

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06700

研究課題名(和文) クロロフィル代謝における酵素の誕生と進化

研究課題名(英文) Evolution of chlorophyll metabolic pathway

研究代表者

田中 歩 (Tanaka, Ayumi)

北海道大学・低温科学研究所・名誉教授

研究者番号：10197402

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：物質、エネルギー代謝は生命活動の中心的な役割を担っている。それらを構成する酵素がどのように誕生し、新しい代謝経路が出現したのかは、生物進化の研究において最も興味深い問いの一つである。本研究において、植物のクロロフィルを分解する酵素がクロロフィル分解とは関係のないバクテリアの遺伝子由来であることが明らかになった。この結果は、バクテリアの酵素が潜在的に持っていた活性が遺伝子の水平伝播により発揮され、新しい代謝経路の構築に利用されたことを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義：本研究は、酵素が潜在的に持っている活性が、進化の過程で新しい代謝系の構築にどのように利用されてきたかを調べたものである。クロロフィル代謝系を研究対象とし、生化学的手法によりその解明に取り組んだ。この研究は、酵素が潜在的に持つ多様な活性という分子的な実体に基づいて代謝系の進化の解明に取り組んだ点に意義がある。

社会的意義：本研究の成果は、遺伝子の改変による人工的な代謝系を利用した有用物質の生産などに応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Metabolism plays a central role in living organism. How the enzymes that constitute metabolic pathway developed and how new metabolic pathways emerged in the history of life is one of the most interesting questions in the study of evolution. In this study, it was found that the enzyme that degrades chlorophyll in plants is derived from a bacteria that is not related to chlorophyll degradation in the host cell. These results indicate that the bacterial gene was transferred to the ancestor of plants and its promiscuous activity of the enzyme was used to form a new metabolic pathway in plant.

研究分野：植物生理学

キーワード：進化 代謝系 クロロフィル

1. 研究開始当初の背景

ほとんどの酵素は、生理的な役割をもった触媒活性以外に、生理的役割のない余剰な活性を持っている。余剰な活性は選択圧を受けないため、その活性は低い状態に保たれていると予想されている。近年、この余剰な活性から新しい触媒機能をもった酵素が誕生するという仮説が提案されている。これは、生理的な役割のない余剰な触媒活性が、生物進化のある段階で有用となった場合、選択圧を受けるため、この活性が高まり、さらにこの酵素遺伝子が重複し、新しい触媒機能をもった酵素が誕生するとの仮説である。しかし、この仮説を支持する具体的な酵素進化の例は限られており、概念が先行した仮説ともいえる。この酵素進化の仮説では、次の二つの前提を置いている。1、余剰な活性は選択圧を受けないため低いままである。2、遺伝子重複によって新しい酵素遺伝子が誕生する。しかしこの前提には疑問がある。余剰な活性が低い場合、選択圧を受けることができず、その活性を高めることができない。これはこの仮説の深刻な問題点として指摘されている。また、遺伝子重複に関しても問題は多い。新しい遺伝子の獲得は、遺伝子重複よりも水平伝播によるものが圧倒的に多い。新しい酵素を獲得した原核生物や真核光合成生物の誕生前後では葉緑体の獲得を始め遺伝子の水平伝播がきわめて頻繁に起こっていると推測される。このようなことから、遺伝子重複を介した新しい酵素の誕生は水平伝播に比べまれであったと予測される。ただし、生殖細胞と体細胞が分離した陸上植物ではこの限りではなく、遺伝子重複が多いと考えられている。

2. 研究の目的

本研究で、次の二つの仮説を取り入れた酵素の進化モデルを実例をもって提案する。

第一は、余剰な酵素活性には揺らぎがあり、活性が高い場合も低い場合もあることである。上述のように、代謝系に組み込まれた酵素は代謝系の維持のためにその酵素活性は厳密に制御されなければならない。一方余剰な活性は代謝系には直接は影響をしないため、偶然その活性が高くても選択圧を受けず存在することができる。このように、余剰な弱い活性が水平伝播したのちにその活性を高めたとする説ではなく、あらかじめ高い余剰な活性が生物の中に存在しているという説に基づいて研究を展開する。

第二は遺伝子の水平伝播を組み込んだ酵素の進化の仮説である。新しい酵素や代謝系の誕生を進化の視点から理解しようとする場合、どのような時期を対象にしているかによってその考え方が大きく異なる。生命誕生直後のような場合は、環境に有機物が潤沢にあったと思われるため、正確に構築された複雑な代謝系は必要がない。細胞機能が高度化したのちであっても、原核生物であれば遺伝子の水平伝播を介した有利な形質の獲得は容易であったと思われる。さらに、真核生物が誕生したのちであっても、単細胞生物であれば生殖細胞と体細胞が分離していないため、外来の遺伝子を取り込む可能性が高いと思われる。このように、酵素の進化に遺伝子の水平伝播を考慮し、酵素の進化の仮説の検証を進める。

3. 研究の方法

研究材料として、クロロフィル分解の最初の反応を触媒するマグネシウム脱離酵素を扱う。陸上植物ではクロロフィルの分解にマグネシウム脱離酵素が必須であることが明らかになっている。この酵素を持たない変異体はクロロフィルを分解できないことが根拠となっている。このように重要な役割を持つ酵素であるが、シアノバクテリアや、紅藻、珪藻など

緑色植物と呼ばれる植物以外の光合成生物には、この酵素の遺伝子が見つかっていない。そのため、緑色植物の系統が誕生する過程で、この遺伝子を取り込んだ可能性が高い。マグネシウム脱離酵素はクロロフィルを持つ植物でだけ生理的な役割があるが、クロロフィルをもたないバクテリアにも遺伝子が存在する。これまでのところ、バクテリアの持つその遺伝子の機能についての報告はない。またその遺伝子は様々な種類のバクテリアに比較的広く散在していることもその機能の推測を困難にしている。そこで、様々なバクテリアの持つマグネシウム脱離酵素と相同な遺伝子の組み換えタンパク質を調製し、その酵素の性質を調べる。このような研究を通して酵素の進化における余剰な活性の揺らぎや水平伝播の役割を明らかにする。

4. 研究成果

様々なバクテリアの遺伝子を調べたところ、酵素活性を全く示さないものから、様々な基質を代謝できるものまで存在することが明らかとなった。そのような中で、Anaerolinea由来の遺伝子の組み換えタンパク質が、大腸菌で大量に発現し、また精製した酵素の活性が安定であることが分かった。このような性質は、生化学的な解析を進めるうえで有利であり、結晶構造解析まで視野に入れた場合、必須の性質になる。そこでこの組み換えタンパク質を材料とすることとした。

Anaerolinea はクロロフィルを持たないため、その遺伝子はクロロフィル分解にはかかわっていないと考えられる。つまり、そのクロロフィル分解活性は余剰な活性である。バクテリアの組み換えタンパク質と植物であるシロイヌナズナの組み換えタンパク質を比較したところ、酵素のキネティクスには大きな違いがみられなかった。その一方で、基質の特異性には大きな違いがみられた。植物のマグネシウム脱離酵素はクロロフィル a を基質にできるが、クロロフィル b は基質にできないことが知られていた。それに対してバクテリアの組み換えタンパク質は、クロロフィル a だけではなく、クロロフィル b やクロロフィル c などからもマグネシウムを脱離できることが明らかになった。このことはバクテリアでもっていた多様な基質を代謝できるという能力が、植物の代謝系に取り込まれた時に制約され、基質特異性が高まったことを示している。これによって植物のクロロフィル分解系が滞りなく進行できるようになったと考えられる。さらに、バクテリアのマグネシウム脱離酵素の結晶構造を明らかにし、酸性アミノ酸がクロロフィルのマグネシウムに配位しマグネシウムを脱離しているという反応機構を提唱した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Chen Ying, Yamori Wataru, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi, Ito Hisashi	4. 巻 -
2. 論文標題 Degradation of the photosystem II core complex is independent of chlorophyll degradation mediated by Stay-Green Mg ²⁺ dechelataase in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 110902 ~ 110902
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plantsci.2021.110902	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 Ono Kouhei, Kimura Madoka, Matsuura Hideyuki, Tanaka Ayumi, Ito Hisashi	4. 巻 238
2. 論文標題 Jasmonate production through chlorophyll a degradation by Stay-Green in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 53 ~ 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jplph.2019.05.004	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 Obata Daichi, Takabayashi Atsushi, Tanaka Ryouichi, Tanaka Ayumi, Ito Hisashi	4. 巻 36
2. 論文標題 Horizontal Transfer of Promiscuous Activity from Nonphotosynthetic Bacteria Contributed to Evolution of Chlorophyll Degradation Pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 2830 ~ 2841
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/molbev/msz193	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 Lim HyunSeok, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi, Ito Hisashi	4. 巻 60
2. 論文標題 In Vitro Enzymatic Activity Assays Implicate the Existence of the Chlorophyll Cycle in Chlorophyll b-Containing Cyanobacteria	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 2672 ~ 2683
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcz157	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 Furukawa R, Aso M, Fujita T, Akimoto S, Tanaka R, Tanaka A, Yokono M, Takabayashi A	4. 巻 132
2. 論文標題 Formation of a PSI and PSII megacomplex containing LHCSR and PsbS in the moss <i>Physcomitrella patens</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal Plant Research	6. 最初と最後の頁 867-880
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-019-01138-2	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 Yokono Makio, Takabayashi Atsushi, Kishimoto Junko, Fujita Tomomichi, Iwai Masakazu, Murakami Akio, Akimoto Seiji, Tanaka Ayumi	4. 巻 60
2. 論文標題 The PSI-PSII Megacomplex in Green Plants	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1098 ~ 1108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcz026	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 Hu Xueyun, Jia Ting, Hortensteiner Stefan, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi	4. 巻 290
2. 論文標題 Subcellular localization of chlorophyllase2 reveals it is not involved in chlorophyll degradation during senescence in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 110314 ~ 110314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plantsci.2019.110314	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 該当する

1. 著者名 Aso Michiki, Matsumae Renon, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi, Takabayashi Atsushi	4. 巻 62
2. 論文標題 Unique Peripheral Antennas in the Photosystems of the Streptophyte Alga <i>Mesostigma viride</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 436 ~ 446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcaa172	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 Kameo Shinsa, Aso Michiki, Furukawa Ryo, Matsumae Renon, Yokono Makio, Fujita Tomomichi, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi, Takabayashi Atsushi	4. 巻 62
2. 論文標題 Substitution of Deoxycholate with the Amphiphilic Polymer Amphipol A8-35 Improves the Stability of Large Protein Complexes during Native Electrophoresis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 348 ~ 355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcaa165	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 Shin Dongjin, Lee Sichul, Kim Tae-Heon, Lee Jong-Hee, Park Joonheum, Lee Jinwon, Lee Ji Yoon, Cho Lae-Hyeon, Choi Jae Young, Lee Wonhee, Park Ji-Hwan, Lee Dae-Woo, Ito Hisashi, Kim Dae Heon, Tanaka Ayumi, Cho Jun-Hyeon, Song You-Chun, Hwang Daehee, Purugganan Michael D., Jeon Jong-Seong, An Gynheung, Nam Hong Gil	4. 巻 11
2. 論文標題 Natural variations at the Stay-Green gene promoter control lifespan and yield in rice cultivars	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	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/s41467-020-16573-2	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 該当する

1. 著者名 Chen Ying, Yamori Wataru, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi, Ito Hisashi	4. 巻 307
2. 論文標題 Degradation of the photosystem II core complex is independent of chlorophyll degradation mediated by Stay-Green Mg ²⁺ dechelataase in Arabidopsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Science	6. 最初と最後の頁 110902 ~ 110902
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.plantsci.2021.110902	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 Dey Debayan, Dhar Dipanjana, Fortunato Helena, Obata Daichi, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi, Basu Soumalee, Ito Hisashi	4. 巻 19
2. 論文標題 Insights into the structure and function of the rate-limiting enzyme of chlorophyll degradation through analysis of a bacterial Mg-dechelataase homolog	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Computational and Structural Biotechnology Journal	6. 最初と最後の頁 5333 ~ 5347
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.csbj.2021.09.023	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 Fukura Koki, Tanaka Ayumi, Tanaka Ryouichi, Ito Hisashi	4. 巻 266
2. 論文標題 Enrichment of chlorophyll catabolic enzymes in grana margins and their cooperation in catabolic reactions	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 153535 ~ 153535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jplph.2021.153535	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 Maeda Hanaki, Takahashi Koharu, Ueno Yoshifumi, Sakata Kei, Yokoyama Akari, Yarimizu Kozue, Myouga Fumiyoshi, Shinozaki Kazuo, Ozawa Shin-Ichiro, Takahashi Yuichiro, Tanaka Ayumi, Ito Hisashi, Akimoto Seiji, Takabayashi Atsushi, Tanaka Ryouichi	4. 巻 135
2. 論文標題 Characterization of photosystem II assembly complexes containing ONE-HELIX PROTEIN1 in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 361 ~ 376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-022-01376-x	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>植物の老化や紅葉には、バクテリアの遺伝子が関わっていた https://www.hokudai.ac.jp/news/190906_pr2.pdf</p>

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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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			
中国	Yangzhou University			
韓国	National Institute of Crop Science			
インド	カルカッタ大学			