant.* 138, 463–473.
- Broadly, P.A. (1996) Diversity, distribution and dispersal of Antarctic terrestrial algae, *Biodivers. Conserv.* 5: 1307–1335.
- Convey, P. (2006) Antarctic Terrestrial Ecosystems: Responses to Environmental Change. *Polarforschung* 75: 101–111.
- Dolganov, N. A., Bhaya, D., Grossman, A. R. (1995). Cyanobacterial protein with similarity to the chlorophyll *a/b* binding proteins of higher plants: evolution and regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92: 636–640. doi: 10.1073/pnas.92.2.636
- Döring, G., Renger, G. & Witt, H. T. (1969) Properties of the photoactive chlorophyll-aII in photosynthesis. *Z. Naturforsch.* 24: 1139–1143.
- Elrad, D., Niyogi, K. K., Grossman, A. R. (2002) A major light-harvesting polypeptide of photosystem II functions in thermal dissipation. *Plant Cell* 14: 1801–1816.
- Green, B. and Parson, W. W. (2003) *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis*. (Springer Netherlands, 2003)
- Heber, U., Lange, O.L. and Shuvalov, V.A. (2006) Conservation and dissipation of light energy as complementary processes: homoiohydric and poikilohydric autotrophs. *J. Exp. Bot.* 57: 1211–1223.
- Hakala, M., Tuominen, I., Keranen, M., Tyystjärvi, T., Tyystjärvi, E. (2005) Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of Photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1706: 68–80.
- Hakala, M., Rantamaki, S., Puputti, E.M., Tyystjärvi, T., Tyystjärvi, E. (2006) Photoinhibition of manganese enzymes: insights into the mechanism of photosystem II photoinhibition. *Journal Exp. Bot.* 57: 1809–1816.
- Holdgate, M.W. (1964) Terrestrial ecology in the maritime Antarctic. *Biologie Antarctique*, (Carrick R., Eds.) Hermann, Paris, pp 181–194.
- Holdgate, M.W. (1970) *Antarctic Ecology, Vol. 2*, Academic Press, London.
- Holzinger, A., Karsten, U., Lütz, C. and Wiencke, C. (2006) Ultrastructure and photosynthesis in the supralittoral green macroalga *Prasiola crispa* from Spitsbergen (Norway) under UV exposure. *Phycologia*. 45: 168–177.
- Ishii, A., Shan, J., Sheng, X., Kim, E., Watanabe, A., Yokono, M., et al. (2023). The photosystem I supercomplex from a primordial green alga *Ostreococcus tauri* harbors three light-harvesting complex trimers. *Elife* 12: e84488. doi: 10.7554/eLife.84488.sa2

- Jones, L.W., Kok, B. (1966) Photoinhibition of chloroplast reactions. I. Kinetics and action spectra. *Plant Physiol.* 41: 1037–1043.
- Jung, J., Kim, H.S. (1990) The chromophores as endogenous sensitizers involved in the photogeneration of singlet oxygen in spinach thylakoids. *Photochem. Photobiol.* 52: 1003–1009.
- Kok, B. (1956) On the inhibition of photosynthesis by intense light. *Biochim. Biophys. Acta* 21: 234–244.
- KoK, B. (1963) Significance of P700 as an intermediate in photosynthesis. *Proc. Int. Congr. Biochem.* 6: 73–81.
- Kozioł, A. G. et al. (2007) Tracing the evolution of the light-harvesting antennae in chlorophyll *a/b*-containing organisms. *Plant Physiol.* 143: 1802–1816.
- Kosugi, M., Katashima, Y., Aikawa, S., Tanabe, Y., Kudoh, S., Kashino, Y., Koike, H. and Satoh, K. (2010) Comparative study on the photosynthetic properties of *Prasiola* (chlorophyceae) and *Nostoc* (cyanophyceae) from Antarctic and non-Antarctic sites. *J. Phycol.* 46: 466–476.
- Kosugi, M., Maruo, F., Inoue, T., Kurosawa, N., Kawamata, A., Koike, H., Kamei, Y., Kudoh, S., Imura, S. (2018) A comparative study of wavelength-dependent photoinactivation in photosystem II of drought-tolerant photosynthetic organisms in Antarctica and the potential risks of photoinhibition in the habitat. *Ann. Bot.* 122: 1263–1278
- 小杉真貴子, 小池裕幸 (2019) 南極の陸生光合成生物における光化学系 II の光不活性化波長依存性と生育環境における光阻害の潜在的リスク *光合成研究* 29 (1): 29–38.
- Kosugi, M., Ozawa, S.-I., Takahashi, Y., Kamei, Y., Itoh, S., Kudoh, S., et al. (2020) Red-shifted chlorophyll *a* bands allow uphill energy transfer to photosystem II reaction centers in an aerial green alga, *Prasiola crista*, harvested in Antarctica. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg* 1861: 148139.
- 小杉真貴子, 伊藤美空, 小池裕幸 (2020) 南極露岩域に生育するナンキョクカワノリの光合成適応戦略. *光合成研究* 30 (1): 19–25.
- Kosugi, M., Kawasaki, M., Shibata, Y., Hara, K., Takaichi, S., Moriya, T., et al. (2023) Uphill energy transfer mechanism for photosynthesis in an Antarctic alga. *Nat. Commun.* 14: 730.
- Kosugi M, Ohtani S, Hara K, Toyoda A, Nishide H, Ozawa SI, Takahashi Y, Kashino Y, Kudoh S, Koike H, Minagawa J. (2024) Characterization of the far-red light absorbing light-harvesting chlorophyll *a/b* binding complex, a derivative of the distinctive Lhca gene family in green algae. *Front Plant Sci.* 15:1409116.
- Laisk, A., Oja, V., Eichelmann, H. & Dall'Osto, L. (2014) Action spectra of photosystems II and I and quantum yield of photosynthesis in leaves in state I. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 1837: 315–325.
- Lemieux, C., Otis, C., Turmel, M. (2014). Chloroplast phylogenomic analysis resolves deep-level relationships within the green algal class Trebouxiophyceae. *BMC Evol. Biol.* 14: 211. doi: 10.1186/s12862-014-0211-2
- Lud, D., Buma, A.G.J., Van de Poll, W., Moerdijk, T.C.W. and Huiskes, A.H.L. (2001) DNA damage and photosynthetic performance in the Antarctic terrestrial alga *Prasiola crista* ssp. *Antarctica* (Chlorophyta) under manipulated UV-B radiation. *J. Phycol.* 37: 459–467.
- Ohnishi, N., Allakhverdiev, S.I., Takahashi, S., Higashi, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., Murata, N. (2005) Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: step 1 occurs at the oxygen-evolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. *Biochemistry* 44: 8494–8499.
- Pérez-Ortega, S., Ríos Ade, L., Crespo, A. and Sancho, L.G. (2010) Symbiotic lifestyle and phylogenetic relationships of the bionts of *Mastodia tessellata* (Ascomycota, incertae sedis). *Am. J. Bot.* 97: 738–752.
- Moniz, M.B., Rindi, F., Novis, P.M., Broady, P.A. and Guiry, M.D. (2012) Molecular phylogeny of Antarctic *Prasiola* (Prasiolales, Trebouxiophyceae) reveals extensive cryptic diversity. *J. Phycol.* 48: 940–955.
- Minagawa, J., Takahashi, Y. (2004). Structure, function and assembly of Photosystem II and its light-harvesting proteins. *Photosynth Res.* 82: 241–263.
- Nishiyama, Y., Yamamoto, H., Allakhverdiev, S.I., Inaba, M., Yokota, A., Murata, N. (2001) Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery. *EMBO Journal* 20: 5587–5594.
- Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S.I., Yamamoto, H., Hayashi, H., Murata, N. (2004) Singlet oxygen inhibits the repair of photosystem II by suppressing the translation elongation of the D1 protein in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry* 43: 11321–11330.
- Sarvikas, P., Hakala, M., Patsikka, E., Tyystjärvi, T., Tyystjärvi, E. (2006) Action spectrum of photoinhibition in leaves of wild type and *npq1-2* and *npq4-1* mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 47: 391–400.
- Santabarbara, S., Neverov, K.V., Garlaschi, F.M., Zucchelli, G., Jennings, R.C. (2001) Involvement of uncoupled antenna

- chlorophylls in photoinhibition in thylakoids. *FEBS Lett.* 491: 109–113
- Satoh, K., Hirai, M., Nishio, J., Yamaji, Y., Kashino, Y. and Koike, H. (2002) Recovery of photosynthetic systems during rewetting is quite rapid in a terrestrial cyanobacterium, *Nostoc commune*. *Plant Cell Physiol.* 43: 170–176.
- Sonoike, K. (2011) Photoinhibition of photosystem I. *Physiol. Plantarum* 142: 56–64.
- Sonoike, K., Terashima, I., Iwaki, M., Itoh, S. (1995) Destruction of photosystem I iron–sulfur centers in leaves of *Cucumis sativus* L. by weak illumination at chilling temperatures. *FEBS Lett.* 362: 235–238.
- Stauber, E. J., Fink, A., Markert, C., Kruse, O., Johanningmeier, U., Hippler, M. (2003) Proteomics of *Chlamydomonas reinhardtii* light-harvesting proteins. *Eukaryotic Cell* 2: 978–994. doi: 10.1128/EC.2.5.978-994.2003
- Takahashi, M., Asada, K. (1988) Superoxide production in aprotic interior of chloroplast thylakoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 267: 714–722
- Terauds, A., Chown, S.L., Morgan, F., Peat, H.J., Watts, D.J., Keys, H., Convey, P. and Bergstrom, D.M. (2012) Conservation biogeography of the Antarctic. *Diversity and Distributions* 18: 726–741.
- Terauds, A. and Lee, J.R. (2016) Antarctic biogeography revisited: updating the Antarctic Conservation Biogeographic Regions. *Diversity and Distributions* 22: 836–840.
- Terashima, I., Funayama, S., Sonoike, K. (1994) The site of photoinhibition in leaves of *Cucumis sativus* L. at low temperatures is photosystem I, not photosystem II. *Planta* 193: 300–306.
- Tokutsu, R., Teramoto, H., Takahashi, Y., Ono, T., Minagawa, J. (2004). The light-harvesting complex of photosystem I in *Chlamydomonas reinhardtii*: protein composition, gene structures and phylogenetic implications. *Plant Cell Physiol.* 45: 138–145.
- Tyystjärvi, T., Tuominen, I., Herranen, M., Aro, E.M., Tyystjärvi, E. (2002) Action spectrum of *psbA* gene transcription is similar to that of photoinhibition in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Lett.* 516: 167–171.
- Tyystjärvi, E., Mäenpää, P., Aro, E.M. (1994) Mathematical modelling of photoinhibition and Photosystem II repair cycle. I. Photoinhibition and D1 protein degradation in vitro and in the absence of chloroplast protein synthesis in vivo. *Photosyn. Res.* 41: 439–449.
- Tyystjärvi, E., Aro, E.M. (1996) The rate constant of photoinhibition, measured in lincomycin-treated leaves, is directly proportional to light intensity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93: 2213–2218.
- Wünschmann, G., Brand, J.J. (1992) Rapid turnover of a component required for photosynthesis explains temperature dependence and kinetics of photoinhibition in a cyanobacterium, *Synechococcus* 6301. *Planta* 186: 426–433
- Zulfugarov, I.S., Tovuu, A., Eu, Y.J., Dogsom, B., Poudyal, R.S., Nath, K., Hall, M., Banerjee, M., Yoon, U.C., Moon, Y.H., An, G., Jansson, S., Lee, C.H. (2014) Production of superoxide from Photosystem II in a rice (*Oryza sativa* L.) mutant lacking PsbS. *BMC Plant Biol.* 14: 242.