

学位論文の要約

論文題目 光合成能の喪失に伴う葉緑体ゲノムの縮退と機能の喪失に関する新たな知見

申請者 加 山 基

論文要約

葉緑体は、陸上植物や藻類(シアノバクテリアを除く)に見られるオルガネであり、光合成の場である。葉緑体は、光合成以外にもアミノ酸合成、チアゾール合成、プラストキノン合成、クロロフィル合成・分解、カロテノイド合成、リポ酸合成、硫黄同化、窒素同化、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド合成、鉄硫黄クラスター合成、リボフラビン合成、脂肪酸合成、チアゾール合成、テルペノイド合成、炭酸固定、解糖など、さまざまな反応を担っている。

陸上植物や藻類が、独立栄養あるいは混合栄養によって生育する場合、葉緑体の光合成能は必須である。しかし、一部の陸上植物や藻類には、光合成能を喪失し、従属栄養によって生育する進化が見られる。このような生物を「非光合成生物」とよぶ。多くの場合、非光合成生物は光合成能を失った後も葉緑体および葉緑体ゲノムを保持している。この葉緑体を「非光合成性葉緑体」とよぶ。非光合成性葉緑体には光合成の電子伝達系が存在せず、また、葉緑体ゲノムには、光合成に関する遺伝子が欠落している。その一方で、非光合成性葉緑体は、光合成能の喪失後も通常の葉緑体が担っているいくつかの反応の場として機能していることが知られている。

非光合成性葉緑体に残されている反応は、株によって異なっている。脂肪酸合成やヘム合成が残されることが多いものの、アミノ酸合成やカロテノイド合成などが残されることもある。残されている反応には、通常の葉緑体における生合成過程が途中までしかないもの、酸化還元反応に必要な電子供与体(還元剤)や電子受容体(酸化剤)がないもの、主たる反応が欠失しているにもかかわらずその反応に関わっていた電子伝達物質が合成されているものなど多様である。非光合成性葉緑体に残されている反応を明らかにすることは、光合成能の喪失にともなう葉緑体ゲノムの縮退、それに伴って本来もっていたはずの機能の変化、ゲノム縮退の進化的制約などを考えるうえで、非常に重要である。

本研究では、いずれも非光合成生物である、不等毛藻類 *Pteridomonas danica*、緑藻(狭義) *Chlamydomonas* NrCl902 株、不等毛藻類 *Nitzschia* sp. KQ18 の葉緑体ゲノムの解析あるいはトランスクリプトーム解析、生理・生化学的実験から、それぞれの非光合成性葉緑体のゲノム縮退状態を明らかにするとともに、葉緑体に残された反応を類推することによって、葉緑体ゲノム消失の進化的制約に

関する新たな仮説の提唱、葉緑体ゲノムの縮退にともなう反応の変化、葉緑体ゲノムの縮退によって見えてきたクロロフィル類の新たな機能を明らかにした。

第2章は、非光合成性の *Pteridomonas danica* (ディクチオカ藻類、不等毛藻類) 2株の葉緑体ゲノムを解析し、葉緑体に残されている反応の類推から、*P. danica* における葉緑体ゲノムの消失に対する新たな進化的制約について考察したものである。新規 *Pteridomonas* 属の葉緑体ゲノムにはハウスキーピング遺伝子のみがコードされ、葉緑体における機能は全て核ゲノムにコードされていた。もう一株の *P. danica* の葉緑体ゲノムにはヘム生合成、解糖、ペントースリン酸経路が残されていた。これらはいずれも、NADPH を利用する代謝系であった。先行研究において *P. danica* の非光合成性葉緑体には炭酸固定に関わる RuBisCO の *rbcL* 遺伝子が検出されたと報告されているが、本研究で解析した *Pteridomonas* 属 2株には検出されなかった。このことは先行研究で解析された *P. danica* に比べ、*Pteridomonas* 属 2株の葉緑体ゲノムの縮退が、より進行していることを示唆した。また、鉄硫黄クラスター、フラボドキシン、プラストキノンなどの電子伝達体が喪失していた。これまで、Alveolata 類の非光合成性葉緑体ゲノムの解析から、鉄硫黄クラスターとなる鉄を供給する Suf を保持することが、葉緑体ゲノムの消失に対する進化的制約であると提案されていた。しかし、本研究結果は、この提案とは矛盾した。むしろ、*P. danica* における葉緑体ゲノムの消失に対する進化的制約は *trnE* 遺伝子であり、グルタミル tRNA をヘム生合成経路の基質として提供する必要があるためではないかと考えられた。

第3章は、緑藻 Chlamydomonad NrC1902 (ボルボクス目、緑色植物) のトランスクリプトームデータから類推されたプラストキノンの存在を確かめ、その必要性を生育によって評価することによって、これまでに知られていなかった非光合成性葉緑体のゲノム縮退パターンを明らかにしたものである。Chlamydomonad NrC1902 のトランスクリプトームデータから、プラストキノン合成能を保持している可能性が示唆された。プラストキノンは、光化学系 II において電子を受け取り、チトクロム *b6/f* に電子を渡す Q サイクルの重要な物質である。これまで、非光合成性葉緑体においては、保持されているものはなかった。さらに HPLC-MS/MS 分析によって、プラストキノンが存在していることを明らかにした。トランスクリプトームデータからは、カロテノイド合成、NADH dehydrogenase、plastid terminal oxidase が検出されたことから、プラストキノンを経た電子の授受の場として葉緑体を利用していることが考えられた。そこで、プラストキノン生合成酵素に対して一時的な RNA 干渉ノックダウンをに対して行ったところ、非ノックダウン株と比べ、細胞の増殖率が著しく低下した。したがって、Chlamydomonad NrC1902 のプラストキノンは、非光合成性葉緑体において、生存に必要な電子の授受もしくは酸化還元反応に関わっていることが示さ

れた。プラストキンの合成反応の保持していることは、全く新しいゲノム縮退パターンであることが分かった。

第4章では、珪藻 *Nitzschia* sp. KQ18 (珪藻、不等毛藻類) の非光合成性葉緑体ゲノムの解析により、本来不必要と考えられるクロロフィルが合成されている可能性を類推し、実際に生産されていることを確かめることによって、非光合成性珪藻におけるクロロフィルの新たな役割について考察した。*Nitzschia* sp. KQ18 の葉緑体ゲノムのサイズは非光合成珪藻内で最も小さいが、コードされている遺伝子数は数個多く保存されていた。その中に、クロロフィル合成に関与する *chlI* 遺伝子が保存されていることを発見した。そこで、トランスクリプトーム解析を行ったところ、クロロフィル合成に必要な Mg-キラターゼ (*chlH*, *chlD*, *chlI*)、*por*、*chlG* が発現していることが明らかになったことから、少なくともクロロフィル a 合成の中間物質までのクロロフィルが生産されていることが示唆された。そこで、HPLC 解析によってクロロフィル類の検出を試みたところ、既報のクロロフィル類は全て検出されなかったものの、新奇クロロフィル類 Mg-Protoporphyrin IX dimethyl ester が検出され、*Nitzschia* sp. KQ18 のクロロフィル合成が機能していることが明らかになった。このことは、*Nitzschia* sp. KQ18 の葉緑体の縮退進化においては、光合成電子伝達系に比べクロロフィル生合成経路の進化的制約がより強いことを示唆し、そのことは、クロロフィルに光合成のアンテナ機能以外の重要な役割があることを示唆するものであった。

本研究で3種の生物の非光合成性葉緑体のゲノムと機能を明らかにした。その結果、同属同種内でも葉緑体ゲノムの組成や機能が異なり、プラストキノンやクロロフィル類の遺伝子を保持する生物は様々な系統に点在し分布していた。今まで、非光合成生物の研究は一族一種のゲノム解析が主流である。そのため、同種内もしくは生物間で起きる各生物の系統の進化的、生態学的背景、さらに様々な予測不可能な出来事に関しては議論できない。そのため、葉緑体喪失進化を議論するためには、同属同種の個体間のゲノム解析を行い、議論する必要があることが明らかになってきた。