

5. Y染色体の危機を乗り越える巧みな戦術

筆者らは、トゲネズミ属の祖先種において、Y染色体を維持する上で困難な状況があったのだらうと推測している。その困難な状況とは、現時点では、偽常染色体領域(PAR)に生じた変異だらうと予測している。XO型トゲネズミの元Y染色体領域が、X染色体の長腕末端部に転座していることは前述した通りである。一般的に、YからXへの転座は、PARを介して生じる。しかし、XO型トゲネズミにみられる転座は、PARとは逆の領域で生じている⁹⁾。このことから、トゲネズミ祖先種においてPARに変異が起き、精子形成のための減数分裂が進まず、妊性をもつオス個体の数が減少したのではないかと考えている。それをクリアするために、一方では新しい性決定遺伝子を獲得してY染色体を消失させたのに対し、もう一方ではY染色体に常染色体を融合させ、巨大化させるという手段をとった(図2)。近縁種間において、消失と巨大化という二極化した現象が生じたY染色体の進化過程は大変興味深い。

何とかY染色体の危機を乗り越えたトゲネズミだが、現在、人為的な要因により絶滅に危機に瀕している¹²⁾。トゲネズミが遂げた興味深い進化は、日本の豊かな自然がもたらした生物多様性の一面であり、日本の宝である。このような素晴らしい哺乳類種が日本固有に生息している事実をできるだけ多くの人に知ってもらうこと、また、筆者らの研究成果がトゲネズミの保全活動への契機となること、目下最大の目標である。

謝辞

本研究は、以下の方達にご協力いただいております。徳島大学 村田知慧、森林総合研究所 山田文雄、環境省 阿部慎太郎、中田勝士、岡山理科大学 城ヶ原貴通、宮崎大学 越本知大、篠原明男、八千代エンジニヤリング 河内紀浩、理化学研究所 黒木陽子、北海道大学 西田千鶴子(敬称略)。また、本研究は内藤記念科学振興財団の助成を受けています。

- 1) Koopman, P., Gubbay, J., Vivian, N., Goodfellow, P., & Lovell-Badge, R. (1991) *Nature*, 351, 117–121.
- 2) Sutou, S., Mitsui, Y., & Tsuchiya, K. (2001) *Mammal Genome*, 12, 17–21.
- 3) Murata, C., Yamada, F., Kawauchi, N., Matsuda, Y., & Kuroiwa, A. (2010) *Chromosome Res.*, 18, 623–634.
- 4) Matsuda, M., Nagahama, Y., Shinomiya, A., Sato, T., Matsuda,

- C., Kobayashi, T., Morrey, C.E., Shibata, N., Asakawa, S., Shimizu, N., Hori, H., Hamaguchi, S., & Sakaizumi, M. (2002) *Nature*, 417, 559–563.
- 5) Schartl, M. (2004) *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 14, 634–641.
- 6) Kuroiwa, A., Handa, S., Nishiyama, C., Chiba, E., Yamada, F., Abe, S., & Matsuda, Y. (2011) *Chromosome Res.*, 19, 635–644.
- 7) Katoh-Fukui, Y., Tsuchiya, R., Shiroishi, T., Nakahara, Y., Hashimoto, N., Noguchi, K., & Higashinakagawa, T. (1998) *Nature*, 393, 688–692.
- 8) Biason-Lauber, A., Konrad, D., Meyer, M., DeBeaufort, C., & Schoenle, E.J. (2009) *Am. J. Hum. Genet.*, 84, 658–663.
- 9) Kuroiwa, A., Ishiguchi, Y., Yamada, F., Abe, S., & Matsuda, Y. (2010) *Chromosoma*, 119, 519–526.
- 10) Murata, C., Yamada, F., Kawauchi, N., Matsuda, Y., & Kuroiwa, A. (2012) *Chromosome Res.*, 20, 111–125.
- 11) Wilhelm, D., Palmer, S., & Koopman, P. (2007) *Physiol. Rev.*, 87, 1–28.
- 12) Yamada, F., Kawauchi, N., Nakata, K., Abe, S., Kotaka, N., Takashima, A., Murata, C., & Kuroiwa, A. (2010) *Mammal Study*, 35, 243–255.

黒岩 麻里

(北海道大学大学院理学研究院生物科学部門
旧 動物染色体研究室)

Sex-determining mechanism of the Y-absent mammal
Asato Kuroiwa (Laboratory of Animal Cytogenetics, Department of Bioscience, Faculty of Science, North10, West8, Kita-ku, Sapporo 060-0810, Japan)

葉緑体酸素発生系タンパク質の分子進化と植物の環境適応

1. はじめに

一般的に光合成は、「植物が太陽光を利用して二酸化炭素を吸収し、糖に変換すると同時に酸素を発生する反応」として理解される。厳密にはこれを「酸素発生型光合成」と呼ぶが、その最初のステップは太陽エネルギーを利用して水分子を分解し、酸素と水素イオン、そして二酸化炭素の還元に必要な電子を取り出す反応から始まる。この反応を行うのが、真核生物の場合、葉緑体という細胞内小器官に存在する光化学系II(photosystem II, 以下、PSIIと略す)と呼ばれるタンパク質複合体である。酸素発生型光合成を行う生物には高等植物だけでなく、コケや真核藻類、さらには原核生物であるシアノバクテリア(ラン藻)も含まれる。このうちシアノバクテリアは、太古の時代に真核生物

の中に取り込まれて葉緑体の起源となった生物に近いと考えられている。

PSII複合体を構成するタンパク質は、シアノバクテリアから高等植物に至るまで基本的にはよく保存されており、その膜内腔側に位置するマンガン (Mn) クラスタが水分解酸素発生反応を触媒する。この Mn クラスタの周りは膜表在性のタンパク質で覆われており、これらのタンパク質は酸素発生系 (oxygen-evolving complex: OEC) タンパク質と呼ばれる。興味深いことに、この OEC タンパク質の組成は、緑色植物と葉緑体の祖先に近いと考えられているシアノバクテリアの間で異なっている (図 1)。葉緑体の祖先が細胞内共生を始めてから葉緑体へと進化する過程では、多くの葉緑体ゲノム遺伝子の核ゲノムへの移行が起こった。その中で OEC タンパク質の組成が変化することは、おそらく生育環境の変化に適応するためだった可能性が考えられる。しかしながら、その組成変化がどのようなタンパク質機能の変化や分化を反映しているのかは解明されていなかった。本稿では、葉緑体の OEC タンパク質に関連する最近の話題を、筆者らの研究結果を含め紹介する。

2. PSII 酸素発生系タンパク質の構造と機能

昨年、好熱性シアノバクテリアの PSII 複合体の X 線結晶構造解析が原子分解能で報告され、水分解を触媒する

Mn クラスタ (Mn_4CaO_5) の原子配置に加え、それを取り囲む膜表在性の OEC タンパク質についてもその結合様式などの詳細が判明した¹⁾。それによれば、シアノバクテリアの OEC タンパク質である PsbO, PsbU, PsbV は、いずれも Mn クラスタを直接配位するアミノ酸残基は持たないが、Mn クラスタの周辺構造を保って活性に必須な無機イオンの脱離を防ぐと同時に、基質となる水と生成物であるプロトンの出入り口を確保するという重要な役割を持つことが示唆されている。

緑色植物型の PSII に含まれる PsbP と PsbQ については、各々の単独での結晶構造は判明しているものの、PSII 反応中心への結合トポロジー、結合部位等の詳細は解明されていない。筆者らはタバコ由来の PsbP の結晶構造を解明するとともに、その分子機能の解析を行った²⁾。単離 PSII 膜を用いた *in vitro* の PSII 活性再構成実験によって、PsbP は水分解反応に必要な無機因子であるカルシウムと塩素イオンの結合に関与することが示されている。PsbP の立体構造は N 末端側のドメインと、 β シート構造の両側を α ヘリックスで挟んだ $\alpha\beta\alpha$ 構造を持つ中央部の二つのドメイン構造からなる³⁾が、様々な植物に由来する PsbP の機能比較から、PsbP の N 末端配列が PSII 活性維持に重要な役割を持つことが判明した。特に PSII におけるイオン保持には PsbP の N 末端 15 残基が必須であったが、この活性に必要な N 末端 15 残基は結晶構造として見えず、PSII と結

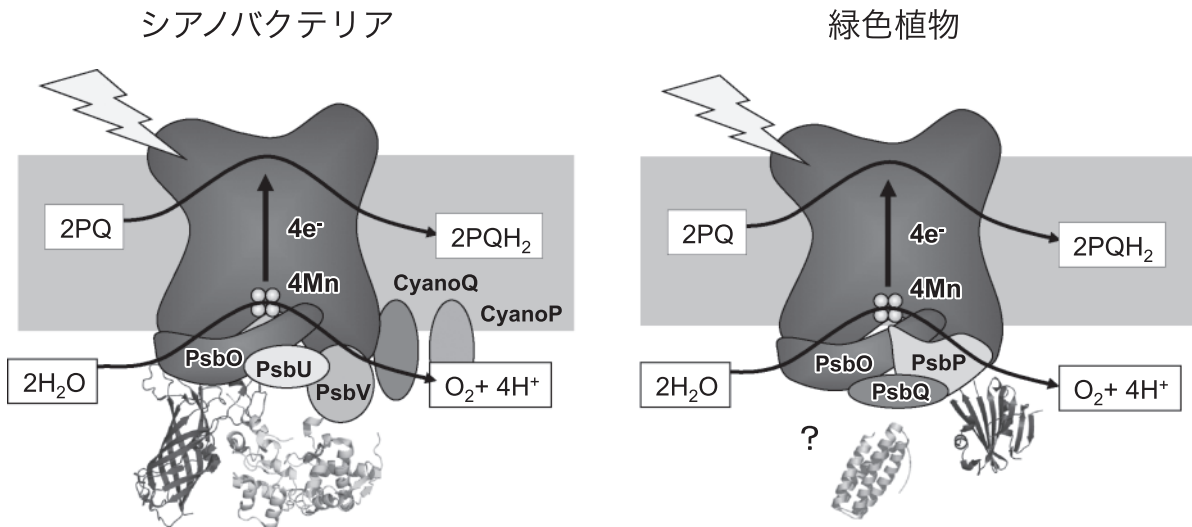


図 1 シアノバクテリアと高等植物の光化学系 II 複合体 (PSII) の模式図

PSII 酸素発生系 (OEC) の構成タンパク質はシアノバクテリア (PsbO, U, V) と緑色植物 (PsbO, P, Q) で異なる。シアノバクテリアにも緑色植物の PsbP と PsbQ の祖先と考えられるホモログ (CyanoP と CyanoQ) が存在するが、PSII における結合部位は不明。リボンモデルは各々の OEC サブユニットの立体構造と配置を示す。ただし、緑色植物の PsbP と PsbQ は単独での結晶構造である。PQ: プラストキノン

合して初めて必要な構造をとると考えられた。またフーリエ変換赤外分光測定を用いた解析により、PsbPの結合に伴いPSIIのMnクラスター周辺構造が変化すること、及び、PsbPがMnクラスター周辺の構造変化を引き起こすためにはPsbPのN末端配列が必須であることが報告された⁴⁾。

一方、PsbQは4本のヘリックスの束からなる中心構造に加え、N末端側にPSIIとの相互作用に重要な柔軟性に富む領域を有する⁵⁾。PsbQのPSIIにおける結合様式と役割は明確ではないが、筆者らは最近、高等植物由来のPSIIにおいてPsbQがPsbPの結合を安定化する役割を持つことを報告した⁶⁾。またクラミドモナス由来のPSIIを用いた解析においてPsbQはPsbPと直接相互作用すると同時に、未同定の膜タンパク質との相互作用が示されている⁷⁾。PsbPとPsbQのPSII複合体における結合位置を含めた、緑色植物型のPSII複合体の詳細な全体像が判明するにはまだ時間を要すると思われるが、PsbPとPsbQが全く構造の異なるPsbUやPsbVの機能を進化の過程でどのようにして代替したのかに興味を持たれる。

3. PSII 酸素発生系タンパク質の生理機能

緑色植物が独自のOECタンパク質を獲得した理由を知るためには、前述したタンパク質レベルの研究に加えて、生体内における生理機能解析を行う必要がある。筆者らはPsbPとPsbQのRNAi発現抑制植物の解析を行い、PsbQではなく、PsbPの欠損がPSII活性の低下や暗所におけるMnクラスターの不安定化などを引き起こすことを認め⁸⁾。PsbP-RNAi株におけるPSII複合体の形成状態を解析した結果、PsbP-RNAi株では集光アンテナ(light-harvesting complex II: LHCII)と結合した活性型PSIIであるPSII-LHCII超複合体の蓄積が顕著に減少し、LHCIIと結合しないPSIIコア複合体の蓄積が増加していた。また、クロロフィル蛍光解析から、PsbPの発現抑制は水分解酸素発生反応の阻害だけでなく、PSII電荷分離以降の光合成電子伝達の阻害も引き起こすことが示唆された⁹⁾。そこで電荷分離以降の電子伝達の阻害部位を特定するため、光合成電子伝達鎖構成成分の酸化還元状態の解析を行った。その結果、PSII内部で分離された電荷ペア($S_2Q_A^-$)が安定化され、下流への電子伝達が阻害されていることを認めた。こうした変化は、水分解反応が阻害されて電子が速やかに供給されない状態で、PSII内部の酸化力の非常に強い正電荷を電荷再結合によって効率的に消去するために働いていると考えられる。すなわち、PsbPがない状態では、PSII

は電子を送り出さない、いわばアイドリング状態にあり、PsbPがPSIIに結合することでPSIIの水分解反応側(Mnクラスター)と電子供与側が連動して活性化し、さらにはLHCIIとの結合も促進されることが示唆される。最近、LHCタンパク質の一部を欠損する変異植物体を用いた解析から、PsbPやPsbQのPSIIへの結合と、LHCタンパク質とPSIIとの相互作用に相関があることが報告された¹⁰⁾。OECタンパク質同様、LHCタンパク質も緑色植物で特異的に機能分化したタンパク質である。両者の進化が機能的にも連携しているとすれば、PSII活性制御の上では非常に合理的であり、今後のさらなる検証が待たれる。

4. 酸素発生系タンパク質の分子進化

緑色植物のPsbPやPsbQの起源については長らく未解明であったが、ゲノム解析やプロテオーム解析の進展に伴い、原核生物であるシアノバクテリアにもPsbPやPsbQのホモログが広く存在することがわかってきた¹¹⁾。最近になって原核生物型PsbP(CyanoP)とPsbQ(CyanoQ)の立体構造が解明された結果、緑色植物型のものと非常に良く似ていることがわかり、分子系統解析からも緑色植物タイプのPsbPとPsbQの祖先タンパク質であることが支持されている¹²⁾。シアノバクテリアのCyanoPとCyanoQはアミノ末端に脂質修飾を有するリポタンパク質であり、それらの欠損変異細胞はPSIIの機能に大きな支障をきたさないことから、少なくともCyanoPに関しては緑色植物型のPsbPとは機能が大きく異なっている。また、CyanoPとCyanoQは最近のPSII結晶構造中には含まれておらず、PSIIとの相互作用様式は解明されていない。

一方、緑色植物においても機能未知のPsbPやPsbQホモログが多数存在していることが明らかとなった。シロイヌナズナでは二つのPsbP-like protein (PPL)、三つのPsbQ-like protein (PQL)、そしてPsbPと弱い相同性を示す少なくとも七つのPsbP-domain protein (PPD)の存在が確認されている。筆者らは高等植物におけるPsbPとPsbQホモログの転写プロファイル解析を行い、その一部が環境ストレス下における光合成電子伝達活性の機能維持に重要な役割を持つことを推定した。実際にシロイヌナズナ突然変異体を用いた解析を行った結果、最も原核生物型PsbPに似た配列をもつPPL1が、強光で障害をうけたPSIIの修復過程に関与することが明らかとなった¹³⁾。驚いたことに、別のPPLタンパク質であるPPL2は、光化学系I周辺での循環的電子伝達に関与する葉緑体NAD(P)Hデヒドロゲナーゼ複合体(NDH)の新規サブユニットであり、かつ、他に3

種の PsbQ ホモログ (PQL1~3) も全て葉緑体 NDH 複合体活性に必須であることが判明した¹⁴⁾。以上の結果は、PsbP および PsbQ ファミリーが進化の過程で遺伝子重複を経て多様化し、光合成電子伝達鎖において多様な機能を担っていることを示唆している。

5. 葉緑体 NDH-like 複合体における役割

近年、葉緑体 NDH 複合体に関しては新しい発見が相次いでいる¹⁵⁾。それによれば、葉緑体 NDH は呼吸鎖の NADH デヒドロゲナーゼ (複合体 I) のサブユニットと相同性を示すもの以外に、数多くの独自サブユニットを有し、かつ、光化学系 I と超複合体を形成し、さらに電子受容体として還元型のフェレドキシンを受容することが明らかとなった¹⁶⁾。この結果に基づき、混同を避けるために葉緑体 “NDH-like” 複合体の名称を使うことが提案されており、そのサブユニットとして判明した PPL2, PQL1/2 に関して PnsL1, 2, 3 (Photosynthetic NDH Subunit of sub-complex Lumen) の名称が新たに与えられるに至っている¹⁷⁾。この複雑な葉緑体 NDH-like 複合体は、緑藻などの藻類には見当たらず、高等植物をはじめとする陸上植物の多くで機能していると考えられている。その生理的役割はいまだ明確ではないが、C4 光合成やストレス環境下での高い ATP 要求性に循環的電子伝達経路を介して寄与する

ことなどが想定されている¹⁸⁾。なぜ、PSII の OEC タンパク質である PsbP と PsbQ のホモログが葉緑体 NDH-like 複合体にリクルートされたのかは明らかではないが、PSII における OEC タンパク質と同様、膜タンパク質サブユニットの安定性、及び、それらの正しい相互作用を導く上で重要な役割を持つことが考えられる。

6. おわりに

一連の研究によって、酸素発生光合成生物の進化において PsbP と PsbQ のホモログ群の多様な分子進化が生じて PSII 機能や光合成電子伝達鎖機能の維持や調節が行われるようになり、その過程で緑色植物独自の機能を持つ OEC サブユニットとして PsbP と PsbQ が獲得されたことが明らかとなった (図 2)。昨年の好熱性シアノバクテリア PSII 複合体の原子分解能での構造解析結果は世界に衝撃をあたえ、究極の太陽光発電ともいえる光合成の水分解-酸素発生の分子機構が解明される期待が大きく高まっている。一方で、緑色植物型の PSII に関しては分子構造や制御のメカニズムに関して未解明な点がまだまだ多い。PsbP や PsbQ、及び、そのホモログ群などの葉緑体 OEC タンパク質の分子機能解析は、進化の過程で緑色植物が獲得した独自の環境適応機構の解明につながると同時に、植物の光合成酸素発生反応を人為的に利用するための新しい

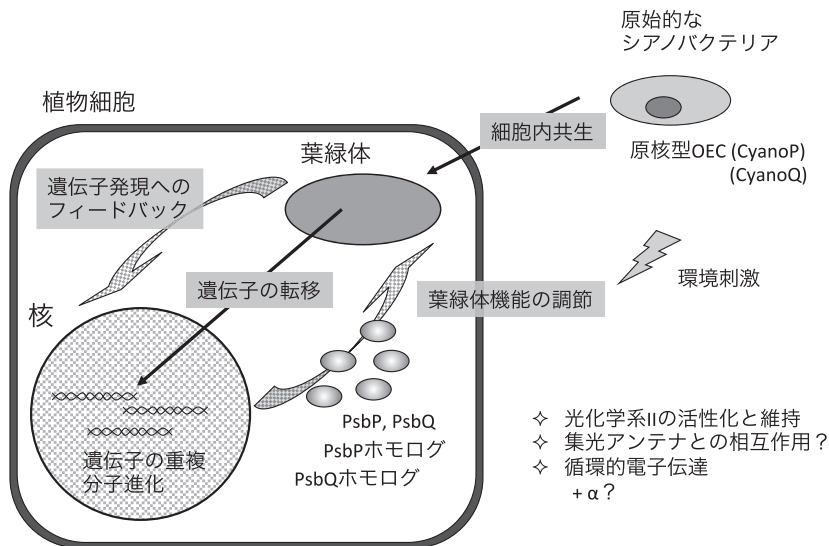


図2 緑色植物の進化における OEC ファミリータンパク質の機能分化

高等植物などの緑色植物においては、シアノバクテリアに由来する原核型 CyanoP や CyanoQ から多様な OEC ファミリータンパク質が機能分化し、葉緑体における光化学系 II 活性や循環的電子伝達などの機能を支えていることが明らかとなった。

方策を得る手がかりになると期待している。

伊福 健太郎

(京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻/
JST さきがけ「光エネルギーと物質変換」領域)

謝辞

筆者らの研究は、所属する京都大学大学院生命科学研究科全能性統御機構学分野で主に行ったものである。ご指導いただいた佐藤文彦教授をはじめ、多くの共同研究者に感謝する。

- 1) Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.R., & Kamiya, N. (2011) *Nature*, 47, 55–60.
- 2) Ifuku, K., Ishihara, S., Shimamoto, R., Ido, K., & Sato, F. (2008) *Photosynth. Res.*, 98, 427–437.
- 3) Ifuku, K., Nakatsu, T., Kato, H., & Sato, F. (2004) *EMBO Rep.*, 5, 362–367.
- 4) Tomita, M., Ifuku, K., Sato, F., & Noguchi, T. (2009) *Biochemistry*, 48, 6318–6325.
- 5) Calderone, V., Trabucco, M., Vujčić, A., Battistutta, R., Giacometti, G.M., Andreucci, F., Barbato, R., & Zanotti, G. (2004) *EMBO Rep.*, 4, 900–905.
- 6) Kakiuchi, S., Uno, C., Ido, K., Nishimura, T., Noguchi, T., Ifuku, K., & Sato, F. (2012) *Biochim. Biophys. Acta*, 1817, 1346–1351.
- 7) Nagao, R., Suzuki, T., Okumura, A., Niikura, A., Iwai, M., Dohmae, N., Tomo, T., Shen, J.R., Ikeuchi, M., & Enami, I. (2010) *Plant Cell Physiol.*, 51, 718–727.
- 8) Ifuku, K., Yamamoto, Y., Ono, T.A., Ishihara, S., & Sato, F. (2005) *Plant Physiol.*, 139, 1175–1184.
- 9) Ido, K., Ifuku, K., Yamamoto, Y., Ishihara, S., Murakami, A., Takabe, K., Miyake, C., & Sato, F. (2009) *Biochim. Biophys. Acta*, 1787, 873–881.
- 10) Caffarri, S., Kouril, R., Kereiche, S., Boekema, E.J., & Croce, R. (2009) *EMBO J.*, 28, 3052–3063.
- 11) Thornton, L.E., Ohkawa, H., Roose, J.L., Kashino, Y., Keren, N., & Pakrasi, H.B. (2004) *Plant Cell*, 16, 2164–2175.
- 12) Bricker, T.M., Roose, J.L., Fagerlund, R.D., Frankel, L.K., & Eaton-Rye, J.J. (2012) *Biochim. Biophys. Acta*, 1817, 121–142.
- 13) Ishihara, S., Takabayashi, A., Ido, K., Endo, T., Ifuku, K., & Sato, F. (2007) *Plant Physiol.*, 145, 668–679.
- 14) Ifuku, K., Ishihara, S., & Sato, F. (2010) *J. Integr. Plant Biol.*, 52, 723–734.
- 15) Peng, L., Yamamoto, H., & Shikanai, T. (2011) *Biochim. Biophys. Acta*, 1807, 945–953.
- 16) Yamamoto, H., Peng, L., Fukao, Y., & Shikanai, T. (2011) *Plant Cell*, 23, 1480–1493.
- 17) Ifuku, K., Endo, T., Shikanai, T., & Aro, E.M. (2011) *Plant Cell Physiol.*, 52, 1560–1568.
- 18) Johnson, G.N. (2011) *Biochim. Biophys. Acta*, 1807, 384–389.

Molecular evolution of the oxygen-evolving complex family proteins in chloroplasts and plant adaptation to the environment

Kentaro Ifuku (Graduate School of Biostudies, Kyoto University/JST PRESTO, Kitashirakawa Oiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606–8502, Japan)

分岐鎖アミノ酸の生理機能の多様性

1. はじめに

ロイシン、イソロイシン、バリンは、アミノ酸の側鎖に分岐構造を持つことより分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acids: BCAA) と総称される。L型のBCAAは、哺乳動物におけるタンパク質合成のための必須アミノ酸であり、タンパク質中に豊富に含まれる。一方、動物の体内には遊離型のBCAAも存在し、それらはタンパク質合成の基質であるばかりでなく、タンパク質代謝とグルコース代謝を調節する機能を有することが明らかにされつつある。特に、ロイシンによるタンパク質とグルコース代謝への作用、およびイソロイシンによるグルコース代謝への作用が明らかにされている。本稿では、これらのBCAAの生理機能を、BCAAの分解調節機構と関係づけて紹介する。

2. 血液と筋組織の遊離型BCAA濃度

筋肉は体重の約40%を占めタンパク質を多く含むので、ヒトの体内におけるアミノ酸の貯蔵庫の役割を果たしている。筋タンパク質中には約16%のBCAA (1 kg筋肉当たり約32 g) が構成成分として含まれているが¹⁾、タンパク質に組み込まれていない遊離アミノ酸 (アミノ酸プール) も存在する。このアミノ酸プール中の遊離BCAAは、1 kg筋肉当たり0.1 gにも満たない濃度 (約650 μM) であり、かなり低濃度である²⁾。また同様に、血中の遊離BCAA濃度は約400 μM (約50 mg/l) とかなり低い。これらの体内の遊離BCAA濃度は比較的安定していると考えられているが、食事でタンパク質を摂取したりサプリメントなどでBCAAを摂取すると、その濃度は急峻に上昇