

令和元年5月27日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H02800

研究課題名(和文) 海洋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構築

研究課題名(英文) A new light energy flow model connecting from sunlight to marine ecosystem

研究代表者

吉澤 晋 (Yoshizawa, Susumu)

東京大学・大気海洋研究所・准教授

研究者番号：00553108

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 8,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ゲノムやメタゲノムデータ解析を通して、以下の成果を挙げた。
1. PR遺伝子を持つ海洋細菌の光適応戦略を明らかにした。2. 海洋細菌から見つかったNa⁺やCl⁻輸送型ロドプシンの立体構造解析から、イオン輸送機構を明らかにした。3. 様々な環境に存在する未知微生物型ロドプシンの見出し、その機能を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

地球表層の約7割を占める海洋で、どのような生物が、どのような機構を用いて太陽から光エネルギーを受容しているのか？一般的には、海洋表層に生息する植物プランクトンが光合成により光エネルギーを利用していると答えるのが常識である。しかしながら、近年の遺伝子解析手法の発展に伴い多くの海洋細菌がロドプシンを用いて太陽光からエネルギーを受け取っていることが分かってきた。本研究では、生態系を支えるエネルギー基盤である太陽光が、ロドプシンを通してどのように海洋生態系に流れ込むのかを明らかにするため、海洋細菌の持つロドプシンの網羅的探索および機能解析を実施し、複数の新規ロドプシンの機能を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this research, the following results were obtained from genomic and metagenomic data analysis and experiments using molecular biological methods.

1. The light-adaptation strategies of marine bacteria possessing proteorhodopsin were clarified. 2. The structural analysis of Na⁺ and Cl⁻ pumping rhodopsin (KR2 and NM-R3) found in marine bacteria revealed these ion transport mechanisms. 3. The functions of unknown microbial rhodopsins present in various environments were clarified.

研究分野：海洋微生物生態

キーワード：海洋微生物 ロドプシン 微生物生態 光エネルギー

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

地球表層の約7割を占める海洋で、どのような生物が、どのような機構を用いて太陽から光エネルギーを受容しているのか？一般的には、海洋表層に生息するクロロフィルを持つ植物プランクトンが太陽光を用いて二酸化炭素を有機物に変換することで光エネルギーを利用していると答えるのが常識である。しかしながら、この常識は次世代シーケンサー出現以後の相次ぐ発見により大きく揺らぎつつある。2000年に海水をターゲットとするメタゲノム解析から、微生物型ロドプシンが海洋細菌の間に広く分布することが明らかになりプロテオロドプシン(以下、PR)と命名された。PRはオプシタンパクに発色団のレチナールが結合した光受容タンパクで、光を受容すると細胞内からH⁺を排出して膜電位を形成し、そのエネルギーでATP合成をする。言わば、“光駆動型プロトンポンプ”である。

その後の研究から、海洋細菌の多くがPR遺伝子を保持することが明らかになり、ロドプシンを通して海洋生態系に流れ込む太陽光エネルギー量の推定は地球規模エネルギーフローの理解に必要不可欠であると考えられるようになった。しかしながら、遺伝子シーケンス技術の発展に伴い、細菌ゲノムやメタゲノムデータからPRとは異なる機能未知ロドプシンが続々と見つかり、ロドプシンの光エネルギー利用機構の全貌すら分かっていない状況である。

2. 研究の目的

本研究では、以下の3つの課題を明らかにすることを目的とした。

- ① データベース上に爆発的な勢いで登録される微生物型ロドプシン配列から、未知ロドプシンを網羅的に探索し、その機能を明らかにする。
- ② 大規模メタゲノムから海洋環境中における微生物型ロドプシンの時空間的分布を明らかにする。
- ③ PR遺伝子を持つ細菌の光適応戦略を比較ゲノム解析から明らかにする。

3. 研究の方法

課題1

- ・機能未知ロドプシンの網羅的探索

微生物ゲノムおよび海洋メタゲノムの配列データを対象とし、ロドプシン遺伝子配列の網羅的探索を行った。

- ・未知ロドプシンの機能解析

得られた配列から未知ロドプシンを選抜し、それらの配列の全遺伝子合成を行い、大腸菌を用いた異種発現系を用いることで未知ロドプシンの機能解析を実施した。また精製した異種発現ロドプシンを用いて、分光学的特性を調べた。

課題2

・ハワイ沖に位置するStation ALOHAで実施された時系列メタゲノムデータを解析し、微生物型ロドプシンの変動を調べた。また、未知ロドプシンに関しては、異種発現系を用いた機能解析を実施した。

課題3

・海洋性フラボバクテリアの大規模比較ゲノム解析を実施し、ロドプシン遺伝子を持つ or 持たない細菌の特徴を明らかに、その比較を行った。

4. 研究成果

課題1

これまでの研究で分離した海洋細菌 *Rubricoccus marinus* のゲノムシーケンスを行い全ゲノム配列を決定した。決定したゲノムからロドプシン (RmXeR と命名) を見出し、機能解析を行った結果、光でH⁺を細胞内に輸送することを明らかにした。また、その他にも海洋真核微生物や土壌細菌から見出したロドプシン遺伝子の機能および分光解析を行い、成果を論文として報告した。

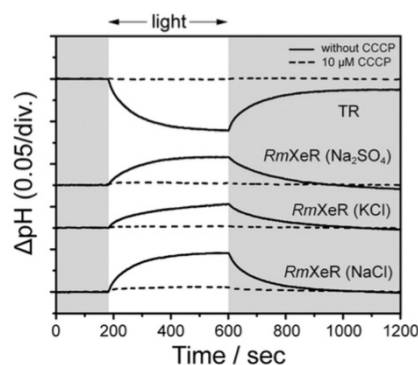


図1. 異種発現大腸菌を用いた RmXeR の光による H⁺輸送の解析

課題2

Station ALOHA におけるメタゲノムデータ（サンプリングは毎月実施し、1年半継続して行われた）を解析し、海洋中の微生物型ロドプシンの配列多様性および時空間変動を明らかにした。その結果、水深 125m でロドプシン遺伝子数が最大になること、光が届かないと考えられる 1000m からもロドプシン遺伝子が見つかることが分かった。

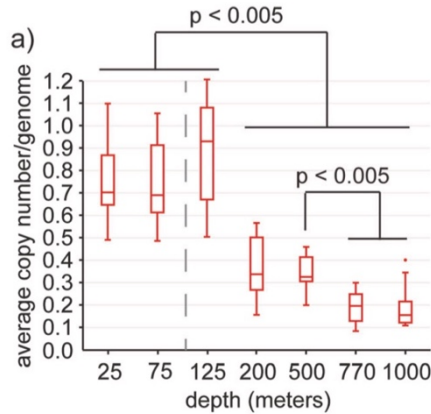


図2. Station. ALOHA における微生物型ロドプシンの鉛直分布

またそれらの配列が表層とは異なるタイプであることが明らかになった。

課題3

大規模なゲノムデータ解析から、海洋表層に生息する PR を持たない Flavobacteria は、その多くが APE (aryl polyene) または FTP (flexirubin-type pigments) という細菌の外膜に局在する色素を合成する遺伝子を持つこと、一方で、PR を持つ細菌でこれらの色素を合成する遺伝子を持つ株は、一株も存在しないことが分かった。APE、FTP はともに生物の DNA にダメージを与える紫外線を吸収する色素であり、外膜において光を遮ることで、そうしたダメージから細胞内部を保護する「日傘」のような役割があることがこれまでの研究によって報告されている。つまり、海洋表層に生息する細菌には光からエネルギーを得る「太陽電池型」と色素で光を遮る「日傘型」の適応戦略があることが明らかになった。

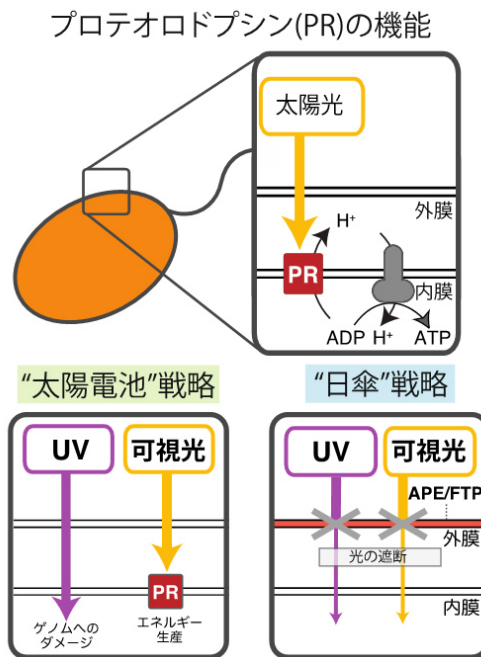


図3. (上) PR (プロテオロドプシン) の機能の模式図 (下) 光からエネルギーを得る「太陽電池型」と色素で光を遮る「日傘型」の適応戦略の模式図

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Yohei Kumagai, Susumu Yoshizawa, Yu Nakajima, Mai Watanabe, Tsukasa Fukunaga, Yoshitoshi Ogura, Tetsuya Hayashi, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Masahiko Ikeuchi, Kazuhiro Kogure, Edward F. DeLong and Wataru Iwasaki. **Solar-panel and parasol strategies shape the proteorhodopsin distribution pattern in marine Flavobacteriia**. *The ISME journal*, 12, 1329-1343. (2018) DOI: 10.1038/s41396-018-0058-4
- ② Daniel K. Olson, Susumu Yoshizawa, Dominique Boeuf, Wataru Iwasaki, Edward F. DeLong. **Proteorhodopsin Variability and Distribution in the North Pacific Subtropical Gyre**. *The ISME journal*, 12, 1047-1060. (2018) DOI: 10.1038/s41396-018-0074-4
- ③ Saki Inoue, Susumu Yoshizawa, Yu Nakajima, Keiichi Kojima, Takashi Tsukamoto, Takashi Kikukawa and Yuki Sudo. **Spectroscopic characteristics of Rubricoccus marinus xenorhodopsin (Rm XeR) and a putative model for its inward H⁺ transport mechanism**. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20, 3172-3183. (2018) DOI: 10.1039/c7cp05033j.
- ④ Takashi Tsukamoto, Susumu Yoshizawa, Takashi Kikukawa, Makoto Demura, and Yuki Sudo. **Implications for the Light-Driven Chloride Ion Transport Mechanism of *Nonlabens marinus* Rhodopsin 3 by Its Photochemical Characteristics**. *The Journal of Physical Chemistry B*, 121: 2027-2038. (2017) DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b11101
- ⑤ Satoko Doi, Takashi Tsukamoto, Susumu Yoshizawa and Yuki Sudo. **An inhibitory role of Arg-84 in anion channelrhodopsin-2 expressed in *Escherichia coli***. *Scientific Reports*, 7:41879. (2017) DOI: 10.1038/srep41879.
- ⑥ Kanae Kanehara, Susumu Yoshizawa, Takashi Tsukamoto and Yuki Sudo. **A phylogenetically distinctive and extremely heat stable light-driven proton pump from the eubacterium *Rubrobacter xylanophilus* DSM 9941^T**. *Scientific Reports*, 7:44427. (2017) DOI: 10.1038/srep44427.
- ⑦ Toshiaki Hosaka, Susumu Yoshizawa, Yu Nakajima, Noboru Ohsawa, Masakatsu Hato, Edward F. DeLong, Kazuhiro Kogure, Shigeyuki Yokoyama, Tomomi Kimura-Someya, Wataru Iwasaki and Mikako Shirouzu. **Structural mechanism for light-driven transport by a new type of chloride ion pump, *Nonlabens marinus* rhodopsin-3**. *Journal of Biological Chemistry*, 291, 17488-17495. (2016) DOI: 10.1074/jbc.M116.728220
- ⑧ 吉澤晋. 「微生物型ロドプシンの多様な機能」, 『光合成研究』, 26(2), P149-154, (2016).
- ⑨ Yuki Sudo and Susumu Yoshizawa. **Functional and Photochemical Characterization of a Light-Driven Proton Pump from the Gammaproteobacterium *Pantoea vagans***. *Photochemistry and Photobiology*, 92, 420-427. (2016) DOI: 10.1111/php.12585
- ⑩ Hideaki E. Kato, Keiichi Inoue, Rei Abe-Yoshizumi, Yoshitaka Kato, Hikaru Ono, Masae Konno, Shoko Hososhima, Toru Ishizuka, Mohammad Razuanul Hoque, Hirofumi Kunitomo, Jumpei Ito, Susumu Yoshizawa, Keitaro Yamashita, Mizuki Takemoto, Tomohiro Nishizawa, Reiya Taniguchi, Kazuhiro Kogure, Andrés D. Maturana, Yuichi Iino, Hiromu Yawo, Ryuichiro Ishitani, Hideki Kandori and Osamu Nureki. **Structural basis for Na⁺ transport mechanism by a light-driven Na⁺ pump**. *Nature*, 521, 48-53. (2015) DOI: 10.1038/nature14322

[学会発表] (計 2 1 件)

- ① Susumu Yoshizawa. **A “photo”heterotrophic lifestyle of rhodopsin-containing bacteria**. Ocean University of China–The University of Tokyo Marine Microbiology Workshop. Yushan campus of

Ocean University of China, Qingdao, China. Jun. 22, 2017. (Invited)

- ② Susumu Yoshizawa and Kazuhiro Kogure. **Microbial rhodopsin: a photoreceptor protein found in any environment where water exists and light reaches.** Joint Symposium on Ocean, Coastal, and Atmospheric Sciences. East-West Center, University of Hawaii at Manoa, Hawaii, USA. Sep. 7-8, 2017. (Invited)
- ③ Yu Nakajima, Susumu Yoshizawa and Kazuhiro Kogure. **Physiological advantage of bacteria possessing multiple rhodopsins, 14th Aquatic Microbial Ecology (SAME14),** Uppsala, Sweden. Aug. 23-28, 2015.
- ④ 吉澤晋. **微生物型ロドプシン：光利用機構の多様性は我々に何を語るのか？**. 2017年度生命科学系学会合同年次大会(ConBio2017). 神戸ポートアイランド, 神戸. Dec. 6-9, 2017. (セッションオーガナイザー)
- ⑤ 吉澤晋. **NGSが解き明かす海洋微生物の新しい光エネルギー利用機構.** NGS現場の会第五回研究会, 仙台国際センター. 仙台. May 22-24, 2017. (招待講演)
- ⑥ 吉澤晋. **海洋微生物のロドプシンを用いた新しい光エネルギー利用機構.** 第17回東京大学生命科学シンポジウム. 東京大学本郷キャンパス安田講堂, 東京(文京区). Apr. 15, 2017. (招待講演)
- ⑦ 吉澤晋. **微生物型ロドプシンの多様性は何を物語るのか？古いのか？新しいのか？クロロフィル系と光を奪いあうようなことはあったのか？**. 国立遺伝学研究所, 静岡県三島市. Nov. 3-4, 2016. (招待講演)
- ⑧ 吉澤晋. **ミッション：機能未知遺伝子の正体を暴け！**. Workshop「ゲノム時代の海洋生物学の展望」. 東京大学大気海洋研究所講堂, 千葉県柏市. Nov. 2, 2016. (世話人)
- ⑨ 吉澤晋. **ウイルスによるロドプシン遺伝子の水平伝播.** 第31回日本微生物生態学会, 横須賀市文化会館, 神奈川. Oct. 23-25, 2016. (招待講演)
- ⑩ 吉澤晋. **光あるところにロドプシンあり：水圏微生物の新しい光エネルギー利用機構.** 第一回水圏微生物研究フォーラム, 東京大学大気海洋研究所講堂, 千葉県柏市. Aug. 9-10, 2016. (招待講演)

[その他]

プレスリリース：

- ① 光を利用するか、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～
<http://www.aori.u-tokyo.ac.jp/research/news/2018/20180206.html>
- ② 光で働く新イオンポンプを発見 安定性世界新記録！
https://www.okayama-u.ac.jp/tp/release/release_id455.html
- ③ 光によってナトリウムイオンを細胞外へと運び出す仕組みの解明
<http://www.s.u-tokyo.ac.jp/ja/press/2015/17.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉澤 晋 (YOSHIZAWA, Susumu)

東京大学・新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：00553108

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。