

藻類の光合成系で機能するタンパク質の系統性と進化

三室 守

基礎生物学研究所 (444 岡崎市明大寺町西郷中 38)

Mamoru Mimuro 1996. Phylogeny and evolution of proteins functioning in algal photosynthetic systems. Jpn. J. Phycol. (Sôri) 44: 75-86.

Phylogeny of several kinds of proteins functioning in algal photosynthetic systems is discussed on the basis of primary structure and pigment composition. A relationship of antenna pigment-protein complexes and reaction center (RC) complexes among different phyla is the primary point of discussion. The RC complexes are strictly preserved in algae, and this is, in principle, also the case for antenna proteins, however antenna pigments show diversity, which results in a difference in apparent color. An appearance of cyanobacteria is discontinuous step for the evolution of photosynthetic organisms, and some processes to appearance of cyanobacteria are discussed. Finally, the origin of two kinds of reaction center complexes found in algae was searched in photosynthetic bacteria, and the phylogeny and continuity of reaction center complexes and antenna polypeptides is discussed between algae and photosynthetic bacteria.

1. 藻類の系統性

光合成は植物の最も基本的な代謝反応である。その反応機構は、ラン藻から高等植物に至るまで基本的には同じ機構が働いていると考えられている。したがって、この反応系で観察される変異（光合成色素の変化など）は、分類群の指標とされるほどである。図1に現在受け入れられている藻類から高等植物に至る系統性を示す。

ラン藻を起源として、紅藻、クリプト藻、渦鞭毛藻、黄色藻類、緑色藻類に分類されている。これらの系統性を光合成色素の分布を基に考えると、原核生物であるラン藻は、クロロフィル(Chl) *a*とフィコビリナンパク質を色素として持つ。Chl *a*と*b*を持つプロクロロムも原核生物である。ラン藻は真核生物との共生により紅藻へと進化し、紅藻が総ての真核光合成生物の基になったと考えられる。紅藻はラン藻と同じ光合成色素組成を持つ。紅藻と同じくフィコビルンを持つ藻類としてクリプト藻が存在する。クリプト藻はChl *c*を同時に持つようになった。さらに、紅藻を基に、Chl *a*, Chl *c*, 種に特徴的なカロテノイドを持つ黄色藻類, Chl *a*,

Chl *b*, ルテインを持つ緑色藻類, が独自の方向に進化した。これらとは異なる特異な系統を持つものとして渦鞭毛藻がある。これは、葉緑体を持たず摂餌によりエネルギーを得る種から、他の生物との強い共生性を完了させている種まで非常に幅の広い生物群である。Chl *a*, Chl *c*の他に特徴的な光合成色素、ペリディニンというカロテノイドを含んでいる（後述）。

こうした藻類の発展段階では、原核-真核, 真核-真核の藻類の間での共生関係が、種の多様性, 進化のひとつの原動力になっていることが知られている(原1995)。葉緑体を取り囲む膜系の統一的な解釈には、真核生物の間の共生は大きな説得力を持つ。こうした過程では、光合成反応を担う機能タンパク質も系統的に分布することが容易に想像できる。そこでこの稿では、(1) 藻類の光合成で機能するタンパク質の系統性を探り、その起源を光合成細菌に求める、(2) ラン藻(ラン色細菌)の出現の意味を、藻類という観点ではなく光合成生物という観点から統一的に思考する、という点を中心に解説していく。

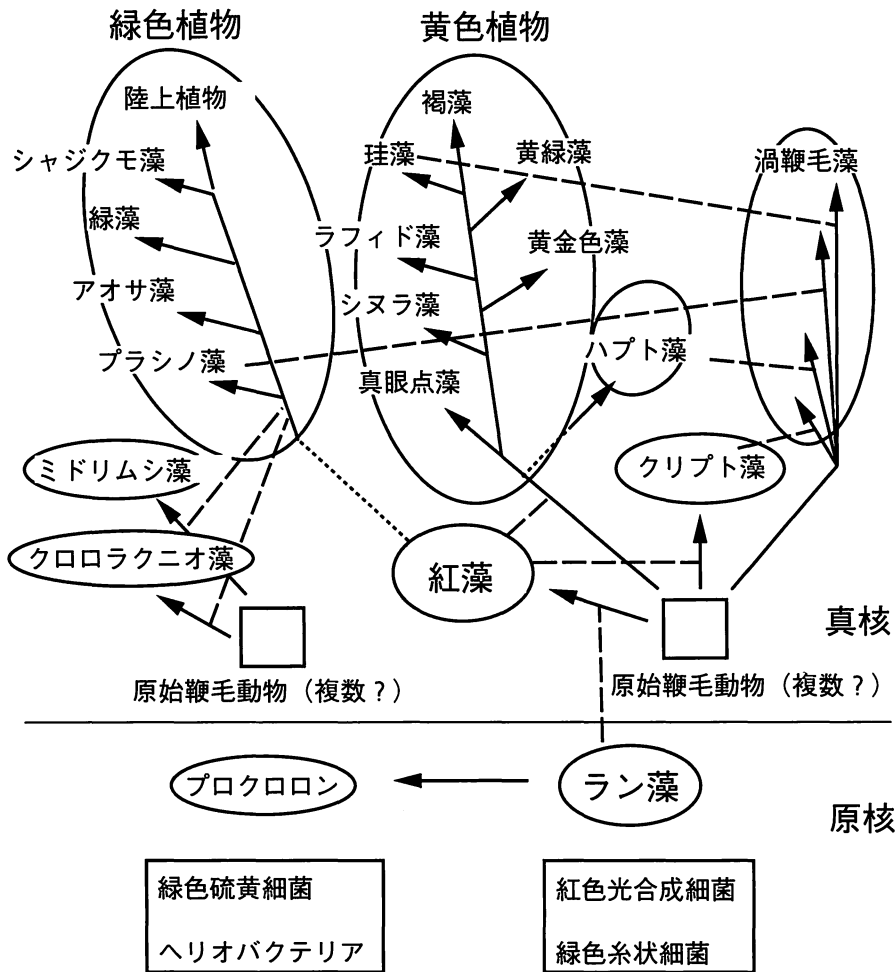


図1 藻類の系統性. 神戸大学, 川井博士によって作成された図を使用。点線は系統的な関係を, 破線は共生が起こった事を示す。

2. 光合成反応系と機能タンパク質

光合成反応系の構成, 基本的な反応は次のように理解されている (図2)。反応はチラコイド膜上に配置された構成要素によって担われる。光合成色素により吸収された光エネルギーは, 色素の間を受け渡され, 最終的に反応中心分子へ集められる。反応中心では, 光合成反応の最も重要な光電変換反応が起こり, 光エネルギーは電気エネルギーへと変えられる。藻類などの酸素を発生する光合成系では, 2種類の反応中心が存在し, 互いに協調的に働くことによって反応を進める。光化学系2反応中心 (PS2RC) は, 水を酸化する

ことによって電子を供給する。光化学系1反応中心 (PS1RC) は, NADP⁺を還元する。反応中心で駆動された電子の流れは, 電子伝達成分 (シトクロム b₆-f) を通る間にプロトン移送と共役して, 膜の両面でのプロトンの濃度勾配を作る。これがATP合成に用いられる。生成したNADPHとATPはCO₂固定に使われる。こうした基本的な構成成分の中で, 電子伝達に関与する成分は, ラン藻から高等植物までの間でほとんど変化していないことが知られている。電子伝達系が高度に完成したシステムであり, 許される変異の幅が小さかった, と理解できる。一方, 光を集めるアンテナ系では色素の変異が知られている。そこで, このふた

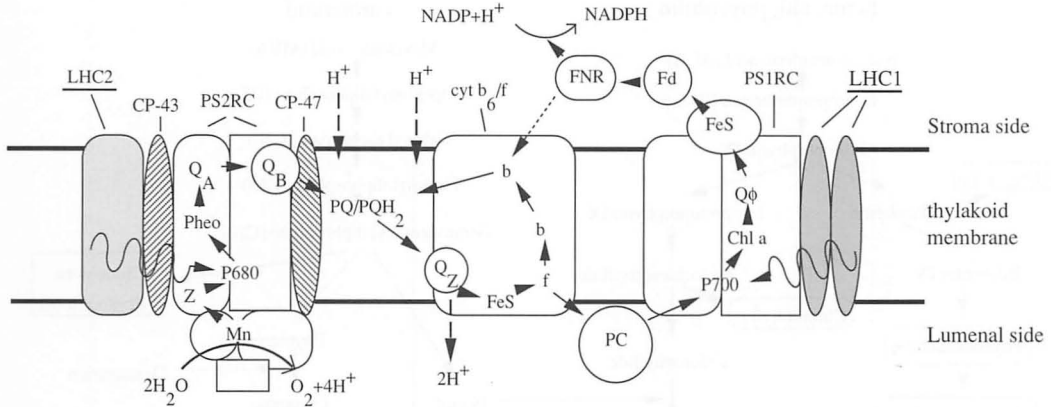


図2 高等植物・藻類での光合成反応系の模式図

チラコイド膜に配置されたアンテナ色素タンパク質、電子伝達に関与するタンパク質を示す。影を付けた部分はアンテナ色素タンパク質を示し、その中で、下線を付したものはペリフェラルアンテナを、それ以外はコアアンテナを意味する。矢印のついた実線は電子の流れを、破線はプロトンの流れを、波線はエネルギーの流れを示す。

Mn, マンガン分子; Z, チロシン残基; P680, PS2RCの電子供与体; Pheo, PS2RCの電子受容体; Q, キノン; FeS, 鉄硫黄クラスター; f, シトクロム f, b, シトクロム b, PC, プラストシアニン; P700, PS1RCの電子供与体; Chl a, PS1RCの電子受容体; Qφ, キノン; Fd, フェレドキシン; FNR, フェレドキシン-NADP還元酵素

つの種類の機能タンパク質を基にして、藻類の系統関係を考えてみる。

2-1. 反応中心の系統性

2-1-1. 光化学系1反応中心 (PS 1 RC)

藻類と高等植物のPS 1 RCは、分子量82 kD (*psa A*), 84 kD (*psa B*) のふたつのポリペプチドから構成される (Fish and Bogorad 1985)。一次構造が基本的に似ているので、起源は同一であり、遺伝子重複・変異が加わった結果、現在ようになったと解釈できる。相同性の高いふたつのポリペプチドから構成されることから、ヘテロダイマー型反応中心と呼ばれる。ラン藻と高等植物での相同性は、*psa A*, *psa B* でそれぞれ76%, 70%で、よく保存されている。

PS 1 RC複合体には多くの色素が結合している。電子供与体はChl a 2量体 (スペシャルペアーと呼ばれる)、電子受容体はChl a単量体であるが、結合している色素の全量は、約100分子のChl aと15-20分子のβ-caroteneである。電子伝達に関与しない色素はアンテナ色素として機能する。アンテナ色素も含む反応中心であることから、Antenna/Reaction Center Complex (A/R complex) と呼ばれる。

2-1-2. 光化学系2反応中心 (PS 2 RC)

藻類と高等植物のPS 2 RCは、PS 1 RC同様にふたつのポリペプチドから構成される。それらはD₁タンパク質 (*psb A*), D₂タンパク質 (*psb B*) と呼ばれ、分子量がそれぞれ38 kD, 39 kDである (Nanba and Satoh 1987)。その一次構造をみると両者は非常に相同性が高く、起源は同一であることが理解できる。PS 1 RC同様にヘテロダイマー型反応中心と呼ばれる。ラン藻と高等植物のD₁タンパク質、D₂タンパク質の相同性はそれぞれ、84%, 86%で、本質的に変化が少ない。PS 2 RCはアンテナを欠くのでR complexと呼ばれる。

PS 2 RCを構成する色素分子は、2分子のフェオフィチン (Pheo) aあたり、Chl aが4-6分子、β-caroteneが1-2分子である。この中で、電子供与体はChl a 2量体、電子受容体はPheo a単量体である。したがって、2-4分子のChl a, 1分子のPheo a, 1-2分子のβ-caroteneは直接電荷分離反応に関与するわけではなく、その機能は完全には理解されていない。一部はアンテナ色素としても機能できる (Mimuro et al. 1995)。

上記2種類の反応中心は総ての酸素発生型光合成を行う生物に存在する。種の間でのそれらの相同性は非常に高く、変異に乏しい。電荷分離の反応効率がほぼ100%である事を考えると、ラン藻において獲得され

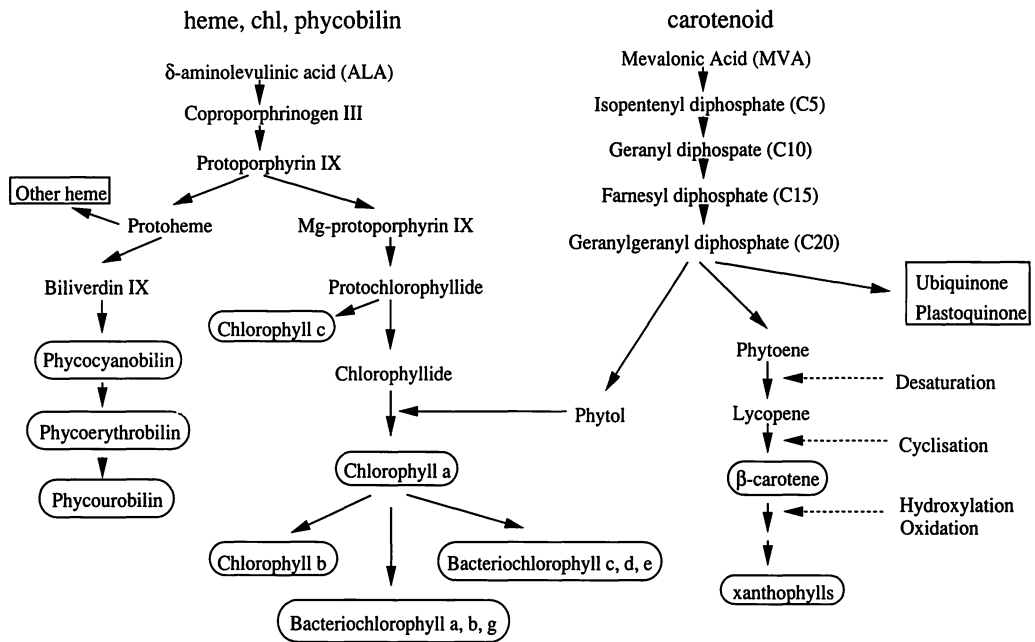


図3 光合成色素の生合成経路（一般的な合成経路）

長円で示した物質は反応中心や光合成アンテナ色素として、また長方形で示した物質は電子伝達成分として機能しているものを示す。種によっては一部を欠く。

た反応中心は既に十分に完成されており、変異を生むことが極めて少なかった事を示している。したがって反応中心タンパク質を基に系統性を論じることは容易ではない。

2-2. アンテナ色素・色素タンパク質の系統性

反応中心に比べてアンテナ色素は分類体系に応じた特徴ある分布を示す（三室 1995）。アンテナ色素としては、Chl a, Chl b, Chl c, (Chl d?), フィコビルン, カロテン, キサントフィルがあり、これらが分類群に対応した分布を示す。しかし、各々の色素の合成系は、カロテノイドを除いて種特異性があるとは考えられていない。したがって分布そのものが重要であり、合成に関与する酵素（群）を指標として系統性を論じることは容易ではない。

一方、色素タンパク質は結合する色素にしたがって数種類の分子が存在する。色素は、タンパク質と結合して、色素タンパク質複合体を形成する。そこで、アンテナ系については、色素の合成系について概要を述

べた後に、色素タンパク質について系統性を考察する。

2-3. 色素の合成系

2-3-1. Chl 合成

Chl は、総ての生物に存在するポルフィリンの合成系から分岐して合成される（図3）。 δ -aminolevulinic acid (5-ALA) を出発物質としてポルフィリンの合成系が始まり、途中で分岐してChl 合成系へ入る（Senge 1993）。Chl の分子構造の特徴は、クロリン環構造を持ち5番目のリングが存在することである。この存在でその光学特性がポルフィリンとは大きく異なっている。Chl a は、プロトポルフィリンにMg が配位し、プロトクロロフィリド、クロロフィリドを経て、さらに側鎖としてアルコール（フィトール）が付加され合成が完了する。Chl a はChl b やバクテリオクロロフィルの合成の前駆体となっている。Chl c は側鎖に高級アルコールを持たない。その合成はChl a の途中、プロトクロロフィリドから起こる。Chl c の特徴は π 電子系が4

つのピロールリングにまたがることで、基本的にポルフィリンと同じ光学的性質、赤色部の弱い吸収と、ソーレー帯（青色部）の強い吸収、を示す。したがって Chl a, Chl b をアンテナ色素に使うことと Chl a, Chl c を使うことでは、吸収する光の性質が大きく異なる。

2-3-2. カロテノイド合成

カロテノイドの合成系は、分子生物学の進展により最近の数年間で大きく理解が進んだ（図3）（Armstrong 1994, 三沢 1996）。出発物質は Mevalonic acid で、炭素数5の基本ユニット（Isopentenyl diphosphate）を単位として重合が進み、Geranylgeranyl pyrophosphate が2分子結合することでC₄₀の骨格構造（phytoene）が完成する。この物質に対して、不飽和化、環化、が起こることによってβ-carotene が合成され、さらに、還元、酸素原子導入、水酸基の導入などの反応が続き、多くの種類のカロテノイド、キンサトフィルが合成される。藻類を特徴付ける多くのカロテノイドの合成酵素は、今の段階では十分に理解されているとは言えないが、その全体の数は決して多くはなく、ひとつの酵素で数種類の合成が可能、すなわち個々の酵素の基質特異性が低い、と推測されている（高市、私信）。

β-carotene は PS 1 RC, PS 2 RC のいずれにも結合し、藻類、高等植物に普遍的に存在するカロテノイドである。一方、種によって変化するカロテノイドも藻類には多い。代表的な例を挙げると、ラン藻のエキネノン、ミクソキサントフィル、紅藻のルテイン、クリプト藻のアロキササンチン、渦鞭毛藻のペリディニン、褐藻・珪藻のフコキササンチン、緑色藻類のルテインなどである。これらの総てがアンテナとして機能しているのではないが、合成酵素の分布による系統性のひとつの指標になりうる形質である。

2-3-3. フィコビルン合成

フィコビルンは、ラン藻、紅藻、クリプト藻に存在する水溶性の色素タンパク質の発色団である。フィコビルンはポルフィリンの合成系から分岐した経路により合成される（図3, Beale 1994）。プロトヘムまで合成が進んだ後に環構造が開裂し、Biliverdin IX a を経て、フィコシアノビルンが合成され、それが還元を受けて、フィコエリスロビルン、フィコウロビルンと短波長側に吸収極大を持つ色素へと変わっていく。クリプト藻の場合には、一部側鎖が修飾された色素が用いられる。フィコビルンは他の色素と異なり、タンパク質に共有結合する。このためには酵素が必要で、ここ数

年でかなり明らかになってきた（Glazer *et al.* 1995）。

2-4. アンテナ色素タンパク質の機能的分類

光合成アンテナ色素タンパク質には機能的に2種類の複合体がある。反応中心と直接相互作用しているコアアンテナと、直接は相互作用していないペリフェラルアンテナである（図2, 4）。PS 1 RC は A/R 複合体なので RC がコアアンテナを兼ねる、といえる。一方、PS 2 RC は R 複合体なのでコアアンテナとして、CP-43, CP-47 と呼ばれる2種類の色素タンパク質複合体が存在し、さらにペリフェラルアンテナが存在する。ペリフェラルアンテナにはふたつの反応中心に対応して2種類が存在する。PS 1 RC に対応する LHC 1, PS 2 RC に対応する LHC 2 である。系統的に特徴的な色素は多くの場合、LHC 2 に結合している。

2-5. アンテナ色素タンパク質の系統性

PS 2 RC と相互作用する2種類のコアアンテナ、CP-43, CP-47 は総ての酸素発生型光合成生物に見いだされている（図4）。この両者は相同性が極めて高く、起源は同一であると考えられている（Bricker 1990）。酸素発生型光合成生物の中では、反応中心と同じく、種を通じて極めて相同性が高いタンパク質であり、変異は少ない。反応に必須の構造、機能を持つことが容易に考えられる。

一方、ペリフェラルアンテナは、系統的にふたつのファミリーに区分される。グロビンファミリーと CAB ファミリーである。

2-6. ラン藻、紅藻のアンテナ系とフィコビルン

ラン藻の場合にはフィコビルンタンパク質がフィコビリソームという会合体を形成してチラコイド膜の細胞質側に存在し、PS 2 RC のコアアンテナにエネルギーを渡す（Sidler 1994）。LHC 1, LHC 2 は知られていない。フィコビルンタンパク質の特徴は、それがグロビンファミリーということである。フィコビルンタンパク質はふたつのサブユニット（αとβ）から構成される。各々のサブユニット構造を見ると、サブユニットをつなぐためのヘリックスを除いた部分はミオグロビンの構造に似ていて、また色素（フィコシアノビルンなど）が共有結合するアミノ酸の位置は、ミオグロビンでヘムが結合する位置と同じで、機能の相同性が保たれている。フィコビルンはまさにグロビンファミリーであることが示されている（Pastore and Lesk 1990）。

ラン藻と同じく原核光合成生物であるプロクロロ

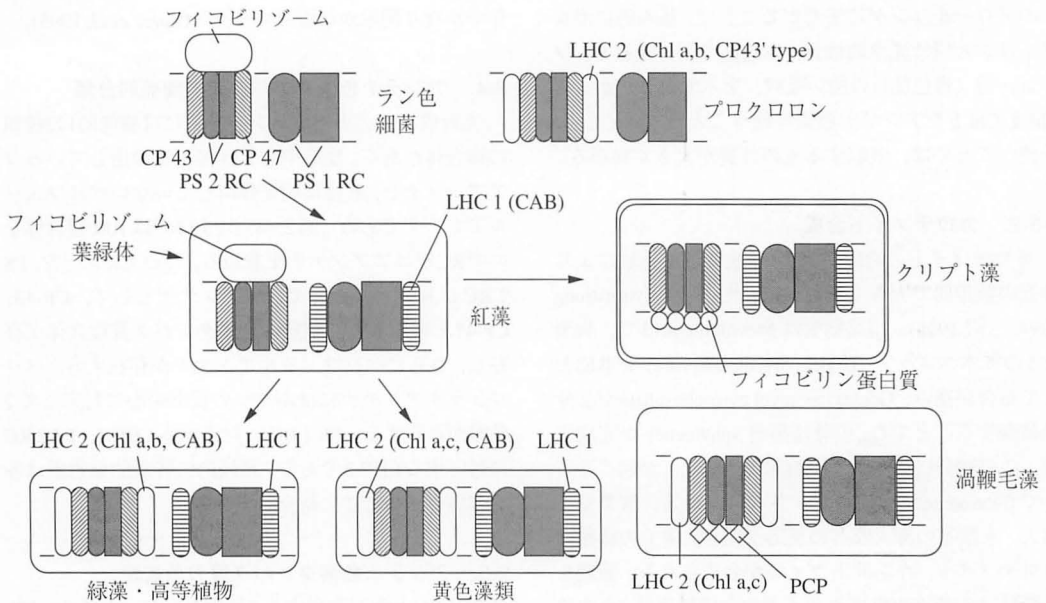


図4 藻類での反応中心、アンテナ色素タンパク質の系統性

図2の反応模式図を参照されたい。チラコイド膜を挟んで、上側がストローマ側、下側がルーメン側を示す。

はChl *a/b* (LHC2)を持ち、緑藻、高等植物の祖先型と考えることもできる。プロクロロンのLHC2の系統性をアミノ酸配列から考察すると、ラン藻で鉄欠乏時に誘導される特殊なタンパク質 (CP43')に高い相同性があることが判明した (La Roche *et al.* 1995)。このCP43'はコアアンテナであるCP43との関連が深く、したがってプロクロロンのLHC2が独自のものではなく、ラン藻との関連が深く、ひとつの独立したグループを形成するのではないと考えられる。

紅藻は基本的にはラン藻と同じ色素系であり、PS2 RCにはフィコビリゾームからエネルギーが供給されるが、近年、PS1 RCにはLHC1が存在することが確認された (Wolfe *et al.* 1994)。これは、ラン藻から紅藻へ進化し、葉緑体の誕生と同時に起こったアンテナ系での唯一の変化である。このLHC1にはゼアキサンチンが多く結合している。これは他のLHC1を保有する藻類とは大きく異なる性質である。

紅藻の出現に伴って考慮すべきことは遺伝子の存在位置の変化である。ラン藻が持っていた遺伝子の中で、多くは核へと移行しているが、光合成系を維持するために必要である反応中心タンパク質、コアアンテナタンパク質をコードする遺伝子の多くは葉緑体に残

されている。高等植物ではペリフェラルアンテナ色素タンパク質をコードする遺伝子は総て核に存在するが、紅藻 *Porphyra*では、フィコビリタンパク質が葉緑体のなかにコードされており、移行の中間形質であることを示している (Reith and Munholland 1993)。クリプト藻でもフィコビリタンパク質が葉緑体のなかにコードされている (Douglas 1992)。

2-7. 紅藻からの展開

この紅藻からのアンテナ系の変化は3通りある。ひとつはクリプト藻、渦鞭毛藻への経路であり、他はそれぞれ、黄色藻類、緑色藻類への経路である (図1,4)。

クリプト藻では、フィコビリタンパク質を保持すると同時にChl *c*を合成するようになり、黄色植物への道が開かれた。フィコビリタンパク質はフィコビリソームを形成することがなくなった。その一次構造をみると、ふたつのサブユニット (α と β)のうちで、 α サブユニットのN末端側に大きな欠失が起こり、その結果、会合体の形成パターンが、ラン藻・紅藻の場合の C_3 対称性から C_2 対称性へ変化していることが観察された (Sidler *et al.* 1990)。これがフィコビリソーム形成を阻害する要因かもしれない。

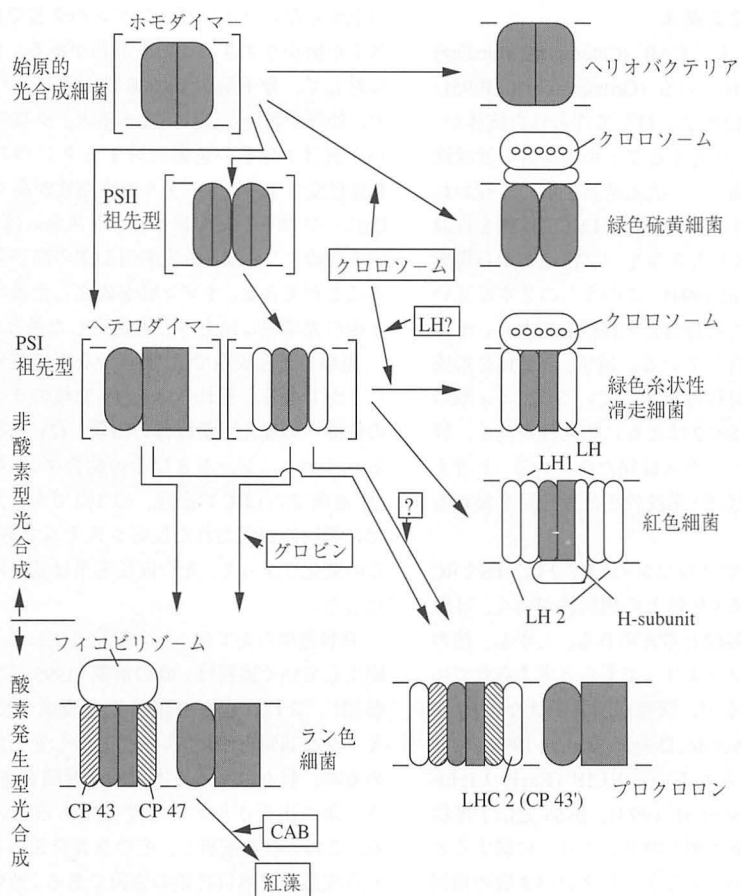


図5 光合成原核生物での反応中心、アンテナ色素タンパク質の系統性

大きな鍵カッコで囲まれたものは、進化の途中に存在したと考えられる中間形で、現存の生物に見いだすことはできない。

渦鞭毛藻は独自の色素、ペリディニンを持つ。分子構造を見ると理解できるように、このカロテノイドは他の藻類において見いだされるカロテノイドとは非常に異なった構造をしている。炭素数は38で他(C₄₀)より少なく、イリデンブテノライド環はこのカロテノイドにだけみられる。ペリディニンは水溶性のタンパク質に結合し、ペリディニンクロロフィルタンパク質(Peridinin-Chlorophyll a-protein, PCP)を形成する(Hiller *et al.* 1995)。この結晶構造が昨年明らかにされた(Hoffman *et al.* in press)。このタンパク質の一次構造を他のアンテナ色素タンパク質のそれと比較した結果、まったくユニークなものであることが明らかになった。この意味で、渦鞭毛藻のアンテナ系は不連続な性質を持っている。その起源は現在は知られていないが、意外なルーツに突き当たるのではないかと想像し

ている。渦鞭毛藻のアンテナ色素タンパク質として、膜内在性のChl *a/c*-ペリディニンタンパク質があり、これはLHC 2に相当する。

紅藻からの二通りの経路は大きく異なっている。緑色藻類への経路では、LHC 1, LHC 2が存在し、LHC 2に結合する色素としてはChl *a*, Chl *b*, ルテインが主なものとなる。黄色藻類では、LHC 1, LHC 2が存在し、LHC 2に結合する色素としてはChl *a*, Chl *c*, フコキサンチンとなる。ルテインとフコキサンチンの分子構造は大きく違い、後者にはアレン基が挿入されている。黄色藻類に特徴的に存在するカロテノイドは、アレン基、アセチレン基、などを持ち、緑色藻類とはかなり異なった性質を示す。こうした修飾の必然性は現段階では明らかではない。

2-8. LHC 1, LHC 2 の関係

LHC 1, LHC 2 はともに CAB (Chlorophyll a binding) gene ファミリーとされている (Grossman *et al.* 1995)。これは、高等植物の LHC 2 に対して作られた抗体が、LHC 1, LHC 2 ともに反応することから両者の近縁性が確認されたものである。二次元結晶を用いて行われた高次構造解析が示すところでは、LHC 2 は膜を貫通する 3 本のヘリックスと大きなループ構造とから構成される (Kuhlbrandt *et al.* 1994)。このうちの 2 本は互いに局所的な対称性 (C_2 対称性) を保持しており、その周囲に色素分子が結合している。通常、3 量体を形成しており、全体は C_3 対称性を示している。アミノ酸の配列から、LHC 1, LHC 2 はともに相同性が高く、膜を貫通する 3 本のヘリックスは保たれている、と考えられる。この LHC の起源・系統性が最近注目を集めるようになってきた。

原核生物であるプロクロロンの LHC 2 は、PS 2 RC のコアアンテナである CP 43 との相同性が高く、紅藻の LHC 1 とは異なる起源と考えられる。しかし、他の LHC は総てひとつのファミリーであると考えられている。ラン藻に存在するが、機能が明解ではない HLIP (High Light-Induced Protein, Dolganov *et al.* 1995) や高等植物、藻類で検出されている ELIP (Early Light-Induced Protein, Levy *et al.* 1993)、*psbS* 遺伝子産物 (Wedel *et al.* 1992)、などがこのファミリーに属すると考えられるようになった。こうしたタンパク質の相同性に基づいて、さらに解析が進むと考えられる。

LHC 2 でのエネルギー移動経路を調べると、カロテノイド (ルテイン、またはフコキサンチン) は直接 Chl a にエネルギーを渡し、Chl b、または Chl c を経由して Chl a にエネルギーを渡すことは観察されていない。この事実はふたつの構造的類似性、色素の結合位置の類似性を如実に示す事実と考えられる。

2-9. 藻類の光合成系の変異

こうして、光合成系での機能タンパク質複合体の系統性を論じてきて明らかになった事は、反応中心は基本的に変化せず、アンテナ系の色素タンパク質も基本的には保持され、変化していったのは結合する色素そのものである、という事実である。進化の圧力については、定説はないが、私は次のように考えている。

ラン藻、紅藻のフィコビリナンパク質 (PE, PC, APC) は可視光の領域のほとんど総ての光を吸収できる利点があるが、単位タンパク質当たり、色素の密度

の上がらないフィコビリナンパク質では、生産のコストが掛かりすぎるといふ不利がある。1 分子の色素に対して、分子量が 10,000 以上のタンパク質が必要で、効率が悪い。これに比べると、クロロフィルタンパク質は 1 分子の色素に対するタンパク質量がその 10% 程度ですみ、トータルの生産性が高くなる。Chl a/Chl c-フコキサンチンというシステムは、水界で棲息するために、もっとも光利用効率の高い色素系と考えることができる。オゾン層が成立した後の大気下での水中の光環境にはもっとも適応した系となっている。

藻類の光合成系では、明らかな不連続性を見いだすことができる。それらは、(1) 原核のラン藻から真核の紅藻への変化、葉緑体の出現、(2) 渦鞭毛藻におけるペリディニン、およびその結合タンパク質の出現、(3) 紅藻での LHC の出現、の 3 点であり、その他は非常に相同性が保たれた反応システムであると言える。この変化によって、光合成反応系は見かけ上大きく変化した。

真核藻類の間で起こった細胞共生により新たな種が誕生していく過程は、原の解説 (1995) に詳しい (図 1 参照)。これは現在も続く光合成系の変化のダイナミックな側面を伝えている。しかし光合成系全体を眺める時、我々はもっと本質的な疑問を持つ。それは、ラン藻の出現が極めて不連続であるという事実である。この過程を解析し、その意義を知ることが藻類の光合成系の理解に必須の要因である。地球上でのラン藻の出現は、36 億年前とも 27 億年前ともいわれている。地球に酸素の大気をもたらし、それによって生物の進化の方向を変えたとされるラン藻の光合成系の不連続性を以下の稿で明らかにしていきたい。

3. 反応系のひな型「光合成細菌」

光合成を行う始源的な生物群として光合成細菌が知られている。現在、5 つの系統群に分類されている (図 5)。ヘリオバクテリア、緑色硫黄細菌、緑色滑走糸状細菌、紅色細菌、ラン色細菌である。ラン色細菌はもちろん今までラン藻と書いてきたものである。これらはいずれも原核光合成生物である。この中でラン色細菌以外は酸素を発生しない光合成反応を営むので無酸素型光合成と呼ばれる。これらは、酸素に対する抵抗性からふたつに分類される。絶対嫌気性細菌 (ヘリオバクテリアと緑色硫黄細菌)、嫌気性細菌 (緑色滑走糸状細菌、紅色細菌) である。起源を考える時、原始地球の大気組成は酸素が極めて低い濃度しかなかった事

表1. 光合成生物のRCの性質の比較

	二量体 構成	分子量 (kDa)	電子 供与体	電子 受容体	A/R or A	色素数
ヘリオバクテリア	ホモ	68	BChl <i>g</i>	8-OH-Chl <i>a</i>	A/R	~35
緑色硫黄細菌	ホモ	64	BChl <i>a</i>	Chl <i>a</i> analog	A/R	~40
PS 1	ヘテロ	82, 84	Chl <i>a</i>	Chl <i>a</i>	A/R	~100
緑色滑走性細菌	ヘテロ	35, 35	BChl <i>a</i>	BPheo <i>a</i>	R	6
紅色細菌	ヘテロ	31, 35	BChl <i>a</i> (<i>b</i>)	BPheo <i>a</i> (<i>b</i>)	R	6
PS 2	ヘテロ	38, 39	Chl <i>a</i>	Pheo <i>a</i>	R	6 or 8

分子量は代表的な値であり、種によって異なる。

実から、絶対嫌気性細菌がより古い種であることが考えられるが、16S rRNAの相同性を基にすると、緑色滑走糸状細菌が初期の段階で分岐していることが明らかになっている (Woese 1987)。近年の解析から、光合成反応の基本的な部分は総て光合成細菌で獲得され、かつ完成されたことが明解に示されるようになってきた (松浦 1995)。そこで反応中心、アンテナ系について、その起源、系統性を考察する。

3-1. 反応中心

絶対嫌気性細菌と嫌気性細菌では極めて異なった光合成反応系を構成している (表1)。

ヘリオバクテリアと緑色硫黄細菌では、反応中心は同じポリペプチド2分子から構成される (ホモダイマー)。分子量はヘリオバクテリアと緑色硫黄細菌の間で多少異なるが、前者が68 kD、後者が64 kD程度である。この複合体には、電子移動を担う色素の他に、アンテナとして機能する色素分子がそれぞれ、35分子、40分子程度結合している。これは既に述べたA/R複合体であり、PS 1 RCと同じ性質である。系統的にはこれらの光合成細菌の反応中心がルーツであると考えられる。

緑色滑走糸状細菌と紅色細菌の反応中心は、非常に相同性の高い2本のポリペプチドから構成されている (ヘテロダイマー) が、両者の間では基本的な違いが認められる。紅色細菌では、分子量は約31 kD (L subunit), 35 kD (M subunit) の他に、H subunit (分子量28 kD) が結合する。種によっては、RCにc型シトクロムが結合している場合もある。RCに結合する色素は、4分子のBChl *a* (または *b*, 種に依存), 2分子の

BPheo *a* (または *b*), さらに1分子のカロテノイドである。一方、緑色滑走糸状細菌では、ポリペプチドはL subunit (35 kD), M subunit (35 kD) で、H subunitは存在しない。結合する色素は、3分子のBChl *a*, 3分子のBPheo *a*, と1分子のカロテノイドである。すぐに理解できるようにこの構成はPS 2 RCと同じであり、R複合体である。したがってPS 2 RCのルーツと考えられる。

こうした性質は単にタンパク質、色素の組成だけでなく、他の電子伝達成分からも支持される。PS 1 RCの場合には、電子受容体がChlの派生物である (ヘリオバクテリアでは8-OH-Chl *a*, 緑色硫黄細菌ではChl *a*の異性体) という他にはみられない特徴があり、また鉄-硫黄 (Fe-S) クラスタを持つ。光合成細菌の電子伝達成分にはBChlしか存在しないという考えは潰え去り、新たな考えを持つ時期が到来したと言える。このことは、また色素の合成系に新たな視点をもたらした。BChlはChl *a*を前駆体として合成されるのであるが、この合成系が必然であったことが理解される。絶対嫌気性細菌は電子受容体としてChlを合成する必要があるのである。一方、PS 2 RCについては、電子受容体がPheo分子であること、2種類のキノンが電子伝達成分として機能することなど、紅色細菌との類似性が高い。これらの事実から、我々は藻類の反応中心のルーツを知ることとなった。

3-2. アンテナ色素タンパク質

紅色細菌はコアアンテナ (LH 1, Karrasch *et al.* 1995), ペリフェラルアンテナ (LH 2, McDerminnt *et al.* 1995) の2種類を持っており、それぞれの結晶構造が発表さ

れている。両者ともに、ただ1度膜を貫通するヘリックスを持つサブユニット成分 (α と β) から構成され、ヒスチジン残基が BChl のリガンドになっている。BChl はダイマーとしてふたつのサブユニットに挟まれた形で存在する。ペリフェラルアンテナにはモノマーも存在する。

このアンテナタンパク質の相同性を調べてみると、紅色細菌の中での類似性は極めて高いのに比較して、他の光合成系の機能タンパク質とは相同性が低い。したがって、このアンテナ色素タンパク質は酸素発生型光合成生物には受け継がれなかった性質と考えることができる。反応中心の系統性を考える時、この不連続性は際だったものとなる。

3-3. ラン色細菌の起源

ここで重要な問題点に突き当たる。それは、如何にしてルーツが異なる2種類の反応中心が、ラン色細菌の中に共存するような反応系が生まれたか、すなわち、ラン色細菌の起源は何か、である。真核藻類の例にならって細胞内共生を考えることがもっとも説明としては簡単である。ひとつの考え方としては、紅色細菌が宿主で、緑色細菌が共生したという説を取ることができる。理由は、細胞内の酸素濃度を考えると逆では成立しないことである。しかし、宿主、共生生物の役割分担についてはまったく想像の域を出ない。

松浦 (1995) は、酸素発生をする光合成系を獲得した紅色細菌に、緑色細菌の RC と電子伝達成分 (cyt *b*/*f* c_1 複合体, Fe-S クラスター, フェレドキシン) などの遺伝子が種間移行して、ラン色細菌が出現したという仮説を提唱している。本質的には、緑色細菌側が後から共生したという点では同じである。

遺伝子の種間移行は、光合成細菌の間では「クロロソーム」にみられる。これは、緑色硫黄細菌、緑色糸状滑走細菌に共通してみられるアンテナ系であるが、前述のようにこのふたつの系統群は、RCの構造、酸素に対する親和性などが大きく異なるために、共通の祖先を持つとは考えられない。にもかかわらず共通のアンテナ系を持つ理由としては、遺伝子の種間移行がもっとも妥当な考え方である。

3-4. ラン色細菌の出現に伴う反応系の変化

反応中心、アンテナ色素タンパク質の系統性とラン色細菌の出現との関連をもう少し深く考えてみたい。PS 2 RC では極めて本質的な変化が生じている。それ

は、酸化還元電位の大きな変化である。ラン色細菌は水を酸化して電子を供給するために、高い酸化電位 (1V 以上) を必要とする。このために4分子の Mn 原子から構成される水分解系を獲得した。この反応系は他にはなく、ルーツを探ることが容易ではない。

アンテナで起こる変化は PS 2 RC のコアアンテナである CP-43, CP-47 と、ペリフェラルアンテナであるフィコビリンの獲得である。ともに不連続なもので、その起源となるべき適当な候補がない。CP-43, CP-47 のヘリックスの一部は、ヘリオバクテリアの反応中心のヘリックスの一部と相同性が高いことが指摘されている (Vermaas 1994) が、他の光合成細菌ではまったく類似のタンパク質が見いだされていないので、必ずしも納得できる説明ではない。フィコビリタンパク質は前述のようにグロビンファミリーであり、その起源は光合成細菌の成分としては現在明らかになっていない (ただし、大腸菌には存在することが知られている, Wakabayashi *et al.* 1986)。こうした観点から見ると、ラン色細菌では当然と思われたフィコビル色素の存在そのものが極めて不可思議な事項であることに思いついた。外から導入された遺伝子によりもたらされたと考えることはできるが、現実にはそのルーツを探る場合、その道は容易には現れてこない。

最近、ラン色細菌の光合成系で、細胞当たりの反応中心の相対含量が環境に応じて変化することが明らかになってきた。もっともよく知られた例は、光条件に応じて PS 1 RC と PS 2 RC の量比が変動するのであるが、その時に制御を受けるのは PS 1 RC の方で、PS 2 RC は一定の値に保たれる (Fujita *et al.* 1994)。その代わりに、PS 2 RC の D_1 タンパク質は電荷分離反応を起こした後で分解され、さらに補修されて新しい複合体を形成することが明らかになってきた。こうした代謝の制御機構が系統性や宿主-共生種に関して新たな視点を開く可能性もあるが、現段階では未知数である。

4. 今後の検討課題

藻類の世界だけを見ていれば、自明の事であったラン藻 (ラン色細菌) を起源とする系統性が、光合成生物全体としての視点からは極めて不連続な過程であることを述べてきた。こうした事を明らかにする時のキーワードは「細胞内共生」であろう。藻類の間では極めて自然と考えられている、原核-真核、真核-真核の細胞内共生が、実は原核-原核でも起こっており、それがラン色細菌を生み出したとすれば、より統一的

な視点から光合成生物全体の系統性を考えることが可能となる。今後は、系統性や細胞共生を実験的にも解析することが必要となるであろう。

謝辞

この原稿を書くにあたり、基礎生物学研究所、村上明男博士、稲垣言要博士、鞆達也氏、日本医科大学、高市真一博士、北海道大学、堀口健雄博士に貴重な助言をいただいた。また、藻類の系統性については、神戸大学、川井浩史博士の図を使わせていただいた。この場を借りてお礼を申し上げます。

参考文献

(オリジナル論文よりも総説、解説を引用している)

- Armstrong, G. A. 1994. Eubacteria show their true colors : Genetics of carotenoid pigment biosynthesis from microbes to plant. *J. Bacteriol.* 176 : 4795-4802
- Beale, S.I. 1994. Biosynthesis of cyanobacterial tetrapyrrole pigments : Hemes, chlorophylls and phycobilins. pp. 519-558. In : D.A. Bryant ed. *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands
- Bricker, T.M. 1990. The structure and function of CPa-1 and CPa-2 in photosystem II. *Photosynthe. Res.* 24 : 1-13.
- Dolganov, N.A.M., Bhaya, D. and Grossman, A.R. 1995. Cyanobacterial proteins with similarity to the chlorophyll *a/b*-binding proteins of higher plants : evolution and regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92 : 636-640.
- Douglas, S.E. 1992. Eukaryote-eukaryote endosymbioses : Insights from studies of a cryptomonad alga. *BioSystems* 28 : 57-68.
- Fish, L.E. and Bogorad, L. 1985. Two partially homologous adjacent light-inducible maize chloroplast gene encoding polypeptide of the P700 chlorophyll *a* protein complex of photosystem I. *J. Biol. Chem.* 260 : 1413-1421.
- Fujita, Y., Murakami, A., Aizawa, K. and Ohki, K. 1994. Short-term and long-term adaptation of the photosynthetic apparatus : Homeostatic properties of thylakoids. pp. 677-692. In : D.A. Bryant ed. *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Glazer, A.N., Fairchild, C.D., Jung, L.J. and Chan, C.F. 1995. Phycobiliproteins : Studies of bilin attachment. vol. I, 3-9. In : P. Mathis ed. *Photosynthesis : from Light to Biosphere*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Grossman, A.R., Bhaya, D., Apt, K.E. and Kehoe, D.M. 1995. Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis : Diversity, Control and Evolution. *Ann. Rev. Genetics* 29 : 231-88.
- 原 慶明 1995. 今も続く進化—細胞内共生と植物の発展. *遺伝* 49 : 43-50.
- Hiller, R.G., Wrench, P.M. and Sharples, F.P. 1995. Amino acid sequences of the light-harvesting proteins of the dinoflagellate *Amphidinium carterae*. Vol. I, pp. 29-34. In : P. Mathis ed. *Photosynthesis : from Light to Biosphere*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Karrasch, S., Bulloch, P.A. and Ghosh, R. 1995. The 8.5 Å projection map of the light-harvesting complex I from *Rhodospirillum rubrum* reveals a ring composed of 16 subunits. *EMBO J.* 14 : 631-638.
- Kuehlbrandt, W., Wang, D.N. and Fujiyoshi, Y. 1994. Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. *Nature* 367 : 614-621.
- La Roche, J., Partensky, F. and Falkowski, P. 1995. The major light-harvesting antenna of *Prochlorococcus marinus* is similar to CP43', A Chl binding protein induced by iron limitation in cyanobacteria. vol. I, 171-174. In : P. Mathis ed. *Photosynthesis : from Light to Biosphere*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Levy, H., Tal, T., Shaish, A. and Zamir, A. 1993. Cbr, an algal homolog of plant early light-induced proteins, is a putative zeaxanthin binding protein. *J. Biol. Chem.* 268 : 20892-20896.
- 松浦克美 1995. 原始光合成系と光合成細菌. *遺伝* 49: 18-22.
- McDermint, G., Prince, S.M., Freer, A.A., Hoathornthwaite-Lawless, A.M., Papiz, M.Z., Cogdell, R.J. and Isaacs, N.W. 1995. Crystal structure of an integral membrane light-harvesting complex from photosynthetic bacteria. *Nature* 374 : 517-521.
- Mimuro, M., Tomo, T., Nishimura, Y., Yamazaki, I. and Satoh, K. 1995. Identification of photochemically inactive pheophytin molecules. *Biochim. Biophys. Acta* 1232, 81-88.
- 三室 守 1995. もっと光を！—光を集めるアンテナ色素系の進化. *遺伝* 49 : 37-42.
- 三沢典彦 1996. 遺伝子レベルで解明されたカロテノイド合成経路. *蛋白質核酸酵素* 41 : 337-346
- 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. Nat. Acad. Sci. USA.* 84 :

- 109-112.
- Pastore, A. and Lesk, A.M. 1990. Comparison of the structures of globins and phycocyanins : Evidence for evolutionary relationship. *Proteins. Struc. Funct. Genet.* 8 : 133-155.
- Reith, M. and Munholland, J. 1993. A high-resolution gene map of the chloroplast genome of the red alga *Porphyra purpurea*. *The Plant Cell* 5 : 465-475.
- Senge, M.O. 1993. Recent advance in the biosynthesis and chemistry of the chlorophylls. *Photochem. Photobiol.* 57 : 189-206.
- Sidler, W., Nutt, H., Kumpf, B., Frank, G. Suter, F., Brenzel, A., Wehrmyer, W. and Zuber, H. 1990. The complete amino acid sequence and the phylogenic origin of phycocyanin-645 from the cryptomonatan alga *Chroomonas* sp. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* 371 : 537-547.
- Sidler, W.A. 1994. Phycobilisome and phycobiliprotein structures. pp. 139-216. In : D.A. Bryant ed. *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Vermass, W.F.J. 1994. Evolution of heliobacteria : Implications for photosynthetic reaction center complexes. *Photosynthesis Res.* 41 : 285-294.
- Wakabayashi, S., Matsubara, H. and Webster, D.A. 1986. Primary sequence of a dimeric bacterial haemoglobin from *Vitreoscilla*. *Nature* 322 : 481-483.
- Wedel, N., Klein, R., Ljungberg, U., Andersson, B. and Herrmann, R.G. 1992. The single-copy gene *psbS* codes for a phylogenically intriguing 22 kDa polypeptide of photosystem II. *FEBS Lett.* 314 : 61-66.
- Woese, C.R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51 : 221-271.
- Wolfe, G.R., Cunningham, F.X., Durnford, D., Green, B.R. and Gantt, E. 1994. Evidence for a common origin of chloroplasts with light-harvesting complexes of different pigmentation. *Nature* 367 : 566-568.