

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H04136

研究課題名(和文)地球生態系と太陽を繋ぐ新しい光エネルギーフローモデルの創出

研究課題名(英文)A new light-energy flow model linking the Earth's ecosystem and the sun

研究代表者

吉澤 晋(Yoshizawa, Susumu)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：00553108

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 30,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、大規模に微生物のゲノム・メタゲノム・トランスクリプトームのデータを収集・解析を行うことで、バクテリアだけでなく、真核微生物や巨大ウイルスの持つ未知ロドプシンを探索し、その機能を明らかにした。さらに、ロドプシン遺伝子の分子系統及び分布を大規模に可視化した。また、ロドプシン遺伝子は保有するがレチナル生合成経路の遺伝子を保有しない微生物分離株を用いて、未知のレチナル生合成経路が存在する可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地球上に生息するほぼ全ての生物は太陽光に由来するエネルギーを使って生命活動を行なっている。一般的に、太陽光を生態系に流す窓口になる生物は光合成システムを保有し酸素発生型光合成を行う生物である。しかしながら、2000年に海洋微生物から微生物型ロドプシンが発見され、これまで光を全く受容しないと考えられていた微生物も太陽光を利用していることが示された。本研究では、ロドプシン遺伝子の探索および機能解析対象をバクテリアだけでなく真核微生物や巨大ウイルスまで拡張することで、生態系における光エネルギー利用の概念に新たな1ページを書き加えた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we searched for unknown functional rhodopsin in eukaryotic microorganisms and giant viruses, as well as bacteria, by collecting and analyzing data on genomes, metagenomes and transcriptomes of microorganisms. As a result, we succeeded in discovering several unknown rhodopsins and clarifying their functions. Furthermore, the molecular phylogeny and distribution of rhodopsin genes were visualized on a large scale. We also demonstrated the possibility of an unknown retinal biosynthetic pathway using a bacterial isolate that possesses the rhodopsin gene but not the gene for the retinal biosynthetic pathway.

研究分野：海洋微生物生態

キーワード：微生物生態 海洋微生物 ロドプシン 光エネルギー メタゲノム

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

地球上に生息するほぼ全ての生物は太陽光に由来するエネルギーを使って生命活動を維持している。一般的に、太陽光を生態系に流す窓口になる生物は光合成システムを保有し酸素発生型光合成を行う植物、植物プランクトン、シアノバクテリアなどである。しかしながら、2000年に海洋微生物から微生物型ロドプシンが発見され、これまで光を全く受容しないと考えられていた従属栄養性微生物も太陽光を利用していることが示された。微生物型ロドプシンは七回膜貫通型の光受容体で、レチナールを発色団として持つ。ロドプシンの機能は多様で、光で細胞内から細胞外に H^+ を輸送する H^+ ポンプの他に、光で Na^+ を細胞外に輸送するものや、 Cl^- を細胞内部に輸送するものなどが知られている。また海洋微生物を対象としたメタゲノム解析から、海洋表層に生息する原核生物の約半数は光で H^+ を細胞外に輸送するプロテオロドプシンを持つことが分かっており、特定の海域では光合成に同程度の光エネルギーを受容していると推定されている。

このような背景から、ロドプシンを通して生態系に流れ込むエネルギー量の推定は地球生態系を理解する上で必須であると考えられている。しかしながら、2000年以降様々な環境でメタゲノム解析が行われたが、メタゲノムデータはプロジェクト単位で解析されることが多く、「ロドプシン機能は環境特異性があるのか?」「全球的な分布は?」などの基礎的な事柄もよく分かっていない。また、これまでの研究から特定の真核微生物やウイルスのゲノムにもロドプシン遺伝子がコードされていることが分かってきたが、その中には機能不明なロドプシンが多数含まれている。

2. 研究の目的

本研究では上記の背景から、以下の課題を明らかにすることを目的とした。

- ① 大規模にメタゲノムデータを収集・再解析を実施し、ロドプシン遺伝子の抽出・分類を網羅的に解析することで、ロドプシン分布を全球規模で可視化する。
- ② トランスクリプトーム解析及び課題①の解析で抽出された未知機能ロドプシン（真核微生物、ウイルス由来など）の機能を解明する。
- ③ レチナール生合成関連遺伝子を持たないバクテリアの作るロドプシンが活性を持つのかを明らかにする。

3. 研究の方法

課題1

海洋微生物メタゲノム・環境メタデータ（2057メタゲノム）を大規模に収集および再アセンブルを行い、ロドプシン遺伝子の網羅的探索を実施した。最新の手法を用いて配列アセンブリを行うことで、信頼性の高いメタゲノム由来ゲノム（MAG: Metagenome-Assembled Genome）を約5万個得ることに成功した。これらのデータを用いて、ロドプシンの分布及び全長配列、またロドプシン遺伝子を保有する微生物の分類群などの推定を行った。

課題2

真核微生物トランスクリプトーム（MMETSP, The Marine Microbial Eukaryotic Transcriptome Sequencing Project）から、機能未知ロドプシンを探索し、大腸菌を用いた異種発現解析から機能解析を行った。また、海洋生真核微生物である襟鞭毛虫を対象にシングルセルメタゲノム解析を行い、襟鞭毛虫に感染するウイルスの配列の決定及びロドプシン遺伝子の探索を実施した。

課題3

海洋環境で優占するグループの中に、ロドプシン遺伝子は持つがレチナール生合成経路遺伝子を持たないバクテリアが存在することが知られている。これらのバクテリアの保有するロドプシンが活性を持つのか?（細胞内にレチナールが存在するのか?）は、長年謎とされている。そこでロドプシン遺伝子は持つがレチナール生合成関連遺伝子を持たない株を対象とし、この株の細胞内にレチナール色素が存在するのかを調べた。

4. 研究成果

課題1

大規模にメタゲノムを収集・再解析を行い全球規模で遺伝子分布を可視化できるデータベースの作成を行なった。そのデータベースからロドプシン遺伝子配列を抽出し、ロドプシン分子系統および分布の可視化を行った。その結果、ロドプシン遺伝子は海洋環境で最も多い光受容体であること、未知微生物分類群にも多数存在することが分かった。また、ロドプシン系統と環境メタデータを併せて解析したところ、環境に特化した機能が存在する可能性が示唆された（図1）。本課題で「ロドプシンが受容する光エネルギー量の推定」に必要不可欠なロドプシン遺伝子の全球分布を可視化することに成功した。系統樹には多数の未知機能ロドプシンも含まれるため、今後の研究では未知機能の解析を継続して行う予定である。

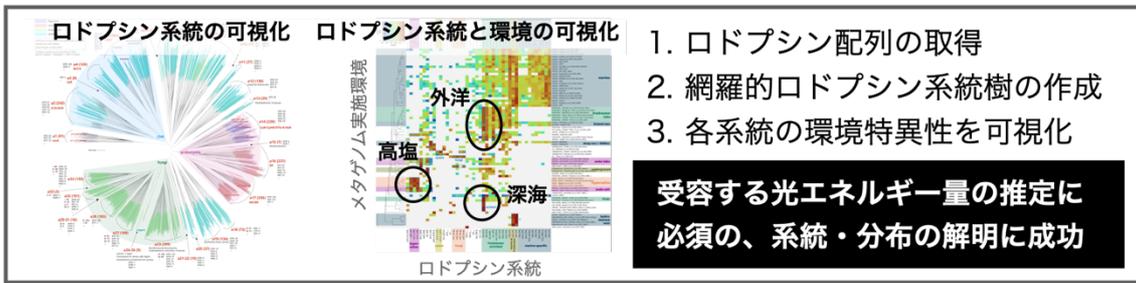


図 1. 微生物型ロドプシンの分子系統及び環境における分布

課題 2

渦鞭毛藻類 (*Oxyrrhis marina*) ゲノムから未知機能ロドプシンの見出し、その機能解析を行なった。真核微生物由来のロドプシンは一般的に原核生物である大腸菌で異種発現させることが難しく、多くの配列は未解析のまま放置されている現状がある。本課題では、真核微生物由来配列を大腸菌で異種発現させることに成功し、その機能を明らかにした。解析の結果、渦鞭毛藻由来のロドプシン (*OmR2* と命名) は光で細胞外に H^+ を輸送する H^+ ポンプ型ロドプシンであることが分かった。

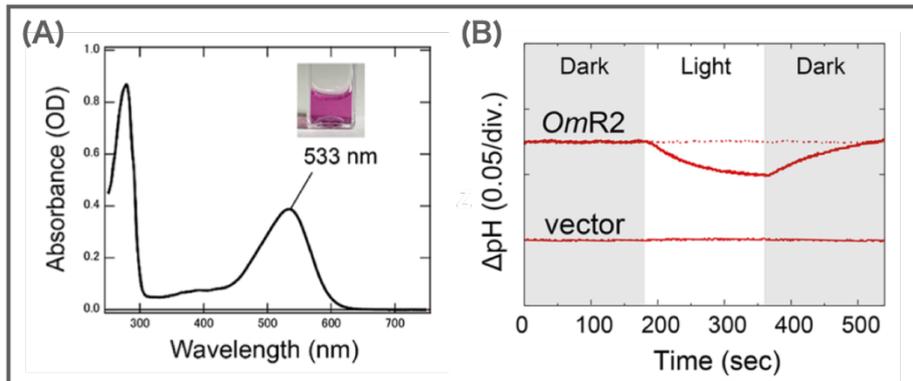


図 2. 異種発現大腸菌を用いた *OmR2* の解析。
OmR2 の吸収スペクトル(A), *OmR2* の H^+ 輸送活性(B)

単細胞真核微生物のメタゲノム解析から外洋のウイルスとして最大のゲノムサイズを持ち、襟鞭毛虫に感染するミミウイルス科の巨大ウイルスを見出すことに成功した。さらに、このウイルスゲノムにもコードされているウイルス型ロドプシンについて、X線結晶構造解析によって分子構造を詳細に解明するとともに、実際に細胞で発現させると光で H^+ を輸送する活性を持つことを明らかにした。この結果は、ウイルスがロドプシン遺伝子を感染時に持ち込むことで、宿主生物に光利用能力を新たに「インストール」という巧みな戦略を取っていることを示唆している。

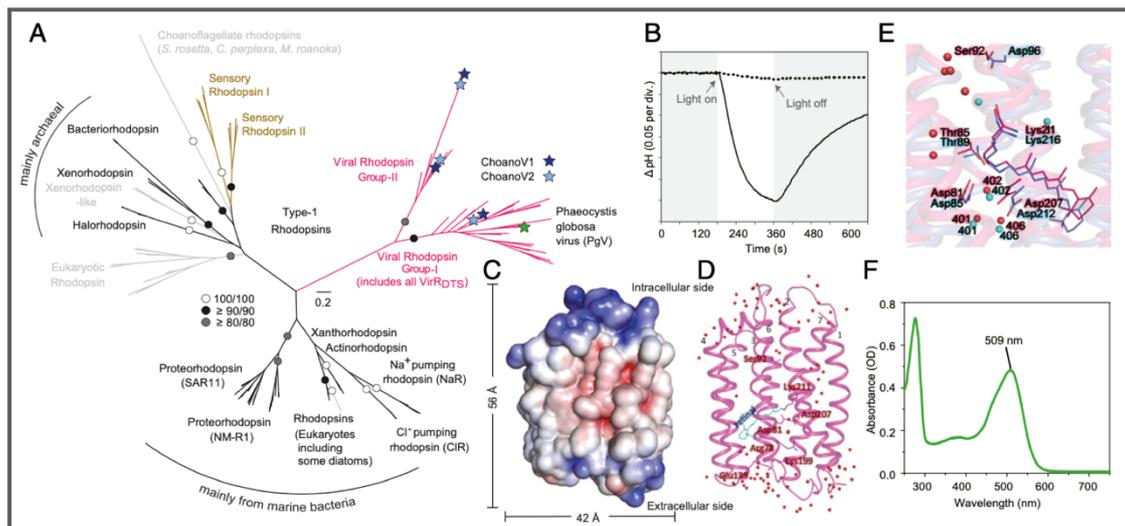


図 3. ウィルスロドプシンの解析結果。

ウィルスロドプシンの分子系統解析(A), ウィルスロドプシンの H^+ 輸送活性(B), ウィルスロドプシンの立体構造(C, D), ウィルスロドプシンのレチナル周辺構造の比較(E), ウィルスロドプシンの吸収スペクトル(F)

課題 3

本課題ではロドプシン遺伝子を保有するがレチナールが合成できないと考えられているバクテリア (*Aurantimicrobium minutum* KNC^T) を培養し、細胞内にレチナールが存在するのか？ロドプシンに活性はあるのか？を詳しく解析した。その結果、(既知)レチナール合成遺伝子を持たないバクテリアも微量ではあるがレチナールを生産し、細胞内に活性のあるロドプシンを持つことを示した。レチナール生産には必ず酵素が必要であると考えられることから、未知のレチナール合成経路が存在する可能性が高い。また、レチナールを添加した場合に *A. minutum* 細胞懸濁液中の pH 変化が大きくなることから、添加前はレチナールと結合していないロドプシンも存在することが分かった。本成果は、環境中に多数存在する既知レチナール合成遺伝子を保有しないバクテリアもロドプシンを使って光エネルギーを受容している可能性を示した。

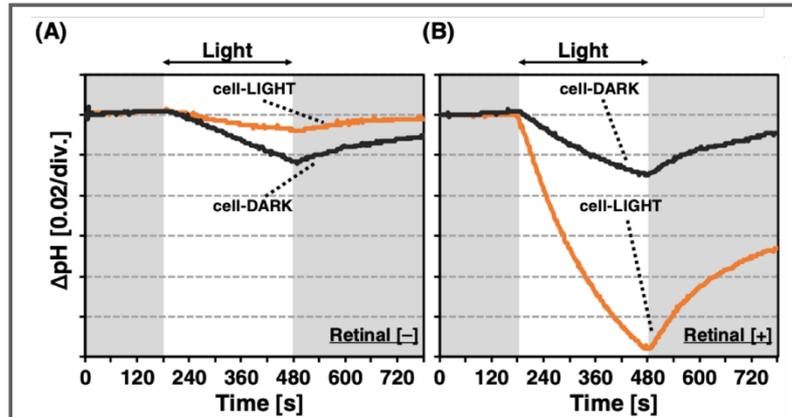


図 4. *A. minutum* KNC^T 細胞の懸濁液中の光による pH 変化. レチナール外部添加無しの場合の pH 変化 (A), レチナール外部添加した場合の pH 変化 (B)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Kikuchi Masuzu, Kojima Keiichi, Nakao Shin, Yoshizawa Susumu, Kawanishi Shiho, Shibukawa Atsushi, Kikukawa Takashi, Sudo Yuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Functional expression of the eukaryotic proton pump rhodopsin OmR2 in Escherichia coli and its photochemical characterization	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-94181-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kojima Keiichi, Yoshizawa Susumu, Hasegawa Masumi, Nakama Masaki, Kurihara Marie, Kikukawa Takashi, Sudo Yuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Lokiarchaeota archaeon schizorhodopsin-2 (LaSzR2) is an inward proton pump displaying a characteristic feature of acid-induced spectral blue-shift	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-77936-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nakajima Yu, Kojima Keiichi, Kashiyama Yuichiro, Doi Satoko, Nakai Ryosuke, Sudo Yuki, Kogure Kazuhiro, Yoshizawa Susumu	4. 巻 35
2. 論文標題 Bacterium Lacking a Known Gene for Retinal Biosynthesis Constructs Functional Rhodopsins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbes and Environments	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1264/jsme2.ME20085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hasegawa Masumi, Hosaka Toshiaki, Kojima Keiichi, Nishimura Yosuke, Nakajima Yu, Kimura-Someya Tomomi, Shirouzu Mikako, Sudo Yuki, Yoshizawa Susumu	4. 巻 10
2. 論文標題 A unique clade of light-driven proton-pumping rhodopsins evolved in the cyanobacterial lineage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-73606-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kojima Keiichi, Ueta Tetsuya, Noji Tomoyasu, Saito Keisuke, Kanehara Kanae, Yoshizawa Susumu, Ishikita Hiroshi, Sudo Yuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Vectorial Proton Transport Mechanism of RxR, a Phylogenetically Distinct and Thermally Stable Microbial Rhodopsin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-57122-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 David M. Needham, Susumu Yoshizawa, Toshiaki Hosaka et al.	4. 巻 116
2. 論文標題 A distinct lineage of giant viruses brings a rhodopsin photosystem to unicellular marine predators	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 20574 ~ 20583
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1907517116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Marshall James H., Kim Yoon Seok, Machado Timothy A., Quirin Sean, Benson Brandon, Kadmon Jonathan, Raja Cepha, Chibukhchyan Adelaida, Ramakrishnan Charu, Inoue Masatoshi, Shane Janelle C., McKnight Douglas J., Yoshizawa Susumu, Kato Hideaki E., Ganguli Surya, Deisseroth Karl	4. 巻 365
2. 論文標題 Cortical layer-specific critical dynamics triggering perception	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 eaaw5202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aaw5202	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Shibukawa Atsushi, Kojima Keiichi, Nakajima Yu, Nishimura Yosuke, Yoshizawa Susumu, Sudo Yuki	4. 巻 58
2. 論文標題 Photochemical Characterization of a New Heliorhodopsin from the Gram-Negative Eubacterium <i>Bellilinea caldifistulae</i> (BcHeR) and Comparison with Heliorhodopsin-48C12	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2934 ~ 2943
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.9b00257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hao Zhang, Susumu Yoshizawa, Ying Sun, Yongjie Huang, Xiao Chu, Jose M. Gonzalez, Jarone Pinhassi, Haiwei Luo	4. 巻 21
2. 論文標題 Repeated Evolutionary Transitions of Flavobacteria from Marine to Non Marine Habitats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environmental Microbiology	6. 最初と最後の頁 648-666
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1462-2920.14509	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 4.Shu-Kuan Wong, Susumu Yoshizawa, Yu Nakajima, Marie Johanna Cuadra, Yuichi Nogi, Keiji Nakamura, Hideto Takami, Yoshitoshi Ogura, Tetsuya Hayashi, Hiroshi Xavier Chiura, Koji Hamasaki	4. 巻 68
2. 論文標題 Amylibacter kogurei sp. nov., a novel marine alphaproteobacterium isolated from the coastal sea surface microlayer of a marine inlet	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology	6. 最初と最後の頁 2872-2877
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/ijsem.0.002911	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 5.Masumi Hasegawa, Yu Nakajima, Shu-Kuan Wong, Keiji Nakamura, Yoshitoshi Ogura, Tetsuya Hayashi, Kazuhiro Kogure and Susumu Yoshizawa	4. 巻 6
2. 論文標題 Draft Genome Sequence of Saccharospirillum sp. Strain MSK14-1, Isolated from Surface Seawater Collected at Aburatsubo Inlet in Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genome announcements	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.00469-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 吉澤 晋
2. 発表標題 微生物と光の関係を紐解く！
3. 学会等名 「第七回極低放射能技術」研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長谷川万純、保坂俊彰、小島慧一、西村陽介、中島 悠、染谷友美、 白水美香子、須藤雄気、吉澤晋
2. 発表標題 シアノバクテリアの光合成とは異なる光利用:シアノロドプシンの発見
3. 学会等名 日本地球化学会第67回年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Susumu Yoshizawa
2. 発表標題 Marine biodiversity: Light utilization of microbes & eDNA researchUTokyo
3. 学会等名 NTU Joint Conference 2019 --Co-creating the Future Society in Asia-- (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Yoshizawa
2. 発表標題 Microbial rhodopsin: a photoreceptor protein found in all environments where light reaches, and water is present
3. 学会等名 The 3rd Joint Symposium on Integrated Biosciences between Zhejiang University and the University of Tokyo (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉澤 晋
2. 発表標題 光シグナルを出す? 見る? 利用する?
3. 学会等名 共生起源研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉澤晋, 西村陽介, 岩崎涉
2. 発表標題 メタゲノム中のダークマター機能性遺伝子の解析
3. 学会等名 第32回日本微生物生態学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊谷洋平, 吉澤晋, 木暮一啓, 岩崎涉
2. 発表標題 光を使うか、それとも避けるか? 海洋細菌の二種類の光適応戦略の解明
3. 学会等名 第32回日本微生物生態学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西村 陽介, 吉澤 晋
2. 発表標題 網羅的なロドプシン系統解析から理解する微生物の進化と生態
3. 学会等名 第32回日本微生物生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Yoshizawa, Yohei Kumagai, Kazuhiro Kogure and Wataru Iwasaki
2. 発表標題 Light-adaptation strategies of marine Flavobacteria
3. 学会等名 1st International Conference on Marine Flavobacteria (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Susumu Yoshizawa, Yu Nakajima and Kazuhiro Kogure
2. 発表標題 A haloarchaeal halorhodopsin-Like Cl- Pump in Marine Bacteria
3. 学会等名 17th International Society for Microbial Ecology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉澤晋
2. 発表標題 色と遺伝子で紐解く微生物の光コミュニケーション
3. 学会等名 第2回若手シンポジウム(新学術領域研究「化学コミュニケーションのフロンティア」)(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Susumu Yoshizawa
2. 発表標題 To use light or to avoid it? Light-adaptation strategies in marine bacteria
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中島悠, 土井聡子, 小島慧一, 須藤雄気, 木暮一啓, 吉澤晋
2. 発表標題 レチナル生産遺伝子(blh)はロドプシン保有細菌に必須か?
3. 学会等名 第32回日本微生物生態学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉澤晋
2. 発表標題 ロドプシンが織りなす“複雑なタペストリー”
3. 学会等名 第25回日本微生物資源学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉澤晋
2. 発表標題 ロドプシン保持細菌の例から考える、光従属栄養性のメリットとデメリット
3. 学会等名 2018年度第3回光合成細菌ワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Susumu Yoshizawa, Yohei Kumagai, Kazuhiro Kogure and Wataru Iwasaki
2. 発表標題 光を使うか、それとも避けるか？海洋性フラボバクテリアの光適応戦略
3. 学会等名 第32回日本微生物生態学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masumi Hasegawa, Kaisei Maeda, Masahiko Ikeuchi, Susumu Yoshizawa
2. 発表標題 Physiological roles of synechocystis halorhodopsin (SyHR) in freshwater cyanobacteria
3. 学会等名 第32回日本微生物生態学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	岩崎 渉 (Iwasaki Wataru) (50545019)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------