

2024 年 11 月 1 日

国立研究開発法人海洋研究開発機構

国立大学法人東京大学

国立研究開発法人理化学研究所

国立大学法人岡山大学

国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）

最古の光合成生物「シアノバクテリア」の新しい光利用システムを発見 —ロドプシンによる環境適応の軌跡が明らかに—

1. 発表のポイント

- ◆ マングローブなどの様々な環境に生息するシアノバクテリアの大規模なゲノムデータから、光合成とは異なる光利用システム「微生物型ロドプシン」の新たなグループを発見し、「シアノロドプシン-II（CyR-II）」と命名した。
- ◆ CyR-II は、緑色光型と黄色光型の 2 つのタイプに分かれ、緑色光型はマングローブ・海洋微生物マット、黄色光型は堆積物・土壌と、異なる生息環境に由来する。このことから、利用波長の異なる CyR-II の獲得によって、シアノバクテリアはそれぞれの光環境に適応してきたと考えられる。
- ◆ 詳細なゲノム解析から、シアノバクテリアは CyR-II 以外にも様々なロドプシンを遺伝子水平伝播^{※1}により獲得し、進化してきたことがわかった。本研究は、進化の過程で獲得したロドプシンが、シアノバクテリアに新しい光利用戦略をもたらしてきたことを示した。

【用語解説】

※1 遺伝子水平伝播：個体間や他生物間において、子孫でないのにその遺伝子を取り込む現象。細菌など、単細胞の生物ではよく見られる。

2. 概要

国立研究開発法人海洋研究開発機構（理事長 大和裕幸、以下「JAMSTEC」という。）超先鋭研究開発部門の長谷川万純ポストドクトラル研究員および生命理工学センターの西村陽介研究員と中島悠特任研究員、東京大学大学院新領域創成科学研究科／大気海洋研究所の吉澤晋准教授、理化学研究所の白水美香子チームリーダーと保坂俊彰技師ら、岡山大学の須藤雄気教授と小島慧一講師らによる研究グループは、多様な環境から得られた大規模なメタゲノム^{※2} データを網羅的に探索することで、最古の光合成生物として知られるシアノバクテリアから、光合成とは異なる光利用システムである「微生物型ロドプシン（以下「ロドプシン」）」の新たなグループを発見し、「シアノロドプシン-II（CyR-II）」と命名しました。

島国である日本では、様々な海産物を楽しむことができます。これらを育む「海」の生態系を支えているのは、シアノバクテリアや藻類をはじめとする、光合成を行う微生物です。彼らは、光合成を通して太陽光エネルギーを化学エネルギーに変換し、そのエネルギーを使って作り出す有機物を生態系へもたらします。しかしながら 2000 年代に、太陽光エネルギーを化学エネルギーに変換するための、光合成とは全く異なるシステムである「微生物型ロドプシン」が光合成を行わない海洋細菌から見つかったことで、これまで考えられていた以上に多様な微生物が光を利用できることがわかってきました。そして、その後の遺伝子解析技術の発展により、ロドプシン遺伝子は海洋をはじめ、淡水、温泉など様々な環境に生息する微生物に広がっていることが明らかになってきました。

私たちのグループはこれまでに、光合成を行うシアノバクテリアもロドプシン遺伝子を持ち、その多くが淡水環境に生息していること、さらにシアノバクテリアのみが持つロドプシングループ「シアノロドプシン (CyR)」があることを報告しています (Hasegawa et al. 2020)。CyR は、光エネルギーを使って細胞内から細胞外へ水素イオン (H^+) を排出することで化学エネルギーを作り出します。また、CyR は光合成が利用しない緑色の光を利用することから、CyR を持つシアノバクテリアは「光合成」と「ロドプシン」の両方を用いて効率よく光を利用していると考えられます。(東京大学大気海洋研究所・研究トピックス¹を参照)

しかしながら、「シアノバクテリアのロドプシンが利用できる光は緑色のみなのか?」「海洋のシアノバクテリアは本当にロドプシンを持たないのか?」といった、シアノバクテリアが持つロドプシンの多様性についてはよくわかっていませんでした。こうした背景の中、今回、私たちのグループは、様々な環境から得られたメタゲノム情報を対象に、シアノバクテリアが持つロドプシン遺伝子の探索を行いました。その結果、シアノバクテリアのみが持つ新たなロドプシングループを発見し、「シアノロドプシン-II (CyR-II)」と名付けました。

CyR-II の機能を調べた結果、CyR-II は CyR と同様に、光エネルギーを使って細胞内から細胞外へ水素イオン (H^+) を排出することがわかりました。一方で、CyR-II が吸収する光の波長を調べたところ、CyR-II には、緑色の光を利用するものと黄色の光を利用するものの 2 タイプが存在することが明らかになりました。こうした利用する光の色の違いが生じる原因をタンパク質の構造から調べたところ、ロドプシン内に結合するレチナール色素^{※3} 周辺のわずかな構造の違いが原因であることを突き止めました。

さらに、CyR-II の利用する光の色の違いは、CyR-II を持つシアノバクテリアの生息環境と密接な関係にあることがわかりました。緑色光を利用する CyR-II はマングローブや沿岸の微生物マット・バイオフィルムに、黄色光を利用する CyR-II は堆積物や土壌に分布しています。このことから、利用波長の異なる CyR-II の獲得によって、シアノバクテリアはそれぞれの光環境に適応してきたと考えられます。

また、本研究における詳細なゲノム解析から、シアノバクテリアは CyR-II 以外にも様々なロドプシンを遺伝子水平伝播により獲得し、進化してきたことがわかりました。この結果は、「海洋のシアノバクテリアはロドプシンを持たない」という 2020 年時点の知見を覆し、マングローブなどの汽水域や沿岸域から、陸から遠く離れた外洋まで、様々な海洋環境から得られたシアノバクテ

リアのゲノム情報を対象としたからこそその発見と言えます。特に海洋環境では、ロドプシンは外洋よりも沿岸に生息するシアノバクテリアにおいて多くみられ、沿岸生態系の光利用機構の新しい視点をもたらしました。加えて、ロドプシンを持つシアノバクテリアは、単体の細胞で生活をするものよりも、細胞が糸状に連なっているものや、群体を形成するものに多いことがわかりました。糸状や群体を形成することで、他の細胞との距離が近くなるため、細胞同士での光の奪い合いが生じると考えられます。ロドプシンを用いて光を利用できることは、他者との光を奪い合うような環境で生き残るために役立っている可能性があります。これらの発見は、シアノバクテリアが進化の過程で、ロドプシンを介した新しい光利用戦略を獲得することで、それぞれの生息環境に適応してきたことを示唆します。

これまでの研究から、シアノバクテリアは様々な光環境へ適応するために、光合成機構を多様化させてきたことが明らかとなっています。今回の発見は、シアノバクテリアの進化とその環境適応の軌跡には「ロドプシン」という新たなキープレーヤーが存在し、シアノバクテリアが「ロドプシン」の獲得を通じて様々な光環境に適応してきたことを提唱するものです。

本成果は、微生物生態学の国際誌「The ISME Journal」に11月1日付（日本時間）で掲載されます。なお、本研究の一部は科学研究費助成事業（JP19J21582、22KJ3197、JP17K07324、JP20H05450、JP21H02446、JP15K14601、JP22H00557）、創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム（BINDS）の支援（JP23ama121001（支援番号1455、1463）およびJP23ama121013）、文部科学省「海洋生物ビッグデータ活用技術高度化」（JPMXD1521474594）、科学技術振興機構（JST）さきがけ（JPMJPR23G9）およびACT-X（JPMJAX21BK）の支援によって実施されました。

タイトル：Cyanorhodopsin-II represents a Yellow-Absorbing Proton-Pumping Rhodopsin clade within Cyanobacteria.

著者：長谷川万純^{1*}、保坂俊彰²、小島慧一³、西村陽介¹、栗原真理恵⁴、中島悠¹、桂芳子²、染谷友美²、白水美香子²、須藤雄気³、吉澤晋^{5,6,7*}

1. 海洋研究開発機構、2. 理化学研究所生命機能科学研究センター、3. 岡山大学学術研究院医歯薬学域、4. 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、5. 東京大学大気海洋研究所、6. 東京大学大学院新領域創成科学研究科、7. 東京大学微生物科学イノベーション連携研究機構

*共同責任著者

DOI: 10.1093/ismejo/wrae175

【用語解説】

※2 メタゲノム：海水や土壌などのサンプルから、多様な微生物のDNAを直接抽出し、分離培養を経ることなく、ゲノム情報を網羅的に解析する手法。

※3 レチナール色素：ビタミンAの一種で、光を吸収すると異性化し、その変化によってシグナルを伝える。

3. 背景

地球上に生息するほとんどの生物は、太陽光から得られるエネルギーを利用して生命活動を行っています。海洋をはじめとする水圏では、太陽から光エネルギーを生態系に取り込む代表的な生物は、クロロフィルを用いて光合成を行うシアノバクテリアや藻類です。一方で、光合成とは全く異なる光利用システムである「微生物型ロドプシン」の発見により、微生物の光利用機構がこれまで考えられていたよりも多様であることがわかってきました。

ロドプシンは、長い間、光合成を行わない従属栄養微生物^{※4}に特有の光エネルギー利用機構であると考えられてきました。しかし、遺伝子解析技術の進展とゲノム・メタゲノムデータの蓄積とともに、シアノバクテリアや藻類からもロドプシン遺伝子が見つかり、光合成を行う独立栄養微生物^{※5}にもロドプシンが広く分布している可能性が示唆されました。しかしながら、シアノバクテリアに注目して、大規模にロドプシン遺伝子の多様性を調べた例はありませんでした。

【用語解説】

※4 従属栄養微生物：生育に必要な炭素を自分自身では生産できず、外部の有機化合物から得ている微生物。

※5 独立栄養微生物：生育に必要な炭素を、二酸化炭素などの無機化合物でまかなうことができる微生物。

4. 成果

本研究では、大規模メタゲノムデータを基盤に、シアノバクテリア由来のロドプシン遺伝子の網羅的探索を実施しました。また、分子系統解析から、得られたシアノバクテリア由来ロドプシン遺伝子と既知ロドプシン遺伝子の系統関係を明らかにしました。

その結果、マングローブや土壌、海洋微生物マットから見出されたロドプシン遺伝子が、既知のシアノバクテリア由来ロドプシンとは異なる、新しいロドプシングループを構成することを発見し(図1)、この新しいロドプシングループを「シアノロドプシン-II (CyR-II)」と名付けました。また、このロドプシングループは、すでに知られているシアノバクテリア由来のロドプシングループである「シアノバクテリアルハロロドプシン (CyHR)」および「シアノロドプシン (CyR)」とともに、大きなシアノバクテリア由来ロドプシンファミリーを形成することがわかり、このファミリーを「シアノバクテリアルイオンポンピングロドプシン (Cyanobacterial ion-pumping rhodopsins; CyipRs)」と命名しました。

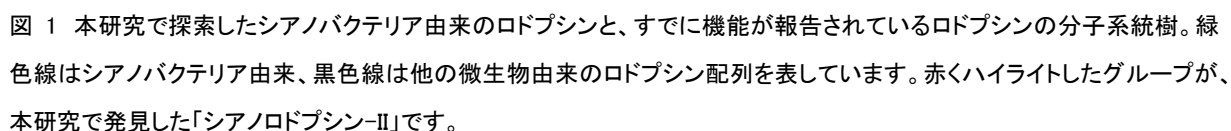


Figure 1: Schematic diagram of the experimental setup and results for measuring the light-dependent pH change in the cytoplasm of *E. coli* C41 (DE43) cells.

The diagram illustrates the experimental setup and the resulting pH change over time. The setup includes a pH meter, a constant temperature bath (恒温槽), and a light source (520 nm). The cells are exposed to light (520 nm) in a pH meter. The resulting pH change is measured over time (0 to 600 seconds).

The graph shows three curves: P7104R (solid line), CBR35R (dashed line), and MAG18R (dotted line). The P7104R curve shows a significant increase in pH (ΔpH) upon light exposure, while the CBR35R and MAG18R curves show minimal change.

Legend: — +CCCP (脱共役無し) / - - - CCCP (脱共役有り)

図 2 3 つの CyR-II の機能解析。大腸菌に CyR-II タンパク質を発現させ、暗幕内で光を照射した際の、細胞外の pH を観察することでイオンが輸送されているかを確認しました。CyR-II はいずれも、光照射により細胞外の pH が低下した、つまり細胞外の H⁺濃度が高くなったので、光駆動型 H⁺ポンプであることがわかりました。

さらに、これら3つの CyR-II についてタンパク質を精製し、分光解析を行った結果、緑色光利用型と黄色光利用型の2タイプが存在することを見出しました(図3)。また、緑色光利用型はマングローブや沿岸の微生物マット・バイオフィルムに、黄色光利用型は堆積物や土壤に分布することから、生息環境によって利用する光の色が異なる可能性が示唆されました。

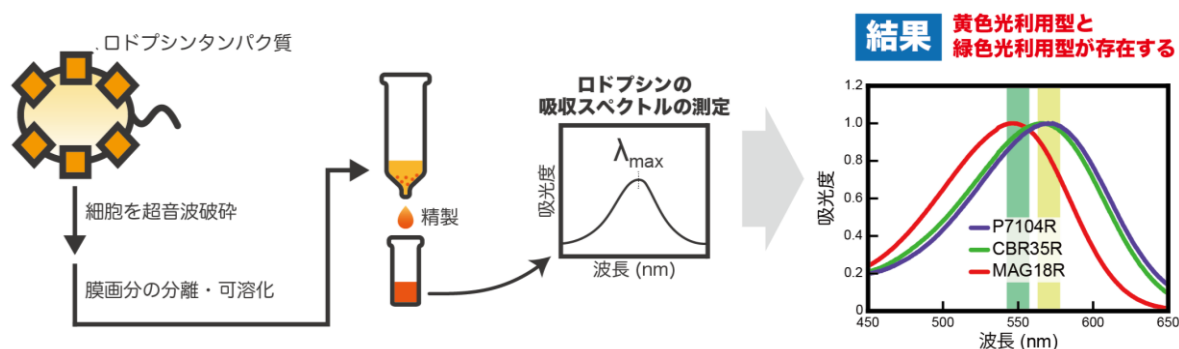


図3 CyR-IIの利用波長を調べるため、CyR-IIを発現させた大腸菌からタンパク質を精製し、吸収スペクトルを測定しました。3つのCyR-IIのうち、MAG18Rは緑色光($\lambda_{\max} = 550$ nm)を吸収し、P7104RとCBR35Rは黄色光($\lambda_{\max} = 570$ nm)を吸収することがわかりました。このことから、CyR-IIには黄色光利用型と緑色光利用型の2タイプがあることを見い出しました。

CyipRsを構成するロドプシンの中で、光駆動型 H^+ ポンプであるCyRとCyR-IIの配列は非常によく似ているため、利用波長の違いがどのように生じるのかを調べました。X線結晶構造解析^{※7}により、黄色光を利用する*Nodosilinea nodulosa* PCC 7104由来のCyR-II(P7104R)の立体構造を決定し、緑色光を利用する*Calothrix* sp. NIES-2098由来のCyR(N2098R)の立体構造と比較しました。その結果、ロドプシン内に結合するレチナール色素の周辺にあるアミノ酸が、P7104Rでは官能基の大きなアミノ酸に置き換わり、レチナール色素の立体構造を変化させていることがわかりました(図4)。これにより、利用波長が変化していることが明らかになりました。ロドプシンの利用波長は、レチナール色素の平面性が高ければ高いほど長波長になります。今回は、アミノ酸置換によってレチナール色素中のC₆-C₇単結合の平面性が上がったことで π 共役系^{※8}が長くなり、利用波長の長波長化が生じたと考えられます。

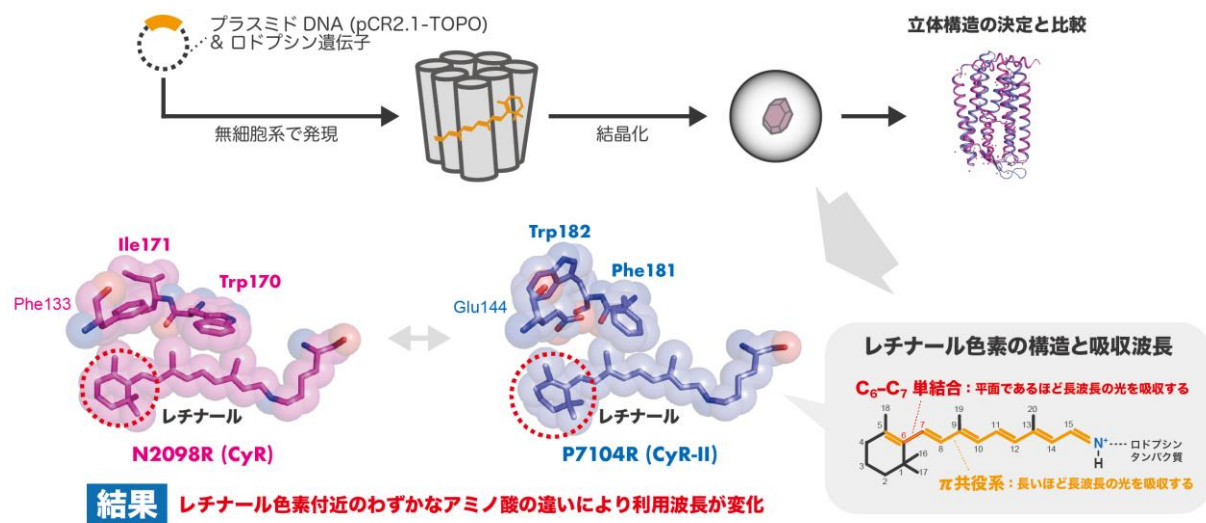


図 4 黄色光利用型の CyR-II と、緑色光を利用する CyR および一部の CyR-II の利用波長の違いが生じるメカニズムを明らかにするため、X 線結晶構造解析によって黄色光利用型の CyR-II である P7104R の立体構造を決定し、緑色光を利用する CyR である N2098R と比較しました。その結果、レチナール色素付近のアミノ酸が P7104R では官能基の大きなアミノ酸に置き換わっており(P7104R の Trp182)、これによりレチナール色素の構造が変化することで利用波長の違いが生じていることを明らかにしました。

CyR-II は、シアノバクテリアに特有な 3 番目のロドプシングループで、CyHR、CyR とともに CyipRs を構成します。ロドプシンおよびシアノバクテリアゲノムの分子系統解析の結果から、シアノバクテリア内で進化した CyipRs が、遺伝子水平伝播を通してシアノバクテリア門内に広がったことを明らかにしました。多くのシアノバクテリアは潜在的にレチナール色素を合成することができるため、ロドプシン遺伝子を獲得するだけで、ロドプシンを用いた光利用が可能です。また、ロドプシンによる光利用機構は、光合成機構に比べて、必要なタンパク質・色素の数が少なく非常に単純なシステムであり、遺伝子の水平伝播が比較的容易であると考えられます。

シアノバクテリアは、その細胞の形から 5 つのセクション (I~V) に分けられます (図 5)。今回の解析から、単細胞のグループ (セクション I) は、他のグループ (セクション II~V) に比べてロドプシンの保有率が低いことがわかりました。セクション II~V のシアノバクテリアは多細胞あるいは糸状性という特徴を持っており、成長中に細胞が凝集することで自己遮光が起こり、細胞同士で光エネルギーの奪い合いが起こることが知られています。さらに、微生物マットを形成するのは糸状性のシアノバクテリア (セクション III~V) であり、微生物マット内の細胞・細菌間で光エネルギーの奪い合いが起こります。マングローブや沿岸の微生物マット・バイオフィーム中に生息するシアノバクテリアがロドプシンを持つことは、他の細胞や細菌と光を奪い合うような環境で生き残るのに役立っている可能性があります。この結果は、Hasegawa et al. 2020 において、外洋で優占する単細胞のグループ (セクション I) に含まれるシアノバクテリア (*Synechococcus*, *Prochlorococcus*) からロドプシンが見つからなかったこととも整合しています。

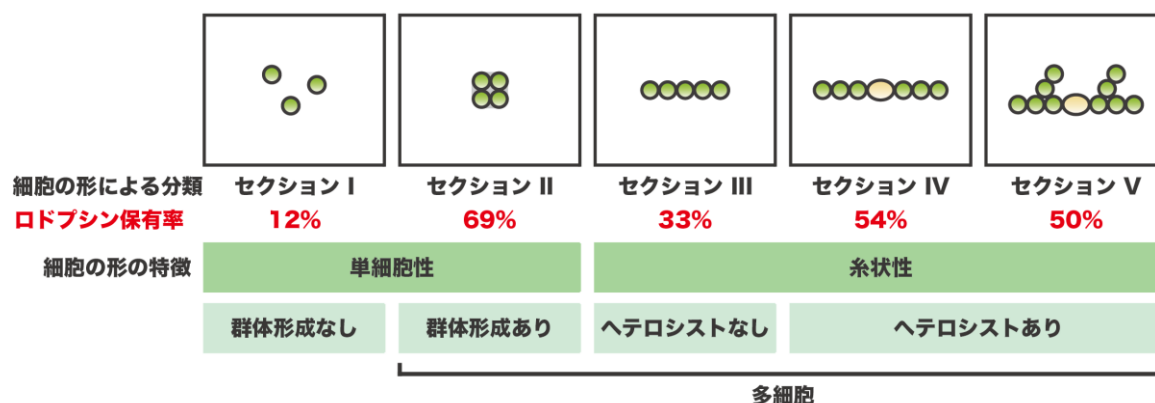


図 5 シアノバクテリアの細胞の形とロドプシン保有率の関係。単体の細胞で生活するシアノバクテリアよりも、群体や糸状を形成するシアノバクテリアに多くロドプシンが存在することを明らかにしました。

これまでシアノバクテリアは、光合成に関わる光利用機構を多様化することで、様々な光環境に適応してきたと考えられていました。例えば、光合成に必須な色素であるクロロフィルが利用できる光の波長は、シアノバクテリアの生息環境ごとに異なることが知られています。今回、シアノバクテリアのロドプシンにおいて初めて、生息環境によってロドプシンの利用できる波長が異なる例を発見しました。黄色光利用型の CyR-II は、堆積物や土壌といった特定の陸上環境に生息するシアノバクテリアから見つかっており、このような環境でシアノバクテリアが効率よく光を利用するために役立っている可能性があります。

以上の解析結果に基づき、本研究は、シアノバクテリアの光環境適応においてロドプシンが重要な役割を果たしているという新概念を提唱しました。

【用語解説】

※6 光駆動型プロトン (H^+) ポンプ：光を受け取ると細胞内から細胞外へプロトン (H^+) を排出するタンパク質。これにより形成された膜電位によって、生命共通のエネルギー通貨である ATP が作られます。

※7 X 線結晶構造解析：薬剤などの低分子やタンパク質などの生体高分子の立体構造を、分子を結晶化して X 線を照射することで調べる手法。

※8 π (パイ) 共役系：単結合と二重結合が交互に繋がっている状態。 π 共役系が長いほど、長波長の光を吸収する。

5. 今後の展望

これまでシアノバクテリアは、クロロフィル色素の多様化などを通じて、光合成に関わる光利用機構を多様化することで、様々な光環境に適応してきたと考えられていました。本研究の成果は、シアノバクテリアの光利用と進化の歴史において、ロドプシンという光合成とは無関係な光

利用システムの多様化が関与していたという新しい視座を与えます。シアノバクテリアはロドプシンをゲノム内に複数持つこともあり、それぞれのロドプシンの細胞内局在や、発現制御の条件など、ロドプシンの使い分け、ひいてはロドプシンと光合成の機能的な協調メカニズムを明らかにすることで、シアノバクテリアの光利用の歴史が「光合成機構の進化史」ではなく「光合成機構とロドプシンの2つの光利用機構の共進化史」として刷新されることが期待されます。

参考文献：

1. 東京大学大気海洋研究所・研究トピックス「光合成微生物“シアノバクテリア”の新たな光エネルギー利用機構ーシアノロドプシンの発見ー

(<https://www.aori.u-tokyo.ac.jp/research/topics/2020/20201030.html>)

お問い合わせ先：

(本研究について)

国立研究開発法人海洋研究開発機構

超先鋭研究開発部門 ポストドクトラル研究員 長谷川万純

電話：046-867-9661 E-mail：mhasegawa[at]jamstec.go.jp

国立大学法人東京大学 大学院新領域創成科学研究科／大気海洋研究所 海洋生態系科学部門
准教授 吉澤晋

電話：04-7136-6419 E-mail：yoshizawa[at]aori.u-tokyo.ac.jp

国立研究開発法人理化学研究所

生命機能科学研究センター 技師 保坂俊彰、チームリーダー 白水美香子

国立大学法人岡山大学学術研究院医歯薬学域（薬学系）

教授 須藤雄気

電話：086-251-7945 E-mail：sudo[at]okayama-u.ac.jp

(JST 事業に関すること)

科学技術振興機構

戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ 沖代美保

電話：03-3512-3524 Fax：03-3222-2064 E-mail：presto[at]jst.go.jp

(報道担当)

海洋研究開発機構 海洋科学技術戦略部 報道室

電話：045-778-5690 E-mail：press[at]jamstec.go.jp

東京大学大気海洋研究所 広報戦略室

E-mail：kouhou[at]aori.u-tokyo.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

電話：050-3495-0247 E-mail：ex-press[at]ml.riken.jp

岡山大学 総務・企画部広報課

電話：086-251-7292 E-mail：www-adm[at]adm.okayama-u.ac.jp

科学技術振興機構 広報課

電話：03-5214-8404 Fax：03-5214-8432 E-mail：jstkoho[at]jst.go.jp