

海洋生態系の理解を根本から覆す新しい光エネルギー利用機構 その直接測定に成功

1. 発表者：

吉澤 晋（東京大学 大気海洋研究所 地球表層圏変動研究センター 特任研究員）
神取秀樹（名古屋工業大学 大学院工学研究科 未来材料創成工学専攻 教授）
木暮一啓（東京大学 大気海洋研究所 地球表層圏変動研究センター 教授）

2. 発表概要：

私たちの食卓に並ぶ“海の幸”。これらは食物連鎖をたどれば、最終的には全て、極めて小さな生き物である植物プランクトンや海洋細菌に行き着きます。そして、これらのプランクトンや細菌の活動に必要なエネルギーは、そのほとんどが海洋表層での光合成を通じて得られる光エネルギーに由来すると考えられていました。

ところが2000年にプロテオロドプシンという新たな光受容タンパク質が海洋細菌の間に広く分布していることが見つかり、さらに、その遺伝子を大腸菌に組み込むと光エネルギーによってATP（生物共通のエネルギー物質）が合成されることが確認されました。これは光エネルギーを使って炭酸ガスを固定するクロロフィル型の光合成とはまったく異なる光エネルギー利用のしくみです。この実験は大腸菌を利用し、さらに大腸菌に様々な物質を与えるなど実際の環境とは大きく異なった条件で行われたものではありませんが、生物が光エネルギーを自らのエネルギーにする新しいメカニズムの存在が示唆されたのです。仮にこのメカニズムが正しく、この経路によって海洋生物が受け取るエネルギー総量が大きければ、これまでの海洋生態系全体のエネルギー収支を大幅に見直す必要が出てきます。

今回私たちは、海洋細菌の分離株を用いて、プロテオロドプシンの機能を初めて直接測定することに成功しました。これにより、海洋細菌が実際にこの新しい光エネルギー利用機構を用いていること、またその量が海洋生態系のエネルギー循環に対して大きな割合を占めていることを明らかにしました。この成果は、海洋生態系についての理解を根本から覆すことに迫るものであると同時に、エネルギー循環は炭素循環と密接な関係があることから、地球温暖化に関連して注目が高まっている二酸化炭素濃度の変動の理解などにも、今後影響を与えていくと考えられます。

3. 発表内容：

【研究背景】

ロドプシンとはオプシンというタンパク質とレチナル（注1）という発色団からなる光受容体タンパク質で、一般には我々の目の網膜の中にある視紅物質（注2）として知られます。これはいわゆる光センサーの機能を果たしていますが、一方、微生物にもロドプシンがあり、その多くは光があたるとイオンの輸送を行います。例えば、バクテリオロドプシンは光が当たると水素イオンを汲み出しますし、ハロロドプシンは塩素イオンを取り込みます。

これらのロドプシンは高度好塩菌（注3）を始めとして、非常に限られた環境に生息する微生物のみが持っているタンパク質だとこれまで考えられてきました。しかしながら、本研究でターゲットとしたプロテオロドプシン（以下PR）（注4）が2000年に海洋細菌をターゲ

ットにしたメタゲノム解析（注5）により発見されたことで、海洋という広大な領域にもロドプシンを持つ細菌が存在する事が示され、世界的に注目を集めることになりました。

PRは光を受けると細胞内から水素イオンを放出し、細胞の内外に電気化学的プロトン勾配を形成することで電位差という形のエネルギーに変換し（図1）、そのエネルギーを用いて細胞内で自由に使えるエネルギー物質であるATPを合成すると考えられています。また、その後の研究から海洋表層に生息する細菌の数%から数十%がPR遺伝子を持つことが見積もられており、地球規模でのエネルギー循環を考えるうえでPRが受け取る太陽光エネルギー量を推定することは不可欠な課題だと考えられています。

しかしながら、PRの機能についてはこれまで遺伝子組み換え大腸菌（異種発現）でしか解析が成功しておらず、また、PR遺伝子を持つ海洋細菌が細胞内にどのくらいのPRタンパク質を発現させるのか？ 光が当たると本当に水素イオンを排出するのか？ などの基本的な事柄もわかっていませんでした。その大きな原因の1つは海洋細菌の分離培養の難しさにあります。一般的に海洋細菌の99%は培養できないことが知られており（注6）、PRを持つ海洋細菌も“極めて難培養性”であると考えられていました。

本研究では、独自の遺伝子検出プローブを設計することにより“極めて難培養性”というこれまでの常識を覆し、多量の海洋細菌培養株からプロテオロドプシン遺伝子を検出することに成功しました。これらのPR遺伝子を持つ分離株を解析することで、PRの機能を詳細に直接測定することができました。

【PRの光駆動型水素イオンポンプ機能の測定】

本研究では、北海道にある汽水湖のサロマ湖、相模湾および西部北太平洋の表層海水から分離することに成功したPR遺伝子を持つ細菌38株の中から8株を選び、PRが光を受けると本当に水素イオンを細胞外に放出するのかを調べました。その結果、8株すべてで細菌が光を受けた際に細胞内から水素イオンを汲み出す現象を測定することに成功しました（図2）。さらに、細胞内にPRが本当に存在するのかを確認するために、PRの発色団であるレチナールと特異的に結合する試薬を用いて細胞内におけるPRの吸収スペクトルの測定を行いました（図3）。また、波長の異なる光をPRに当てた時の水素イオン排出速度（作用スペクトル）の測定も行い、細胞内で確かにPRが存在し、光で駆動される水素イオンポンプであることを明らかにしました（図4）。

【PRの水素イオン排出速度の定量化】

PRが太陽光から受け取るエネルギー量を推定するためには、1個のPRが水素イオンを排出する速度と細胞内に何個のPRが存在するのかを知る必要があります。本研究ではPR遺伝子を持つ分離株から1株を選び、それらの測定を行いました。その結果、1個のPRが1分間に約124個の水素イオンを排出すること、細胞膜に約26000個/ μm^2 の割合で存在することが明らかになりました。これまでPRは、最初に水素イオンを受け取る部位（Asp97）の半数近くが水素をすでに持っており、新たな水素イオンを受け取れない状態になっているために、水素イオンを排出する速度は遅いと考えられていました。しかし本研究により、PRの水素イオン排出速度はバクテリオロドプシンの排出速度（1分間に約204個の水素イオンを排出すると報告されている）と比較しても遜色ないほどの活性を持ち、PRが光を受けてATP合成をするのに十分な量の水素イオン排出速度を持つことが初めて明らかになりました。仮に海洋に存在する海洋細菌の表面積が $0.63\mu\text{m}^2$ 、排出された水素イオンがエネルギー損失なくATP生産に使われるとすると、1細胞で1分間に0.4fgのATPが生産されていることになります。

【まとめ】

本研究では、近年発見された新しい光エネルギー利用機構である PR の機能を海洋から分離された野生株を用いて初めて直接測定することに成功し、さらに PR の光駆動型水素イオン排出速度を解明しました。これにより、海洋細菌が実際にこの新しい光エネルギー利用機構を用いていること、またその量が海洋生態系のエネルギー循環に対して大きな割合を占めていることが明らかになりました。本研究によって得られた知見は、クロロフィル型の光合成のみを考慮して構築されてきた従来のエネルギー循環の理解を根本から覆すことを迫るものです。また、エネルギー循環は炭素循環と密接な関係があることから、今後 PR を持つ海洋細菌の生理生態のさらなる解明が地球規模炭素循環の理解にも大きな影響力を持つ事が期待されます。

4. 発表雑誌：

著者

Susumu Yoshizawa, Akira Kawanabe, Hiroyasu Ito, Hideki Kandori and Kazuhiro Kogure

タイトル

Diversity and functional analysis of proteorhodopsin in marine *Flavobacteria*

雑誌名

Environmental Microbiology 電子版 2012 年 2 月 13 日付け

doi:10.1111/j.1462-2920.2012.02702.x

アブストラクト URL：

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1462-2920.2012.02702.x/abstract>

5. 注意事項：

とくになし。

6. 問い合わせ先：

吉澤 晋 (東京大学 大気海洋研究所 地球表層圏変動研究センター 特任研究員)

04-7136-6419

yoshizawa@aori.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

注 1：レチナール

ビタミン A の一種で、ヒトの眼の中にあるオプシンの補因子にもなっている物質。

注 2：視紅物質

眼の網膜に存在するロドプシンの別名。紫紅色をしているためにこのように呼ばれる。

注 3：高度好塩菌

増殖に高い塩化ナトリウム濃度を要求する原核生物。具体的にはグレートソルトレイクのような塩湖、塩田や岩塩等に生息する。

注4：プロテオロドプシン

ロドプシンとは補因子としてレチナールを持つ、7回膜貫通タンパク質の総称である。プロテオロドプシンはプロテオバクテリアのゲノム断片から発見されたため、プロテオロドプシンと命名された。ちなみに、プロテオロドプシン遺伝子が発見されたプロテオバクテリア門の SAR86 というグループの細菌は現在もまだ培養されていない。

注5：メタゲノム解析

環境中（海水、土壌、腸内等）に存在する微生物の DNA をすべて抽出し、その塩基配列を網羅的に決定することで、その環境にどのような微生物種がいたのか等を解析する手法。環境中に存在する微生物のほとんどが培養できないことと、遺伝子解析技術の進歩が相まって近年ではよく用いられるようになった。

注6：海洋細菌の99%は培養できない

1mlの海水にはおおむね100万～10万細胞の細菌が存在しているが、寒天培地等で培養してもほんの1%程度の細菌しかコロニーを作らないことが知られている。

8. 添付資料：

以下の図1～4は、 <http://www.aori.u-tokyo.ac.jp/research/news/2012/20120216.html> からダウンロードできます。

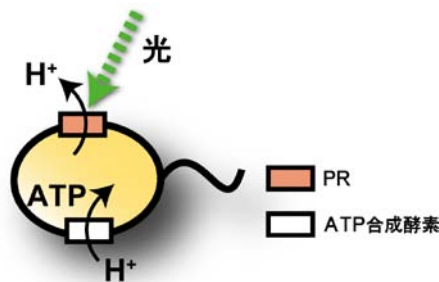


図1. PRの光エネルギー利用機構

1. PRが光を受容 2. PRが水素イオンを放出 3. 電気化学的プロトン勾配の形成 4. ATPの合成

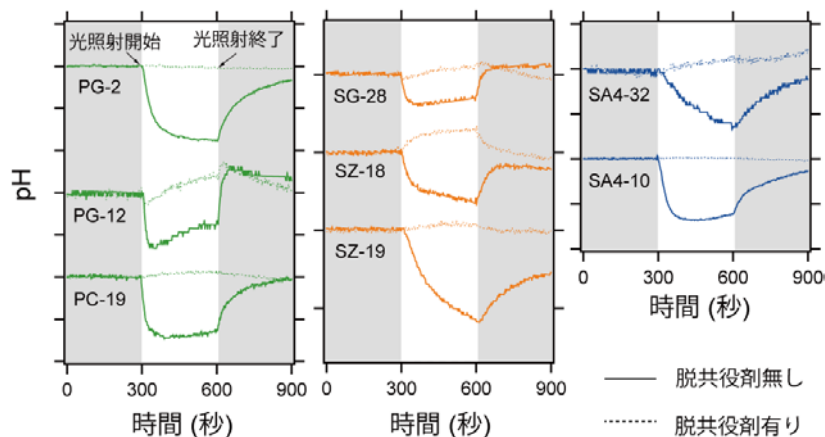


図2. PRの光による水素イオン排出機能の測定

PRは光が当たると細胞内から水素イオンを汲みだします。そのため、培養液のpHが低下します。

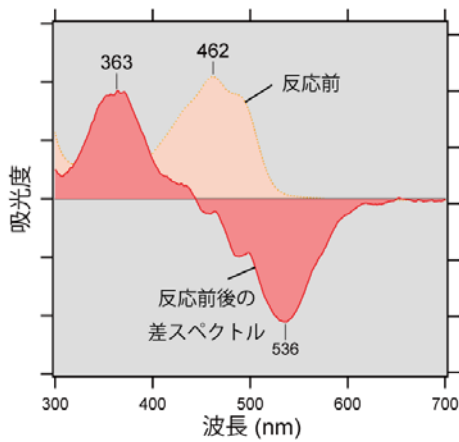


図3. 細胞内PRの吸収スペクトル

レチナールと特異的に反応する試薬を用いて、反応前後での吸収スペクトルの差からPRの吸収スペクトルを測定。536nmのピークがPR由来の吸収スペクトル。

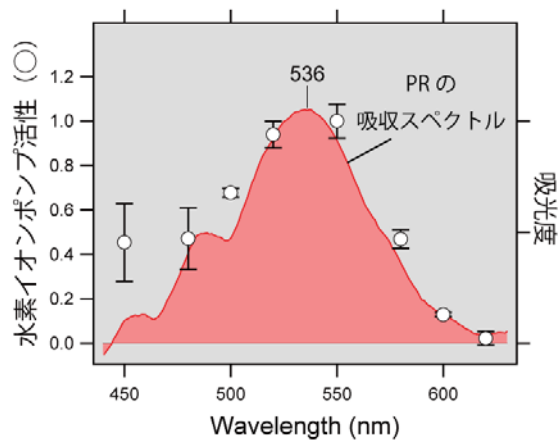


図4. 細胞内PRの作用スペクトル

各波長光におけるPRの水素イオンの排出速度を測定し、吸収スペクトルと一致する事を確認しました。