

プロテオロドプシンを有する海洋細菌の光エネルギー利用と代謝メカニズム Light-induced transcriptional responses of proteorhodopsin-containing marine bacteria

木村 浩之^{1*}

KIMURA, Hiroyuki^{1*}

¹ 静岡大学 理学部 地球科学科

¹ Faculty of Science, Shizuoka University

プロテオロドプシンは、緑色または青色の光を吸収して水素イオンを細胞外に排出する膜タンパクである。プロテオロドプシンを有する海洋細菌は有光層にてプロトンポンプを作動させることにより、細胞の内側と外側に水素イオンの濃度勾配を作り出す。そして、膜タンパクの一種である ATP 合成タンパクを經由して水素イオンを細胞内に取り込むことにより、生物のエネルギー通貨として知られる ATP を合成する。近年の海洋細菌を対象としたメタゲノム解析により、海洋の有光層に生息する多くの従属栄養細菌がプロテオロドプシンによる光栄養代謝を持つことが明らかとなった。また、外洋などの貧栄養海域では、プロテオロドプシンによる光栄養代謝が海洋細菌の増殖速度およびバイオマスを増加させることが報告された。しかし、プロテオロドプシンを有する海洋細菌の細胞内における代謝メカニズムについては、ほとんど報告例がなかった。

そこで、発表者らはプロテオロドプシンを有する海洋細菌を貧栄養培地にて明暗それぞれの条件で培養した。そして、次世代シーケンサーを用いて約 3,000 種類の遺伝子をコードした全 RNA の発現パターンを解析した。その結果、明条件下ではプロテオロドプシンおよびレチナル合成酵素群、光センサータンパク、二次伝達シグナル、電子伝達系タンパクが有意に多く発現していることを明らかにした。さらに、タンパク阻害剤を用いた海洋細菌の培養により、光環境での細胞増殖において電子伝達系タンパク (NADH-quinone oxidoreductase : NQR) を經由したナトリウムポンプの重要性を報告した。

本発表では、これまでのプロテオロドプシンを有する海洋細菌に関する研究を紹介すると共に、プロテオロドプシンによる光エネルギー利用と代謝メカニズムについて解説する。

[参考文献]

Gomez-Consarnau et al., Nature 445: 210-213, 2007.

Kimura et al., The ISME Journal 5: 1641-1651, 2011.

キーワード: 海洋細菌, プロテオロドプシン, プロトンポンプ, 光従属栄養, トランスクリプトーム

Keywords: marine bacteria, proteorhodopsin, proton pump, photoheterotrophy, transcriptomics

海洋性酸素非発生型好気性光合成細菌の光従属栄養性 Photoheterotrophy of marine aerobic anoxygenic phototrophic bacteria

佐藤 由季^{1*}, 浜崎恒二², 鈴木光次³
SATO, Yuki^{1*}, Koji Hamasaki², Koji Suzuki³

¹北海道大学大学院環境科学院, ²東京大学大気海洋研究所, ³北海道大学大学院地球環境科学研究院

¹Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, ²Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo, ³Faculty of Environmental Earth Science, Hokkaido University

Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria (AAnPB) containing the photosynthetic pigment bacteriochlorophyll (BChl) *a* can grow phototrophically and/or heterotrophically. Therefore, their metabolic performance is called photoheterotrophy. Recently, AAnPB and other photoheterotrophs including proteorhodopsin-containing bacteria and cyanobacterium *Prochlorococcus* have been classified into a new functional group in terms of energy acquisition. Although it has become clear the ubiquitous distributions of AAnPB in the upper oceans with their high spatiotemporal variations, what controls their population dynamics is still an open question. Based on the intriguing AAnPB ecophysiological characteristics, there is a hypothesis that their photoheterotrophy could be beneficial in nutrient-poor environments such as oligotrophic oceanic waters. However, this hypothesis has not yet been experimentally verified well. Therefore, we investigated the photosynthetic responses of a coastal *Roseobacter* strain OBYS 0001 of marine AAnPB to an organic substrate limitation. In the batch cultures at 20°C, the growth curve and cellular BChl *a* concentration of the substrate-limited strain grown in 1/100 ZoBell 2216E medium kept constant, while those in the undiluted medium increased with time. Variable BChl *a* fluorescence measurements revealed that changes over time in the functional absorption cross-section (σ) of the photosystem for the strain were little distinct between the two conditions. However, the maximum photochemical quantum efficiencies (F_v/F_m) of the photosystem under the substrate-limited condition were significantly higher than those in the substrate-rich circumstance. These results suggested that AAnPB can enhance their photosynthetic activity with increasing the photochemical conversion efficiency without changing their antenna size under organic substrate limitations. In this presentation, we would like to emphasize the significance of photoheterotrophy for AAnPB in the oceans using our latest results and the past literatures.

キーワード: 酸素非発生型好気性光合成細菌, バクテリオクロロフィル, 光従属栄養, 可変蛍光

Keywords: aerobic anoxygenic phototrophic bacteria, bacteriochlorophyll, photoheterotrophy, variable fluorescence

温泉微生物マットから発見された新奇な光合成細菌 *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum* が持つ光合成器官

Characterization of photosynthetic apparatuses from a new aerobic chlorophototroph discovered in microbial mats.

塚谷 祐介^{1*}, ROMBERGER, Steven P.², GOLBECK, John H.², BRYANT, Donald A.²
TSUKATANI, Yusuke^{1*}, ROMBERGER, Steven P.², GOLBECK, John H.², BRYANT, Donald A.²

¹立命館大学 総合理工学研究機構, ²ペンシルベニア州立大学・生化学分子生物学科

¹Dept. Biosci. Biotechnol., Ritsumeikan University, ²Department of Biochemistry and Molecular Biology, The Pennsylvania State University

多くの光合成細菌は、嫌気的環境では光合成により生育し、好気的環境では生育できないかあるいは光合成以外の方法、例えば呼吸によって生育する。特に光化学系 I 型反応中心 (RC-1) に依存して生育する光合成細菌は、既知の全種が絶対嫌気性であり、これは酸素存在下では RC-1 内の鉄硫黄クラスターが損傷してしまうためである。

本研究で用いた *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum* はイエローストーン国立公園の温泉微生物マットから発見された新規な光合成細菌である。この微生物マットはシアノバクテリアの活動によって酸素飽和状態であるにもかかわらず、*Ca. C. thermophilum* は RC-1 をコードする遺伝子 *pscA* を持つことがメタゲノム解析の結果から明らかとなった。つまり、本菌は酸素存在下でも RC-1 を用いて光合成反応を行うと推定され、その新奇性の高さから 2007 年に Science 誌に掲載された。*Ca. C. thermophilum* が RC-1 や、光捕集複合体であるクロロソームと FMO 蛋白質を持つ、ということはメタゲノム解析の結果から推定はされていたが、生化学的な証明はなされておらず、これらの蛋白質複合体の分光学的な性質や実際に酸素存在下でも機能しているのか、といったことは未知のままであった。

本発表では、まず簡単に *Ca. C. thermophilum* の発見経緯や何が面白いのかといった点について簡単に紹介した後に、この新規細菌から RC-1 や光捕集複合体を実際に精製して分光学的な解析をすることで分かった新たな性質を述べる。本研究の結果、この新規光合成細菌の RC-1 は、酸素存在下でも光活性を有することが分かった。さらに酸素耐性 RC-1 が、カロテノイドを含有する新規サブユニットを結合していること、および電子伝達コファクターとして通常の Mg-バクテリオクロロフィル-a だけでなく Zn-バクテリオクロロフィル-a を持つことが明らかとなった。光捕集複合体クロロソームを精製したところ、*Ca. C. thermophilum* は好気性細菌であるにもかかわらず、クロロソーム内の光エネルギー移動 (蛍光強度) が酸素存在下では抑えられていることが分かった。この点は RC-1 とは異なり、つまりクロロソームは本菌の生存環境である温泉微生物マットが比較的嫌気性条件の時に機能していると考えられる。他の生化学的な解析とも合わせて、各光合成器官の特徴が実際の生育環境とどのようにリンクしているのか議論していきたい。

クロロフィル d 含有シアノバクテリアの分布と多様性 Distribution and diversity of chlorophyll d containing cyanobacteria

大久保 智司^{1*}, 宮下 英明¹

OHKUBO, Satoshi^{1*}, MIYASHITA, Hideaki¹

¹ 京大院 人間・環境

¹ Grad Sch of Human Env Stud, Kyoto Univ

光合成は、クロロフィルによって吸収した光エネルギーを化学エネルギーに変換する反応であり、地球上の一次生産の大部分をまかなっている。植物、藻類、シアノバクテリアを含むほとんど全ての酸素発生型光合成生物はクロロフィル(Chl) a を主要色素としてもち、波長 400-700 nm の光(光合成有効放射: PAR)を吸収して光合成を行う。これに対し、*Acaryochloris* 属のシアノバクテリアは唯一 Chl d を主要色素としてもち、PARに加えて波長 700-750 nm の遠赤色光も光合成に利用できる。しかし、これまで地球上の光合成一次生産は主に Chl a と光合成有効放射による光合成を基に考えられており、Chl d による光合成については全く考慮されてこなかった。*Acaryochloris* spp. は発見当初ホヤの共生生物と見なされており、その分布や存在量についてはほとんど明らかになっていなかった。そこで本研究では、分子生物学的手法を用いて *Acaryochloris* spp. の分布と存在量、多様性を明らかにすることを目的とした。

まず、シアノバクテリア特異的プライマーを用いた PCR-DGGE 法により、海藻の表面から *Acaryochloris* spp. を検出する方法を確立した。しかしこの方法では、群体ボヤ内に分布する *Acaryochloris* spp. を検出することができなかったため、*Acaryochloris* 特異的プライマーを用いた PCR-DGGE 法を開発した。そこで、パラオ沿岸で採取した群体ボヤとカイメン、および日本と南アフリカの沿岸で採取した海藻を対象に、それらに付着する *Acaryochloris* spp. の有無とその遺伝的多様性を先の方法を用いて解析した。また、日本沿岸で採取した石、砂および海水についても同様の解析をおこなった。その結果、全てのサンプルから複数の遺伝子型の *Acaryochloris* spp. が検出された。この結果は、*Acaryochloris* spp. が日本沿岸に広く分布し、様々な基質に付着して生活していることを示唆している。

さらに、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いた Chl d の検出・定量法を開発し、日本沿岸および南アフリカ沿岸で採取した海藻について Chl d の検出と定量をおこなった。ほとんどの海藻から、Chl a の 0.1-13%、平均して約 1% の Chl d が検出されており、*Acaryochloris* spp. が藻場の海藻と同程度の純一次生産の寄与をしている可能性が示唆された。

以上の結果から、*Acaryochloris* spp. は発見当初考えられていたような共生生物ではなく、少なくとも熱帯から亜寒帯の沿岸域に広く分布する付着生物であることが明らかとなった。さらに、海藻には Chl d が Chl a の約 1% 存在しており、Chl d が藻場の一次生産に同程度寄与していることが示唆された。したがって、海洋の炭素サイクルにおいてこれまで無視されてきた Chl d の寄与を、今後考慮に入れていく必要があると考えられる。

キーワード: クロロフィル d , シアノバクテリア

Keywords: chlorophyll d , cyanobacteria

海洋ピコ植物プランクトンパルマ藻の性状と親潮域における動態 Isolation and characterization of Parmales and its dynamics in the Oyashio region, western North Pacific

一宮 睦雄^{1*}, 桑田 晃²

ICHINOMIYA, Mutsuo^{1*}, Akira Kuwata²

¹ 熊本県立大学, ² 水産総合研究センター 東北区水産研究所

¹Prefectural University of Kumamoto, ²Tohoku National Fisheries Research Institute

パルマ藻は細胞サイズが2-5 μm 、5-8枚の二酸化ケイ素(シリカ)のプレートで覆われた海洋ピコ植物プランクトンである。海洋で最も重要な一次生産者である珪藻も同様にシリカの殻を形成することから、パルマ藻は珪藻の起源や繁殖機構を理解する上で鍵となる生物群であるとして重要視されてきた。しかし、パルマ藻は培養が成功していないことから、珪藻との類縁関係、生態および生活史は不明のままであった。

我々はケイ素のトレーサーである蛍光色素を用いてパルマ藻のプレートを染色する手法を駆使することにより、親潮域に分布するパルマ藻 *Triparma laevis* の培養株の確立に世界で初めて成功した。確立された培養株を用いて分子系統解析を行った結果、パルマ藻は無殻の鞭毛藻であり珪藻の姉妹群として知られているボリド藻のクレード内に位置することが明らかになった。このことは、パルマ藻とボリド藻はシリカ形成世代と無殻鞭毛世代の両方を持つ同一の生物群であることを示唆している。珪藻の中でも原始的な中心珪藻においても、シリカの殻を持つ栄養細胞と、無殻で鞭毛を持つ精子がみられることから、珪藻がパルマ藻-ボリド藻の共通祖先から進化したと仮説を立てている。

パルマ藻と珪藻との進化的な関係を解明するためには、両者の類似点および相違点を明らかにしていくことが重要である。パルマ藻は亜寒帯から極域の冷水域で現存量が高いことが知られているものの、季節変動や生活史などの生態学的な知見はほとんどない。そこで、パルマ藻および珪藻が多く分布する親潮域において、パルマ藻群集の現存量と種組成の季節変動を調査した。

2009年3月、5月、7月および10月において、北海道沖親潮域定線の水深0-100mの7層から試料を採集し、パルマ藻の種同定および細胞数の計数を行った。3月および5月では、多くの定点で鉛直混合が起こっており、水柱中を通して10

以下の低水温であった。パルマ藻現存量は10以下の定点で高くなっていったものの、分布深度に一定の傾向は見られなかった。一方、7月および10月には表層の水温は10以上となり、10-40mに顕著な水温躍層が観察された。パルマ藻は表層にはほとんど見られず、躍層以深に分布していた。7月および10月には表層のパルマ藻現存量が減少した結果、パルマ藻現存量は3月および5月よりも低くなった。パルマ藻群集では、ほとんどの季節および定点で *Triparma laevis* が最も優占しており、種組成は季節的に大きく変化しないことが明らかとなった。このことは、優占種が季節的に遷移していく珪藻とは異なるパルマ藻の特徴であると言える。以上の結果、*T. laevis* を中心としたパルマ藻群集は、低水温期の冬季 春季にかけて表層で増殖し、夏季 秋季の成層期には水温躍層以深で個体群を維持することが明らかとなった。躍層以深の個体群は冬季 春季に表層で増殖するための初期細胞 (seed population) としての機能を果たしていると考えられる。

キーワード: パルマ藻, 珪藻, ボリド藻, ピコ植物プランクトン, 親潮域

Keywords: Parmales, diatoms, bolidophytes, pico-phytoplankton, Oyashio region