

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：82617

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19303

研究課題名(和文)非光合成生物の産生する光毒性色素の機能と地理的分布の解明

研究課題名(英文)Functionally and geographical survey of phytotoxic pigment produced by non-photosynthetic organisms

研究代表者

谷藤 吾朗(Tanifuji, Goro)

独立行政法人国立科学博物館・動物研究部・研究主幹

研究者番号：70438480

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文):非光合成生物の光毒性色素について、培養可能な生物を用いた実験系と環境メタゲノミクスを組み合わせた両輪で機能と多様性の解明を目指した。培養株での実験では、光条件に依存した遺伝子発現パターンの変動を検出し、機能既知遺伝子より機能未知遺伝子群の発現変動が多く、より生理学的アプローチが必要であることが示唆された。環境メタゲノミクスでは、植物園の淡水水生植物区画の各地点を夏・冬で2回、2年間サンプリングを行った。同じ水系であっても季節ごと、地点ごとで微生物相が異なる結果を得た。また海産サンプルでは、真核生物サイズの細胞にこれまで知られていなかった新規系統のシアノバクテリアが共生していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

クロロフィルは地球上に最も豊富に存在する色素である一方、光合成以外の機能についてはあまり考慮されていない。本研究では、海水域では沿岸部・外洋、淡水域では植物園・自然園内の各エリアの水サンプルを採集することで、疑似的に一般的な水環境を網羅的にサンプリングした。それらのエリアで非光合成葉緑体をもつ生物の多様性を解明し、環境中の存在量を推定した。今後のクロロフィルの光合成以外の機能に着目した研究により、進化多様性だけではなく生化学・生理学・生態学的な研究、および応用分野でも波及効果が期待される。

研究成果の概要(英文):We investigated the divergence and function of phototoxic pigments in non-photosynthetic organisms through a combination of metagenomics and culture experiments. In the culture experiments, we detected differential gene expression patterns depending on the light conditions. We found more expression variation in functionally unknown genes than in functionally known genes, suggesting the need for a more physiological approach. In the metagenomics approach, we conducted sampling twice a year, in summer and winter, for two years at various points in the freshwater aquatic plant section of a botanical garden in Tsukuba. The results showed that microbial flora differed depending on the season and location, even within the same water system. Additionally, previously unknown lineages of cyanobacteria were found in the eukaryotic-sized cell fraction, suggesting a symbiotic habitat for these cyanobacteria.

研究分野：微生物学、比較ゲノム学、進化学

キーワード：非光合成葉緑体 光毒性色素 メタゲノミクス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生態系の基礎生産のほとんどは光合成に依存しており、クロロフィルは光エネルギーを受容する反応中心色素であるため盛んに研究されてきた。一方、クロロフィルおよび光受容能があるクロロフィル前駆体は単体で光を受容すると活性酸素を生み出す“光毒性”を呈する(以下、光毒性色素と表記する)。光合成を行わない生物にとって光毒性色素は危険、かつ無益な分子であると考えられ、非光合成生物では合成されないとされてきた。一方で、代表者はクリプチスタと呼ばれる単細胞真核生物の *Cryptomonas* 属で、3つの系統的に独立の非光合成生物が光毒性色素を合成する酵素遺伝子をもつことを明らかにした(Tanifuji et al. 2020, *GBE*) (図1)。

上記は世界に先駆けた実験的データである。一方で、光合成性から非光合成性へと進化したクリプチスタと全く異なるサンゴ共生性微生物が、クロロフィル合成酵素遺伝子の一部を色素体ゲノムに維持している例が環境DNA解析の結果から示され注目された。本成果は、応募者たちとは別なアプローチからクロロフィル関連物質が光合成以外に機能があること、また、多様な生物がその機能を備えることを示唆する。そこで、非光合成生物の光毒性色素は機能を持ち、その機能は多様な生物によって環境に寄与しているのではないかと考えるに至った。

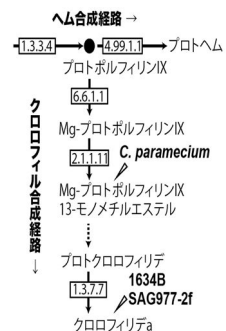


図1. KEGG データベースに参照した時のクロロフィル合成経路の予測残存酵素。各酵素は EC 番号を記

### 2. 研究の目的

非光合成生物の光毒性色素には機能があると予測した。しかし特定生物だけ研究しても、環境への寄与、生物多様性は不明のままである。他方、環境DNA解析だけでは非光合成の光毒性色素産生生物の多様性について示唆を得られるものの、機能的な推測は困難を極める。そこで培養可能な生物を用いた実験系と環境メタゲノミクスを組み合わせた両輪を有する研究スタンスで、非光合成生物のクロロフィル合成系の機能と多様性の解明を目指した。

### 3. 研究の方法

#### 1. *C. paramecium* の全遺伝子変動解析

非光合成株でも細胞成長が良い *C. paramecium* で機能解析のターゲットとして機能解析を行った。明暗条件・温度条件を変えどのような遺伝子の発現が変動するか調べた。また、光毒性色素が光受容体である可能性を考慮し、各種単色光源を用いて光応答の概要を把握する。配列の取得は Illumina シーケンサーを用い、RSEM などのパイプラインを用いて統計的に有意に変動する遺伝子を明らかにした。変動した遺伝子について、KEGG などの遺伝子アノテーション・データベースを用いてどのような生合成経路であるか特定し、光毒性色素合成と連動した機能推定を行った。

#### 2. 環境メタ・プラスチドゲノム解析

沿岸部・外洋の海水は筑波大学下田臨海実験センターをベースに、淡水域に関しては世界中に様々な環境があり、それらを網羅するのは現実的でない。そこで代表の所属する国立科学博物館実験植物園内(つくば)の水生植物区画(山間部沢沿い、山間湿地、水田・ため池、低地湿地、高山帯湿地)および付属自然教育園(目黒)から水サンプルを採集し、一般的な淡水域の環境をカバーした。各地の水を採集し、濾過法により原核生物サイズの生物を除去後、環境DNAを回収する。DNA配列を PacBio sequel のロングリードにより取得し、アセンブリ・ソフトで再現する。blast 検索により、同一配列中に光合成電子伝達系を欠きながらクロロフィル合成酵素遺伝子をもつ白色体ゲノムを探索した。

得られた DNA 配列から系統推定を行い、分布(海域や水深など)と1で行った機能推定から環境における役割を推定した。

### 4. 研究成果

非光合成生物の光毒性色素について、培養可能な生物を用いた実験系と環境メタゲノミクスを組み合わせた両輪で機能と多様性の解明を目指した。培養株での実験では、光条件に依存した遺伝子発現パターンの変動を検出し、機能既知遺伝子より機能未知遺伝子群の発現変動が多く、より生理学的アプローチが必要であることが示唆された。環境メタゲノミクスでは、植物園の淡水水生植物区画の各地点を夏・冬で2回、2年間サンプリングを行った。同じ水系であっても季節ごと、地点ごとで微生物相が異なる結果を得た。また海産サンプルでは、真核生物サイズの細胞にこれまで知られていなかった新規系統のシアノバクテリアが共生していることが示唆された。今後追加の解析を行い、論文公表を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 谷藤吾朗・松田真実・吉田崇伸・矢吹彬憲・伊藤元雄・石谷佳之・野牧秀隆・神川龍馬・蓮沼誠久・柏山祐一郎
2. 発表標題 非光合成クリプトモナスは炭素固定能力を維持する
3. 学会等名 日本寄生虫学会東日本支部大会・日本共生生物学会第6回大会 合同大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柏山祐一郎・中澤昌美・谷藤吾朗
2. 発表標題 広範な系統の真核生物に保存された新規クロロフィル代謝遺伝子 候補の機能解析
3. 学会等名 日本植物学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 丸山萌・加賀本剛・谷藤吾朗・中澤昌美・柏山祐一郎
2. 発表標題 盗葉緑体生物のNitrate reductase様遺伝子の機能検証
3. 学会等名 日本光合成学会
4. 発表年 2022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	中山 卓郎  (Nakayama Takuro)  (70583508)	筑波大学・計算科学研究センター・助教    (12102)	

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