光合成研究会　会報

第24号　　1998年　5月

NEWS LETTER No. 24 May 1998

THE JAPANESE ASSOCIATION FOR PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

****

集会案内・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 2

第１１回国際光合成会議（1998年8月17-22日、ブダペスト）とハンガリーについて
基礎生物学研究所　村田 紀夫・・・・・ 3

日本-インド二国間セミナー「光合成の環境耐性-損傷と修復」参加報告
広島大学 理学部　森川　弘道・・・・・ 4

地球温暖化防止京都会議に出席して
早稲田大学 教育学部　桜井 英博・・・・・10

NIBBセミナー "Regulatory Mechanism of Photosynthesis" に参加して
東京大学 教養学部 生物　日原　由香子・・・・・ 15

酸素発生系の表在性蛋白の機能と進化
東京理科大学 理学部　榎並　勲
理研播磨研究所 光合成科学　沈　建仁・・・・・ 17

誰もが簡単に光合成を測ることができる時代
野菜・茶業試験場施設　生産部　岡野　邦夫・・・・・21

ゲノム生物学的アプローチと光合成研究
かずさＤＮＡ研究所　田畑　哲之・・・・・25

クロロフィル*b*合成をめぐる最近の話題 － 反応機構と進化をめぐって －
北海道大学低温科学研究所　田中　歩
京都大学大学院理学研究科地質鉱物学教室　富谷　朗子・・・・・28

ランソウの分子シャペロン
埼玉大学 理学部 分子生物学科　檜山　哲夫・・・・・31

Texas A & M 大学留学記　　Texas A&M 大学　片山　光徳・・・・・35

インディアナ大学留学雑感　　大阪大学蛋白質研究所　藤田　祐一・・・・・38

集会の案内

集会名（会場）［連絡先］

１９９８年

８月１３日－１７日：第１６回国際植物成長物質会議（千葉・幕張メッセ）［TEL: 048-462-9375, FAX: 048-462-4691, E-mail: ykamiya@postman.riken.go.jp ］

１９９９年

８月１日－７日：XVI Intnatl. Botanical Congress（St. Louis, America's Center)［TEL: +1-314-577-5175, FAX: +1-314-577-9589, E-mail: mail ibc16@mobot.org, Homepage: http://www.ibc99.org］

****

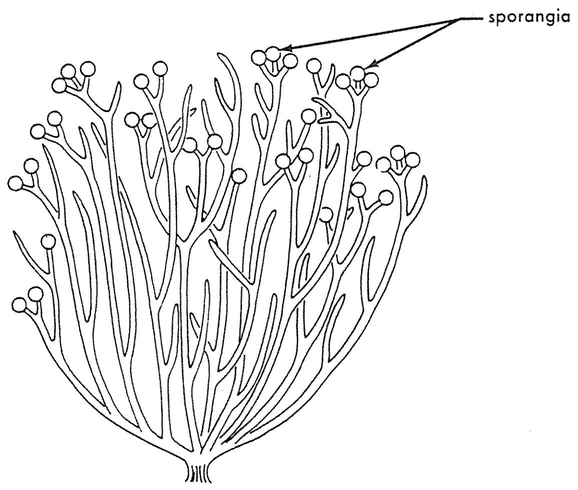


Figure 10.24 A reconstruction of *Cooksonia*, one of the first vascular plants. The above-ground portion, shown here, was less than 10 cm tall.

第11回国際光合成会議（1998年8月17－22日、ブタペスト）とハンガリーについて

基礎生物学研究所　村田　紀夫

第11回国際光合成会議も近づいて来ました。出席予定の先生方は登録をもう済ませていることと思います。今回の国際会議では7件のサテライト会議と4件の関連研究集会が計画されています（詳細は国際会議のセカンド サーキュラーに記載）。これらの会議は直前まで参加登録を受け付けると思いますので、積極的に参加することをお勧めします。発表の材料を持っているなら、オーガナイザーに「これこれの内容で講演したい。」と申し出て下さい。大抵の場合採択してくれると思います（サテライト会議や関連研究集会は概ねそういうものです）。

私はこれまで5回もハンガリーを訪問し、また十数人のハンガリー研究者が私の研究室に滞在していた関係で、この間に得た若干の知識を記させてもらいます。ハンガリーの国土は日本の約4分の1ですが、ほとんどが平地で、この国は基本的には農業国です。言語はマジャール語でウラル・アルタイ語属に属し、日本、韓国、フィンランド、エストニアと共に、この特異な言語を話す国の一つです。しかし日本語とは文章の構造が似ているだけで、互いに理解することは不可能です。しかし、いくつかの類似した単語はあると聞いています。

ハンガリーの建国は約1,100年前にさかのぼります。前身はウラル地方の王国の傭兵軍団だったそうですが、この時期大移動をしてハンガリー平野に定着したということです。その後、国土を広げ、一番大きくなった時にはアドリア海から黒海にいたる大ハンガリー王国を作ったり、またオスマントルコ（イスラム）の侵入に対するキリスト教側（ハンガリーはカソリックの国）の最前線として長く戦ったり、オーストリアと同盟したり（ハンガリーでは、マリアテレサはハンガリーの女王であってオーストリアの女帝ではありません）、最後は世界大戦で2回とも敗戦国になって国土のほとんどを失ったり、正にダイナミックな歴史の国です。このような歴史のため、強固な同一民族ですが、人種的には極めてヘテロで、ドミナントな人種はないということがDNA分析で判っているそうです。これを反映して、姓氏は多彩で、マジャール語のものは少ないようです。

ハンガリーにおける光合成研究は、ハンガリーの東南に位置する都市セゲドの、Biological Research Center (BRC) が中心になって展開していると言って過言ではないと思います。今回の組織委員長のGyoza Garab もここの研究者で、その他にも名の知られた光合成研究者がこの研究センターに所属しています。元をたどると、アグネス・ファルーディという方が、強力に光合成研究グループを作ったそうで、今いるBRCの光合成研究者はほとんど彼女のお弟子さんだそうです。BRCの規模と研究者の数は大体基生研と同じ位です。セゲドではサテライト会議も開催されるので、出席したついでにBRCを訪問するのも興味深いと思います。光合成の研究者はセゲドの他にも、ブタペスト等の都市にもたくさん居ますが、セゲドのように集中してはいないようです。

以上、取り止めもないことを書きましたが、ハンガリー到着前の参考になればと思います。ハンガリーで会いましょう。

日本ーインド二国間セミナー「光合成の環境耐性-損傷と修復」(India-Japan Joint Seminar on Stress in Plants) 参加報告

広島大学 理学部 森川弘道

1998年2月5日から2月7日まで、3日間、ニューデリー市でDST (the Department of Science and Technology, India)とJSPS (Japanese Society of Promotion of Science)のsupportで、日本側代表者基礎生物学研究所村田紀夫教授、インド側代表者Jawa harlal Nehru University, School of Life Sciencesのプラサナ・モハンティ教授で 開かれた。日本側参加者は、村田紀夫教授の外、浅田浩二(福山大)、小川晃男(名古屋大)、横田明穂(奈良先端大)、小俣達男(名古屋大)、寺島一郎(大阪大)、和田敬四郎(金沢大)、林秀則(愛媛大)、櫻井英博(早稲田大)各教授と私の合計10名であった。

光合成研究分野に関して素人に近い私は、本セミナーで多くのことを学ぶことができた。さらに、本誌に本セミナー参加報告を書く機会を得たので、さらにこの分野の 勉強を深めるつもりであえて間違いを恐れず、本セミナー見聞記を書き、本セミナー 参加報告としたい。私の理解の不適切さと無知のため以下の内容でおかしな点があり ましたら、村田教授はじめ演者諸氏に直接おたずねいただきたい。

インド側の研究者の中には非常にレベルの高い真摯な研究者がいることに深い感銘 を得た。また、インドと言う国と国民について現地に行ってこれまでの自分の認識を 大いに改める必要を強く感じた。この二つの点が私自身の大きな収穫である。

2月4日の昼頃関西空港を発して、バンコック経由でニューデリーに入り、ホテルに チェックインしたのは現地時間の深夜1時を過ぎた頃であった。2月5日朝8時半ころか ら登録などがはじまり、10時からオープニングセレモニーが日本側およびインド側参 加者を加えて、多数の参加者を迎えて開かれた。まず、インド側代表者モハンティ教 授が挨拶し、インド側組織委員会のメンバーおよび日本代表者の村田教授がオープニ ングアドレスをした。以下にアブストラクトにもとづき、講演の要点をまとめる。紙面の都合もあり、氏名、所属、演題のみの紹介の部分もあることお断りする。また、ポスターセッションについては割愛した。

初日の2月5日には以下の講演があった (10:00-18:30)。

Inaugural lecture

Norio Murata : Stress tolerant transgenic cyanobacteria

生物の低温耐性はグリセロ脂質の不飽和度と高い相関がある。らん藻における低 温誘導による膜グリセロ脂質の不飽和化は、細胞の低温耐性獲得の戦略であると考え られる。desaturase遺伝子の導入・発現によりらん藻細胞が低温耐性を獲得するいく つかの実例が報告された。さらに、この遺伝子操作による低温耐性の獲得は低温処理 で生ずる光阻害におけるPSII複合体が耐性を持つためであるとの作業仮説が述べられ た。さらに、土壌細菌の一種である *Arthorobacter*

globiformis 由来の choline oxidase 遺伝子(*codA*)を導入・発現したらん藻はグリシンベタインを蓄積し、耐塩性を高 めることが示された。興味深いことに、このグリシンベタインの蓄積はこの細胞の低 温耐性および高温耐性を向上させることが示された。 本講演の中で、村田教授は膜脂質の不飽和化や適合溶質生合成酵素遺伝子の操作に より、らん藻細胞からイネなど高等植物に至る広範な生物の低温および高温耐性など ストレス耐性を顕著に向上させることを同教授のグループのこれまでの研究成果を中 心に系統的かつ明快に講演し、本ジョイントセミナー参加者一同に大きなインパクト を与えた。また、特にインド側の若い研究者、学生から熱心な質問や critical なコメ ントが時間を延長してなされ、本研究に対するインドの若い層の関心の高さが伝わっ てきた。

Kozi Asada : Molecular mechanism of water-water cycle and its function

浅田教授は同教授のグループの膨大なデータを駆使してwater-water cycleとその 機能について、講演された。いつもながら同教授のスピードについていけた聴衆は多 くはないと思われたが、同教授の研究の深さにすべての聴衆が圧倒されたように思っ たのは私だけだったのでしょうか。いずれにせよ、あまり予備知識のない私には正直 なところ途中でついていくことができないようになった。ご講演の要旨に基づくと 同先生のご講演の概略は以下の通りである。葉緑体中の生理学的電子受容体の供給が 十分ではない場合には、PSI において、O_2 からスーパーオキサイドアニオンラジカル が生成する。このラジカルを除去するサイクルとして superoxide dismutase ascorbate peroxidase monodehydroascorbate radical reductase などが関与した water-water cycle が PSI 複合体の近辺に存在する。このサイクルは生葉において 30% の photon energy を dissipate することがわかっており、このようにして過剰の光エネルギー存 在下でのスーパーオキサイドアニオンラジカルによる炭酸固定酵素などの失活が防が れている。

A.K.Tyagi (University of Delhi): Mechanism of regulation of plastid and nuclear genes in plants by light and development

A. N. Misra (University of Pune): Response of spinach leaves to light and temperature: Changes in thermoluminescence and positron annihilation properties

Akiho Yokota : Plant stresses and RuBisCO

RuBisCOは酵素として多くの欠点を持っている。reaction turnover rate が低くふつうの酵素の 1/100 から 1/1000 である。また、CO_2 に対する親和性が低く、さらに oxygenase 活性を持っている。その結果、RuBisCo は3ないし4分子の CO_2 を固定する間に1分子の O_2 を固定する。これらの欠点を改良したスーパールビスコをデザインできれば、C3植物の生産性を高めることができる。また、水分ロスも低減するので乾燥耐性へも つなげることができる。これまでに、紅藻の一種である*Galdieria partita*のRuBisCO はCO_2に対して高い親和性を持つことが見いだされた。また、タンパク質工学的に2個 のアミノ酸を変換してバクテリア由来のRuBisCO の活性を高めることができた。高等植物での本格的なルビスコ改良の研究は多くの聴衆の注目を惹き、沢山の質問やコメ ントを集めた。

D. C. Uprety (Indian Agricultural Research Institute)： Response of *Brassica* species to elevated CO_2 under moisture stress condition
B. C. Tripathy (Jawaharlal Nehru University)： Signal transduction from root to shoot in the greening process

この日はインド側の配慮からセッション後は特別なスケジュールがなく、はじめて 自由時間となった。2月5日は偶然にも村田さんの誕生日であった。

2月6日は以下の講演があった(9:30-18:00)。また、この日は期せずして、小川さん の誕生日であった。

Teruo Ogawa： CO_2 concentration and proton exchange in cyanobacteria

時間の関係もあり、後半の話題を中心に講演された。らん藻では光依存および Na^+ 依存のproton etrusionが観察される。酸性pHでは生育できず、光誘導のproton etrusionを欠く*Synechocystis* PCC6803の変異株を用いてこの変異を相補する遺伝子(*cotA* 後に *pexA* と命名された)がクローン化された。この遺伝子の産物PexAは細胞膜に局在 すること、また高等植物の葉緑体ゲノムの遺伝子 *cemA* にコードされる包膜タンパク質 であるCemAと高いシーケンスホモロジーを持つことが分かった。種々の生理生化学実 験からPexAはプロトン交換装置として、細胞や葉緑体における電荷やpHの恒常性制御に寄与していると考えられた。

Renu Khanna-Chopra (Indian Agricultural Research Institute)： Regulation of senescence by drought, high temperature and sink intensity in crop plants
S. R. Mishra (Environmental Bioloty Unit)： Photoinhibition of photosynthetic activity of a submerged aquatic angiosperm, *Hydrilla verticillata* at alkaline pH
Anjana Jajoo (Vigyan Bhawan)： Role of anions in lowering Mg^{2+} induced changes in the distribution of absorbed excitation energy
Tatsuo Omata ：Adaptation of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7942 to nitrogen-limited conditions and carbon-limited conditions

らん藻である *Synechococcus* PCC 7942 を用いた、硝酸 / 亜硝酸イオントランスポー ターと重炭酸イオントランスポーターに関するタンパク質、遺伝子レベルでの演者らの最新の成果についての分かり易い魅力的な講演であった。両者とも細胞膜に局在し、ABC-typeトランスポーターと呼ばれるもので低窒素や低炭素栄養条件で重要な生理的役割を果たすものと考えられる。講演を聴いた後、このような定量的な結果が今後 一層高等植物など複雑な系での窒素、炭素代謝の分子機構の解釈に大きなインパクト を与えることは必至と感じられた。

A. S. Raghavendra (University of Hyderabad)： Effect of osmotic stress on photosynthesis and photoinhibition in mesophyll protoplasts and detached leaf disks
Hiromichi Morikawa： Novel assimilatory and dissimilatory nitrate reduction in transgenic tobacco plants that lack nitrite reductase activity

NiRcDNAをアンチセンス方向に発現させ、NiR酵素活性をほぼ完全に欠くトランスジェニッ

クタバコ植物を用いて、^{15}Nでラベルした硝酸塩や二酸化窒素を与えた場合、硝酸還元やN_2Oの生成が認められた。これらの結果から植物にはNiRを介さない硝酸還 元系が存在することまた、いわゆる脱窒素系が存在することが示唆された。

S. Shivaji (Centre for Cellular and Molecular Biology): How do psychrotrophic bacteria from antarctica adapt to low temperature?

Rama Vaidyanahan (SPIC Science Foundation): Salt stress responses in rice: charactereization of *OsAsr1*, an ABA and osmotic stress induced cDNA

Raj Bhatnagar (Internatinal Centre for Genetic Engineering and Biotechnology): Transformation of tobacco plants with insecticidal toxin gene for protection against predation by *Heliothis armigera*

Ichiro Terashima : The cause of PSI photoinhibition at low temperatures in chilling sensitive plants

低温感受性植物であるキュウリで、光照射下での低温障害はPSIの障害に起因するとの *in vitro* 実験での著者らの結論を、*in vivo* 実験で検証した。キュウリ葉を光照射下で低温処理すると、ヒドロキシラジカルがFenton reactionにより形成され、PSIが 障害を受けるものと結論された。同教授の斬新な考えに触発され若い研究者などから 多くの質疑が飛びかった。

A.Grover (University of Delhi): Molecular biology of the response of rice cells to different abiotic stress

B. Ghosh (Bose Institute): Regulation of gene expression in rice cultivars in response to salinity stress and influence by polyamine

V. Jain (Indian Agricultural Research Institute): Nitrogen stress and photosynthesis in two wheat genotypes

この日はその後モハンティ教授はじめインド側主催のレセプションがあった。インド側の参加者及び多数の学生など若手研究者も集まりアルコール抜きの vegetalian style でのなごやかな会が深夜まで続いた。

2月7日は、以下の講演および総合討論があった (9:30-17:00)。

Keishiro Wada: Does proline acumulation protect *Arabidopsis thaliana* against drought stress?

根を切除したシロイヌナズナ植物実生を用いた新しい乾燥ストレス耐性評価方法を 開発し、この方法を用いて、プロリン生合成阻害剤であるハイドロキシプロリンでシロイヌナズナ植物を処理するとプロリンの蓄積が抑制され、植物のNaCl耐性が低下す ることが示された。同教授の独創的な研究とその手法に多くの質問やコメントがなさ れた。

K. C. Bansal (Indian Agricultural Research Institute): Development of stress tolerant transgenic crop plants

I. B. Jha (Jawaharlal Nehru University): Low dose ultraviolet-B effects on *Spirulina platensis* cells: modification of chromophoreprotein interaction and energy transfer characteristics of phycobilisomes

Hidenori Hayashi ：Genetic engineering of betaine accumulation in *Arabidopsis thaliana*

土壌細菌の一種である *Arthorobacter globiformis* 由来の choline oxidase 遺伝子(*codA*)を導入・発現したシロイヌナズナ植物の耐塩性に関する最新の成果が報告された 。特に、葉緑体にグリシンベタインを蓄積させたトランスジェニックシロイヌナズナ 植物は200mMNaCl存在下でも耐性を示し、特に根の成長は非形質転換体に比べ顕著に良好であった。興味深いことに、*codA*の過剰発現(グリシンベタインの蓄積)は発芽などおいて、低温耐性を向上させていることも併せて報告され、注目をあびると共に形質転換法の奥の深さを印象づけた。

M. V. Rajam (University of Delhi)： Salt-induced polyamine accumulation in rice: protection of stressed seedlings by exogenous polyamines

Hidehiro Sakurai：Defensive enzymes against oxidative stress and mechanism of sulfite accumulation in green algae

クロレラでの亜硫酸ガスの取り込みについて、亜硫酸のPKaの温度効果などを考慮 すると、亜硫酸ガスの取り込みの温度係数 (Q10) は1.45 となり、 このガスは単純拡散で細胞膜を透過するとの結論を得た。この結果はアポプラストのpHやNO_2など酸性ガ スの存在が亜硫酸の取り込みに重要な意味を持つことを示すものである。

P. A. Kumar (Indian Agricultural Research Institute)： *Bt*-Transgenic vegetable crops for insect resistance

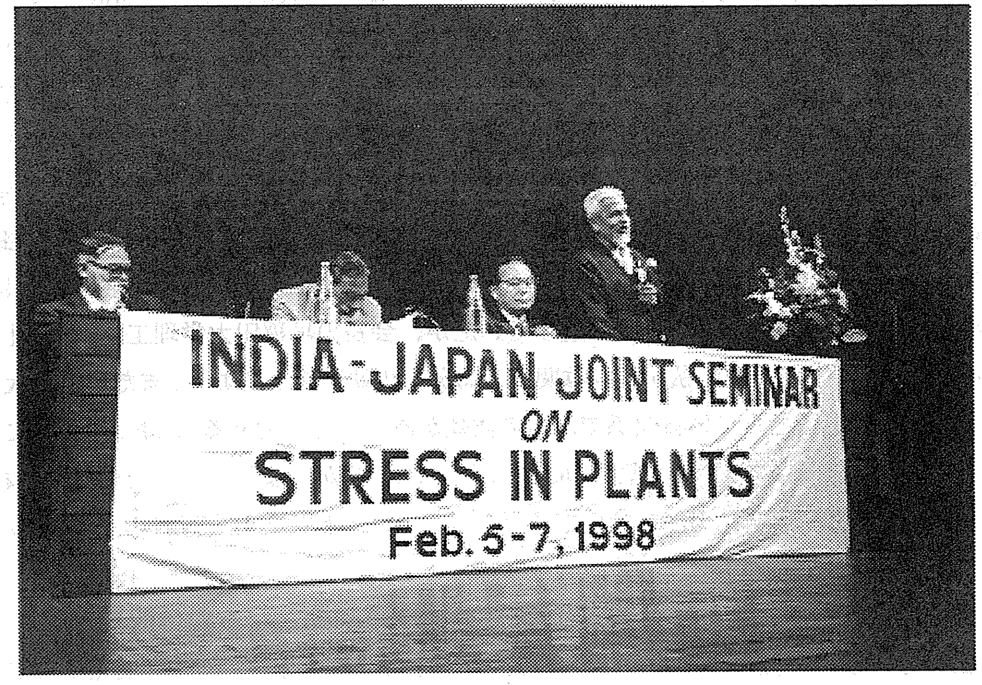
Group discussion

D. Balasubramanian ; N. Murata; P. Mohanty; G. Padmanabham (DST)

この日は、その後村田紀夫教授はじめ日本側主催のレセプションがあった。インド側 の参加者及び多数の学生など若手研究者も集まりvegetalian style だが、少しアルコ ールもついた、また浅田教授の美声も披露されにぎやかな会が夜遅くまで続いた。

おわりにわが国の10倍近い人口を抱えるインドが21世紀に向けて、食糧問題にどのように取り組もうとしているのか、について、実地にみることができたので大きな成果があっ た。特に、イネの耐塩性、耐乾燥性などを中心にした将来の育種目標に焦点を絞った 光合成系の障害や生体膜の基礎研究の実状について、現場の第一線の研究者および博 士課程学生の生の声を実地にを見ることが出来たのが大きな成果であった。育種上の 課題はインド側でかなりはっきりしており、わが国の基礎研究とコンバインすること により、将来に向けて大きな成果が上がるのではないかと実感した。将来の大きな食 糧危機という大きな「爆弾」を抱えた、インド国が作物を含めた植物のストレス生物 学について、わが国の先端的研究に学び、追いつき追い越したいという意欲が本ワー クショップでの研究発表者一人一人に強く感じられた。このようなプログラムを通し て、かの国の熱意に答えることはアジアの一国としてのわが国の責務であろうと痛感 した。また、Inidian Agricultural Research Institute の Dr. Uprety がインド国民 の約7割はvegetalianなので、インドでは当分食糧は自給可能である、また、潅漑や 電化の促進でさらに食糧増産を高めるポテンシャルを持っていると語ったのが印象的 であった。また、若手の研究者

は"Simple life and high thinking"のヒンズーイズム生活スタイルをインド国民の多くは堅持していると目を輝かして語ったことも極めて鮮やかな印象として残っている。また、機会があれば是非再度訪れたい国だと思ったのは私だけではないだろう。



オープニングセレモニーでのスナップ。

==

森川弘道氏の E-mail : hmorikaw@sci.hiroshima-u.ac.jp, Fax : +81- 824 -24 -0749

地球温暖化防止京都会議に出席して

早稲田大学 教育学部　桜井 英博

まえがき

この会議の正式名称は、気候変動に関する国連枠組条約 (UN/FCCC United Nations Framework Convention on Climate Change) 第3回締約国会議 (COP3:Conference Of Parties, 3rd Session)で、1997年12月1-10日に京都で開かれた。世界160余ヶ国から1万人近くが参加し、先進国全体として2008-2012年に温室効果ガスを基準年(1990年)に比べて5.2%削減するという京都議定書 (Kyoto Protocol) を採択して閉会した。私はOWLS (Optics Within Life Sciences、学会本部はドイツ) という国際応用光学会関連の学術NGO代表としてオブザーバーの資格で、情報収集を主目的として出席したので、会議前後の状況を含めて報告する。出席に至る経過は偶然的で、OWLSは過去2回のCOPに代表を送っていたが、会長の早稲田大学理工学部 大頭 仁教授が外遊中で出席できないため、私が多少は関連する分野の研究をしており、また早稲田大学環境保全センター所長をつとめている関係で出席の依頼があったものである。なお、本条約には国連の他の多くの条約と同様にNGO（環境NGO、経済NGO等が含まれる）の活用がうたわれている。学会、NGO等がCOPに出席を希望する場合は、internetでUN/FCCCのsecretaryを呼び出して手続きする。

気候変動に関する政府間パネル（IPCC）が交渉の基礎となる科学的データを準備

図1に示すように数十年前からの大気の測定および南極の氷コアの分析においてCO_2濃度上昇が顕著に認められ、1988年に国連環境計画と世界気象機構の呼びかけによりIPCCが設立された。IPCCは世界の2,000人を越える科学者（日本からは気象研究所、気象庁などから参加）の協力のもとにこれまでに2回の報告書を発表している。IPCC名誉委員長B. Bolin博士は、「不確かな点は多々あるにせよ、さまざまな証拠を総合すると地球の気候に対する人間活動の影響がはっきりと示唆される」とのべている。また、産業革命以来、夏が最も暑かった年の10年をとると、その内の8年は最近の10年間に集中しており、地球の温暖化は現実に起こりつつあると考えられる。ＩＰＣＣ報告書を基礎とした試算によれば、地球の温度上昇を産業革命前（CO_2濃度を280 ppm）と比較して1.5℃以内に抑えるにはCO_2をおそらく450ppm程度以下に、2.5℃以内の場合は650ppm程度以下に抑えなければならない（現在の濃度は380ppm）という（注：1990発表のIPCC第一次報告書ではもっと大きな温度上昇を見積もって

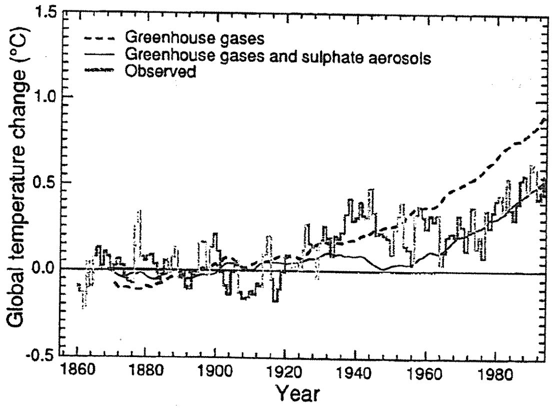


図1温暖化シミュレーションと観測値の一致の程度(以下全てIPCCによる)。

いたが、第二次報告書ではエーロゾルによる気温低下効果を考慮してこのような予測になった)。また、CO_2濃度を現在のレベルにただちに安定化するには排出量の約60％削減が必要だというが、これはすぐには実行不可能な数値である。

国連気候変動枠組条約は1992年に合意され、先進工業国は2000年以降の温室効果ガス排出を1990年レベルで安定化することになっていたが、この約束は守られず2000年には約１１％増加の趨勢であった。1995年のCOP1（ベルリン）以来、法的拘束力のある排出削減の数値目標合意を求めてこれまで8回にわたる交渉が続けられてきた。交渉の基礎となる気候変動の現状認識に関して、米国産業界などはIPCC報告は科学的に証明されていないとして排出削減に反対を表明していたが、上記交渉においてはIPCC報告書を「地球規模の気候変動に関する現時点で科学的、技術的な情報の最も包括的かつ権威ある評価」とすることに関して合意が得られた。このような度重なる折衝にもかかわらず、先進国は温室効果ガスの削減の目標を設定できないうちに京都会議の開催に至ってしまった。もし、京都会議で削減目標が決まらなければ、もう10年くらいは国際的な合意ができないのではないかというせっぱ詰まった予想もあり、京都会議に対する期待がますます高まっていった。これは、各国代表等1,700名のほかに、約3,700名の報道関係者、約3,800名のNGOが世界から集まったことによっても裏付けられる。以上のように、京都会議の課題は、事実に関する科学的論争ではなく、各国の利害対立を克服していかにして削減の目標を定めるかという政治的交渉にあった。

京都会議

会議に臨むに当たって、環境NGOの活動が活発なＥＵ諸国は先進国一律15%削減を、アメリカは産業界の意向が強く働いて0%削減を、日本はこの中間の原則5%削減を提案していた。会議は、本会議、全体委員会、複数の小委員会がほぼ同時進行的に開かれる。この間、各国は諸グループ、(たとえばEU，G7プラス中国、AOSIS（小島嶼国連合)、JUSSCANZ（日本、アメリカ、オーストラリアなど)）ごとに打ち合わせを繰り返す。これらは、本会議をのぞいて非公開である。国連公用語は英、露、仏、中、西、アラビア語の６語であり、京都会議に限り日本語を含む７語の同時通訳が行われた。しかし、関連集会やNGOなどの発表となるとほとんどは英語でおこなわれた。会議については日本の新聞ばかりでなく英字紙や英文雑誌も盛んに取り上げていたので、私にも会議の演説は比較的よく理解できた。報道関係、NGO用には広い展示場に机がおいてあり、環境NGOのうちでも気候フォーラム、世界野生生物基金、(WWF)、グリーンピースなどは仕切った小部屋をもらっており、会議及び記者会見用の小部屋もある。経団連などはビジネスNGOであり、アメリカの産業界団体は同じ展示場に小部屋をもらっている。展示場のコーナーや廊下には、国際機関、政府機関、環境NGO，産業界（経団連、電力、原子力、自転車業界など)、学術研究機関など50以上がポスターやビラなどを展示している。国際会議場内には小さな会議室もあり、ここでも様々な研究発表、意見表明が行われる。会議本部は毎日のプログラムを印刷物としてまた会場内のテレビを通じて流しているので、参加者はその中から関心のあるものを探して聞くことになる。また、京都を中心とする関西圏では、関連した問題についてのさまざまな集会や国際会議が開かれた。地球環境保護のために予防的原則に立つことの必要

性、相互信頼と政治的意志の必要性が説かれたにもかかわらず、各国の利害対立のため前半7日間は見るべき進展がなかった。この間、ＥＵを中心とする環境NGOの活動はまことに活発で、削減目標値の高い議定書採択を目指して、たとえばある団体は30名以上を日本に送って自己の主張をおりこんだニュースレターを毎日発行し、報道関係や各国代表団に働きかけを行った。首脳級交渉が行われる最後の３日間あたりになると、ここで数値目標が合意できなければあと10年くらいはだめかもしれない、何としてでも京都で合意をという期待がNGOや報道関係者のいる広間で高まっていった。そして予定会議日程の12月10日を過ぎ、11日の午後になってようやく全会一致で京都議定書が採択された（表1）。

表１　京都議定書の要点

目標期間：2008 － 2012年の５年間の平均
削減率　：先進国全体で5.2%。ＥＵ8%、米国7%、日本6%、ロシア0%等
対象ガス：CO_2, CH_4, N_2O, ヒドロフルオロカーボン，パーフルオロカーボン，SF_6
基準年： 1990年。ただし、上記ガスのうち後３者（日本では温室効果ガスの3.5%に相当）については1995年とすることも可
吸収源： 1990年以降の造林、植林、伐採を算定に加える（詳細は今後の会議で決定）
排出権取引：先進国間で排出権を商業的に取り引きできる
クリーン開発メカニズム：先進国が途上国の温室効果ガス削減に貢献した場合、これを先進国の削減量に加えることができる
共同実施： 先進国間で削減プロジェクトを共同実施し、削減量を分け合う
発展途上国の削減への参加：今回は見送り

京都議定書の評価と今後の課題

今回の議定書採択において、EU諸国は採択にもっとも貢献し、米国は本来ならば大幅削減すべきところを軽く済ませるという実質を得ることができ、日本は外交交渉のまずさから議定書に京都という名のみを得たという評価がある。しかし、この評価は必ずしも当たっていないと私は考える。日本の最大の弱点は、長期的に見てエネルギー資源と食料にあることを考えれば、本議定書採択により将来のエネルギー危機や石油価格高騰の可能性が遠のいただけでも、日本は最も恩恵を受ける国だということも出来よう。

今の趨勢で行くと日本の温室効果ガス排出量は2008-2012年には1990年基準を10%程度は上回ると予想されていたので、今回決まった6%削減という目標は実質約15%（18%という試算もある）の削減に相当し、容易に達成できるものではない。国内では、これをどのようにして達成するかを巡っていまだに省庁間の調整が続いている。しかし、温室効果ガスを将来は発展途上国を含めて70-85%削減しなければならないとすれば、先進国にはさらに一層の削減が求められることは必定で（図２）、京都議定書は削減の第一歩にすぎない。第二次削減に向けての交渉は、遅くとも2007年に始まることになっている。

削減の戦略 － 土木・建築のむだをなくせ

日本の個々の産業の省エネルギー技術は世界的に見ても進んでおり、また家庭のエネルギー消費は以前に比べて増えたとはいっても先進国の中では多い方ではないから、並の努力では削減できる量に限りがある。個々の努力、環境教育はもちろん必要であるが、削減にもっとも有効なの

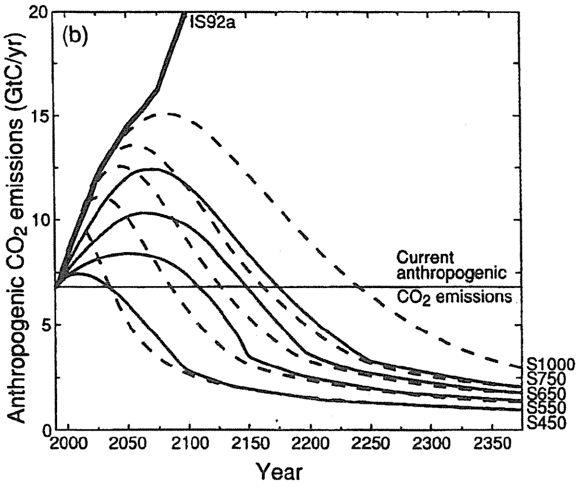


図2　濃度安定化のシナリオ。450、650ppmでの安定化には、究極的には発展途上国を含め現在の排出レベルの約15、30%程度に抑えることが必要という大変厳しい予測。破線は当面は規制をしなかった場合で、後世代の負担が大きくなる。

はシステムとしての無駄を省くことにある。造っては壊し、壊しては造る建物に変わって優良なストックとなるような寿命の長い建物を造り、利用者の少ない道路、飛行場等の建設は取り止め、将来の社会的ストックとなるような工事を厳選することにより、一層の削減強化にも対応できるような国としての長期戦略を構築することが最も必要である。市民生活の面では、自家用車の小型化による燃費向上が特に有効である。日本の車1台当たりの燃費は、1973年の第一次オイルショック時には世界の最先端にあったものが、1980年代後半からの車の大型化とパワーアップによる燃費低下により、現状はヨーロッパの平均よりも相当悪くなってしまった。

光合成研究との関連

京都議定書では、1990年以降の造林、植林によCO_2吸収を各国の削減効果に含めてよいことになった。単位面積あたりの吸収量の評価法は今後の国際協議にゆだねられたが、これには農水省が中心になって当たることになる。なお、森林を維持していることに対してもその貢献を認めるべきだという主張があったが今回の議定書には採用されなかった。

CO_2濃度上昇の物質生産に対する影響については既に生物学・農学の面から研究を開始し、研究成果を発表している人もいる。今後の研究においては、実験時のCO_2レベルをどう選ぶかが問題になる。現在のレベルは380ppmで、IPCCの温暖化予測には不確実な点があり究極の安定化目標は決まっていないが、現時点での判断としては650ppmはおそらく越えてはならない水準で、これよりも可能な限り低いレベル、たとえば450とか550ppmあたりを目標にするのが社会的には妥当だと思われる。研究に当たっては、これらの点を考慮し、またIPCCの今後の報告にも注意を払っていただきたい。

化石燃料消費の将来における大幅削減が必至ということになれば、代替エネルギーの開発に対する期待が大きくなってくる。原子力についてはCOP3でも、CO_2削減に貢献するので奨励すべきだという意見と、環境を汚染する危険性があるので段階的に廃止すべきであるという意見が対立していた。持続可能な代替エネルギーの候補としては、ソーラーパネルによる太陽光発電、風力発電があげられているが、発電量がどの程度見込まれ経済的に成り立つかどうかが今後の課題である。もう一つの可能性としては、光合成を利用した藻類による水素発生が考えられる。これは1973年の第一次オイルショックの際にはなばなしく提案され、その後の化石燃料確認埋蔵量の増加と技術的困難さのためになかば見捨てられていたものである。しかし、この間のニトロゲ

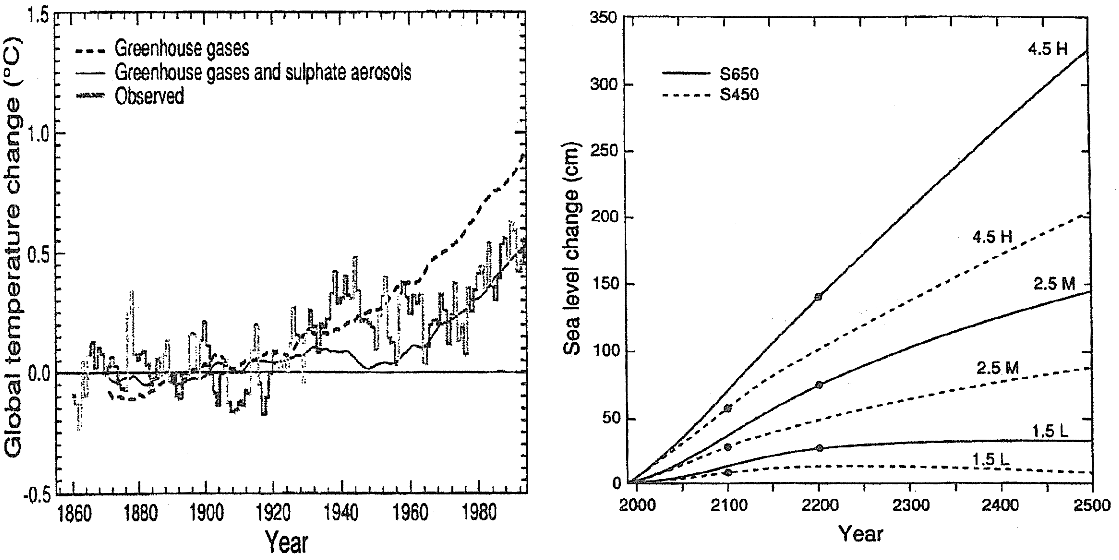


図3　CO_2濃度上昇と温暖化（左）および海面上昇（右）の予測（図2実線を仮定)。650ppmに増加したとき1.5、2.5 (現時点での最確値)、4.5℃上昇の3つのケースの予測。海面上昇はCO_2濃度安定化後も長期間にわたり継続。

ナーゼ、ヒドロゲナーゼに関する生化学及び分子生物学の進歩を背景に、開発に向けての基盤が整いつつあると考えられる。私の研究室でも、光生物的水素発生に向けて研究を開始したところである。

1) Climate Change 1995. Published for IPCC. Cambridge University Press (1996)/The Science of Climate Change (Working Group I)/Impact, Adaptations and Mitigation of Climate Change: Scientific-Technical Analyses (Working Group II)
2) インターネットによる情報：UN/FCCCに関し、http//www.unfccc.de（条約、京都議定書（全文）など); UNEP（国連環境計画）に関し、http//www.unep.ch （Basel, Biodiversity, Chemicals, CITES, Climate Change, Desertification, Migratory Species, Montreal Protocol)

==================================

櫻井英博氏の E-mail：sakurai@mn.waseda.ac.jp

NIBBセミナー" Regulatory Mechanism of Photosynthesis"に参加して

東京大学 教養学部 生物　　日原 由香子

このシンポジウムは4月2日から3日にかけて基礎生物学研究所で開催され、organizerは園池（東大）、村田（基生研）であった。国際Human Frontier Science Programによる国際共同研究のため来日した外国人研究者（R.G. Herrmann、B. And ersson、I. Ohad、H.B. Pakrasi)と日本人研究者との交流の場を持とうということで 企画されたものだが、十分目的は達成されていたようだった。「ようだった」という のは、筆者が未熟者でヒヤリング能力に問題があり、細かい議論まで十分に聞き取れ なかったためそう表現せざるを得ないのである。恥ずかしいことであり、私はこの報 告を書くような器ではないとつくづく思うのだが、夫の園池が突然私に書けと言いだ し、嫌と言っても聞き入れないので、講演を聴きつつ取った拙いメモと要旨集とを参 考に、何とか書いていってみようと思う。

シンポジウムの焦点は「光合成系の調節メカニズム」に絞られており、光合 成系のアセムブリーや分解、光阻害とその防御機構、葉緑体内で働くproteaseやkinase等についての興味深い報告が続いた。以下、各演題の要点を列挙する。Herrmann（Ludwig-Maximilians大）は葉緑体タンパクの発現制御についてRNAポリメラーゼ遺伝 子の破壊株等を作製して調べていたようであった（早口な上にスライド枚数が少ない ため、完全に振り切られてしまった)。池内（東大)は強光下で系１の蓄積を抑制す ることにより光化学系量比の調節を行なう*Synechocytis* 6803の新規遺伝子*pmgA*につい て報告した（私の仕事です)。田中（北大）は*Chlamydomonas*からのchlorophyll *b*合成酵素の単離について報告した。成功例のまだ少ないタギングによる非常にきれいな仕事という印象を受けたが、きっと口には出されぬ地道な努力があったことと思う。また高等植物のエチオプラスト内でchlorophyll *b*がchlorophyll *a*に変換され得るこ とも示していた。桑原（筑波大）はホウレンソウの系２膜標品から精製したdithiothreitol-sensitive tetrameric protease (DSTP)が、Fenton-type reactionによって 発生したhydoroxyl radicalが原因で自己分解することを示した。高橋（岡山大）は*C hlamydomonas*で系１のアセムブリーに関与する因子、*ycf3*と*ycf4*の推定される役割と 存在形態等について、佐藤（岡山大）はD1のcarboxyl-terminal processing enzymeの酵素活性等について報告した。Andersson (Stockholm大）はチラコイド内腔に存在 するcyclophilin様の新規タンパク（TLP40)が、葉緑体タンパクの脱リン酸化に対して調節的な効果を示すことを報告した。これまでチラコイドタンパクは脱リン酸化レ ベルでは調節を受けていないというのが定説になっていたので、これはとても面白い 知見だと思った。重岡（近畿大）はホウレンソウのApxII遺伝子がポリA付加、スプラ イシングの違いにより、局在の違う４種ものascorbate peroxidaseアイソザイムを生 じることを示し、また大腸菌のcatalase遺伝子を導入した形質転換タバコが酸化的ス トレスに対する耐性を獲得したことを報告した。浅田（福山大）は系１還元側での還 元力過剰を消去する系について広く論じた。特にＭＤＡレダクターゼがチラコイドに 結合しており、それ自身が酸素と反応してスーパーオキシドを作り

出すという知見が興味深かった（通常活性酸素は、その生成自体が悪いことと取られがちであるが、この知見ではスーパーオキシドの生成が還元力過剰への防御機構の一環と捉えられている）。Ohad (Hebrew 大）はチラコイドに局在する protein kinase が、チトクロム b/f 複合体の Qo-site への１分子の plastoquinol の結合により活性化されることを示した。重要なデータが巧妙な実験系から引き出されていて、素晴らしい仕事だと思った。村田（基生研）はシアノバクテリアの脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の遺伝子操作（破壊や導入）を行ない、膜脂質の不飽和化によって光阻害からの回復、具体的には系2D1タンパクのプロセッシングが促進されることを示した。Pakrasi (Washington 大）は *Synechocytis* 6803 からのマンガントランスポーター遺伝子の単離とその遺伝子産物の特徴を紹介し、さらにμMレベルのマンガン存在下で働く第２のトランスポーターの存在についても報告した。他の外国人演者にくらべ英語がとても聞き取り易かった！園池（東大）は系２と系１の光阻害と比較して論じ、さらに系１光阻害が起きるメカニズムについて報告した。以上、読んで頂ければ分かるとおり、光合成機能の調節という未解決の問題に解明の糸口を与えるような因子が続々と見つかってきている。しかし、DSTP (桑原)、TLP40 (Andersson)のようにその生理的役割が全くわかっていないものも多く、これからの研究の進展が非常に楽しみである。光合成の分野はよく他分野の人からは研究しつくされたような言い方をされるが、まだまだ面白い研究テーマが沢山あるのだということが良くわかり、大いに研究意欲がかき立てられた。また今回のシンポジウムは質疑応答の時間が十分に取ってあり（各１０分、また約３演題毎に総合討論）、白熱した議論が展開された。特に Andersson、Ohad らが、日本人演者に対して鋭い（と思われる）質問を投げかける様子が印象的だったが、残念ながら筆者には早口ないし発音が良すぎてあまりフォローできなかった。２日の晩には基生研食堂で懇親会が持たれたが、人数が少なく非常にアットホームであった。食べ物がなくなる心配もなく（翌日朝食分まであった）、皆色々な人と心ゆくまでディスカッションできたようであった。最後に気になった点を一つ。今回のシンポジウムは英語での発表であったせいか、学生の参加者が極端に少なかった（筆者が最年少？）。発表内容が興味深いのはもちろん、ヒヤリングのトレーニングとして非常に良いと思うので（聞き取りやすい日本人演者の発表が多いので、しっかり聞こうという努力が持続しやすい）もっと、皆積極的に参加すべきである。学生時代にしっかり英語体験を積み重ねておかないと、私のような英語ダメポスドクになりますよ。（敬称は略させていただきました。）

==================================

日原由香子氏の E-Mail : hihara@ims.u-tokyo.ac.jp

酸素発生系の表在性蛋白の機能と進化

東京理科大学 理学部　榎並　勲
理研 播磨研究所 光合成科学　沈　建仁

1. はじめに

高等植物や緑藻の酸素発生系II複合体（PSII)には、33, 23 , 17 kDaの3種の表在性蛋白が存在する。一方、ラン色細菌や紅藻（たぶん珪藻）のPSIIには、33 kDa蛋白は存在するが23, 17 kDa蛋白は存在せず、その代わりにチトクロームc-550 (cyt c-550) と12 kDa蛋白が結合していることが最近分かってきた。そこで、これら新規の表在性蛋白がPSII膜蛋白とどのように結合し、どのような機能をもつか、また、酸素発生の進化の過程でなぜこのような表在性蛋白の置き換えが生じたのかなどについて、これまで得た結果を整理してみた。

2. ラン色細菌のPSII表在性蛋白

これまで、ラン色細菌のPSIIには、表在性蛋白として33 kDa蛋白のみが存在し、23 , 17 kDa蛋白に代る蛋白は存在しないと考えられてきた。しかし、好熱性のラン色細菌*Synechococcus vulcanus*から、よりnativeな状態のPSIIを精製したところ、表在性蛋白としてcyt c-550と12 kDa蛋白が存在する事が初めて明らかになった（1, 2)。また、再構成実験の結果から、cyt c-550は33 kDa蛋白がなくても単独で約80%もPSIIに結合するが、12 kDa蛋白は33 kDa蛋白やcyt c-550がないと結合できない事、酸素発生活性の最大回復には3種の表在性蛋白の結合が必要である事などが明らかになった（3)。

さらにラン色細菌のPSII表在性蛋白の機能を明らかにする目的で、*Synechocystis* sp. PCC 6803を用いて、3種の表在性蛋白の1つあるいは2つを欠損した種々の変異株を作成した（4-7)。その結果、12 kDa蛋白はnormalなs-state transitionを維持する調節的な役割をもち、cyt c-550はPSII複合体を安定化する働きをもつとともにMnクラスターの安定化とその機能保持にも働いているという結論に達した。cyt c-550欠損変異株の最も顕著な性質は、酸素発生活性が暗黒中で速やかに失活し、この失活した活性がより高い量子収率で光再活性化されることである（7)。さらにcyt c-550が部分的に33 kDa蛋白の役割を補完できる証拠として、33 kDa蛋白欠損変異株は光独立栄養的に生育可能であるが、33 kDa蛋白とcyt c-550の両蛋白を欠損させた変異株は光独立栄養的な生育が完全に阻害されることが分かった。これは、クラミドモナスの33 kDa蛋白欠損変異株が光独立栄養的に生育できないことと対照的である。

3. 紅藻のPSII表在性蛋白

酸素発生系の進化のどの過程で、cyt c-550と12 kDa蛋白が23, 17 kDa蛋白に置き換わったかを調べるため、まず最も原始的な真核細胞である紅藻*Cyanidium caldarium*から系II標品を精製した。その結果、紅藻のPSIIはラン色細菌型であり、23, 17 kDa蛋白は存在せず、cyt c-550と12 kDa蛋白が存在する事が明らかになった。さらに、紅藻のPSIIには新規な表在性蛋白として20 kDa蛋白が結合している事も分かった（8)。

これら表在性蛋白の再構成実験から、①20 kDa蛋白は単独でもPSIIに結合し、cyt c-550と

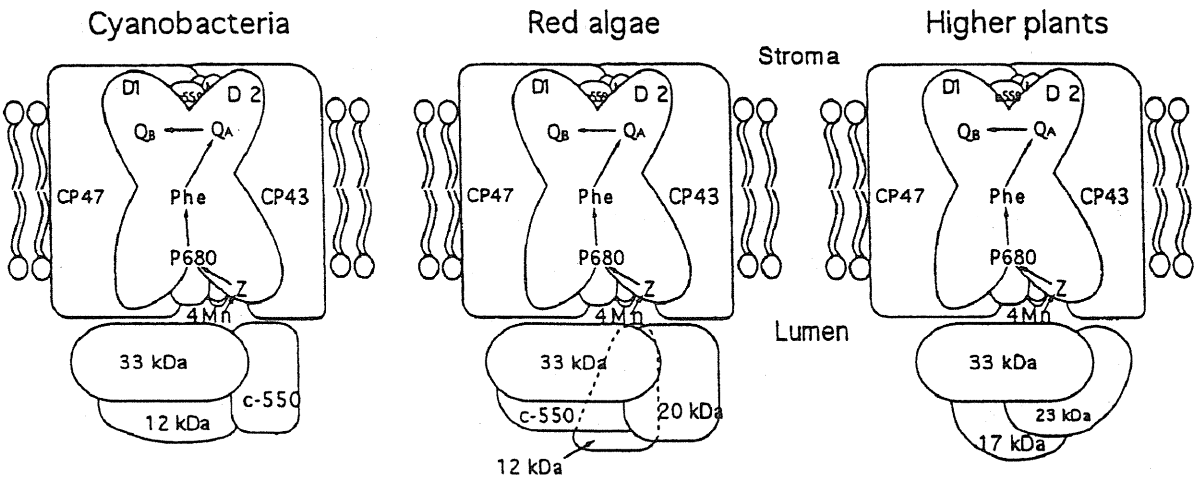


図１　高等植物、紅藻、ラン色細菌の酸素発生系Ⅱ複合体の模式図

12 kDa蛋白の効率よいPSIIへの結合に必要、②cyt c-550はラン色細菌のもの とは異なり単独ではPSIIに結合できず、完全に結合するためには12 kDa蛋白と同様、他の全ての表在性蛋白が必要、③cyt c-550と12 kDa蛋白は互いに強い相互作用をもつ、④Cyt c-550と12 kDa蛋白がないと、酸素発生活性に強いCaとCl要求性がある、⑤最大の活性回復には全ての表在性蛋白が必要であり、この時には酸素発生のCaやCl要求性は完全に消失する、などの点が明らかになった (9)。

4. 高等植物、紅藻、ラン色細菌のPSII表在性蛋白の比較

図１に高等植物、紅藻、ラン色細菌のPSII表在性蛋白の結合様式を模式的に示した。高等植物の場合、33 kDa蛋白は直接PSIIに結合できるが、23 kDa蛋白は33 kDa蛋白 を介して結合し、17 kDa蛋白は33, 23 kDa蛋白がないと機能的に結合できない。一方、紅藻では33 kDa蛋白のみならず20 kDa蛋白も直接PSIIと結合できるが、cyt c-55 0と12 kDa蛋白は33, 20 kDa蛋白を介してのみPSIIと結合する事ができる。ラン色細菌の場合は、cyt c-550は33 kDa蛋白と同様に直接PSIIと結合する事ができるが、12 kDa蛋白は33 kDa蛋白とcyt c-550を介してのみ結合可能である（表１参照)。また、高等植物の23, 17 kDa蛋白は、1-2M NaCl処理により容易に遊離するが、紅藻や好熱性ラン色細菌の表在性蛋白はNaCl処理では全く遊離せず、1M $CaCl_2$やアルカリTris処理により始めて遊離する。この事は、PSIIとの結合に前者は主として静電的な結合を、後者はそれ以外に水素結合などを含んでいる事を示唆している。

表１に、これまで得られた比較可能な主たる生理機能について整理してみた。紅藻のcyt c-550と12 kDa蛋白は、高等植物の23, 17 kDa蛋白と類似して、酸素発生のCaやClイオン要求性と関連しており、生理的イオン環境下での酸素発生活性に必要な成分である。一方、ラン色細菌のcyt c-550は、もっと直接的に酸素発生に関与しており、Mnクラスターの安定化やその機能保持に働くとともに、PSII複合体の安定性にも関係していると考えられる。ラン色細菌の12 kDa蛋白は、cyt c-550とともに生理的イオン環境下での酸素発生に必要な成分であり、normalなs-state transitionを維持する調節的な役割をもつと考えている。

表1 高等植物、紅藻とラン色細菌のPSII表在性蛋白の結合様式と生理機能の比較

	PSIIへの結合様式	生理機能
高等植物		
23 kDa蛋白	33 kDa蛋白が必要	生理的Caイオン濃度での酸素発生活性に必要
17 kDa蛋白	33, 23 kDa蛋白が必要	生理的Clイオン濃度での酸素発生活性に必要
(1-2M NaCl処理により遊離する)		
紅藻		
20 kDa蛋白	単独でもほぼ結合	Cyt *c*-550と12 kDa蛋白の結合に必要
Cyt *c*-550	33, 20, 12 kDa蛋白が必要	生理的イオン濃度での酸素発生活性に必要
12 kDa蛋白	33, 20 kDa蛋白とCyt *c*-550が必要 (Cyt *c*-550と12 kDa蛋白は強い相互作用をもつ)	生理的イオン濃度での酸素発生活性に必要
(1-2M NaCl処理では遊離しない)		
ラン色細菌		
Cyt *c*-550	単独でもほぼ結合	PSII複合体の安定化に必要。33 kDa蛋白とともに直接的にMnクラスターの安定化と機能保持に働く、生理的イオン濃度での酸素発生活性に必要
12 kDa蛋白	33 kDaとCyt *c*-550が必要	normalなs-state transitionを維持する調節的な役割。生理的イオン濃度での酸素発生活性に必要
(1-2M NaCl処理では遊離しない)		

33 kDa蛋白については、たとえばラン色細菌の33 kDa蛋白が高等植物のPSIIに結合できるように、種間を越えて相互にPSIIに再結合し酸素発生を再活性化できる事が報告されている(10)。しかし、33 kDa蛋白以外の表在性蛋白の種間の相互置換についての知見はない。この件について、現在のところ、①紅藻の表在性蛋白は、高等植物のPSIIにもラン色細菌のPSIIにも再結合し酸素発生を再活性化する、②しかし、ラン色細菌の表在性蛋白は、高等植物のPSIIには再結合できず、また紅藻のPSIIには再結合するが再活性化できない、③一方、高等植物の表在性蛋白は、紅藻やラン色細菌のPSIIに効率よく再結合するが、酸素発生は再活性化できない、などの結果を得ている。これらの結果は、各植物種の表在性蛋白をセットにして再構成実験したもので、今後、植物種間を越えて表在性蛋白のいろいろな組み合わせの再構成実験を行う事により、それぞれの表在性蛋白の役割を明らかにするとともに、なぜ進化の過程で表在性蛋白の置き換えが生じたのか解析したいと考えている。

5. 酸素発生系の進化

これまで適当な指標がなかったため酸素発生系の進化を論じる事はできなかった。しかし、表在性蛋白を指標にする事により進化を論じる事が可能になったと考えている。PSIIの起源は、反応中心と電子伝達成分の類似性から、紅色細菌と考えられている。紅色細菌反応中心の酸化側にはc-typeのチトクローム (cyt c-2) が電子供与体として機能している。このc-typeのチトクロームがラン色細菌PSIIの酸化側にcyt c-550として残存し、PSII複合体の安定化とMnクラスターの機能保持の役割を33 kDa蛋白とともに担うようになった。紅藻になるとcyt c-550は直接PSIIに結合できなくなり、その機能も高等植物の23 or 17 kDa蛋白に類似したものに変化した。その後、PS IIのcyt c-550は酸化還元しないので、ヘム蛋白である必要はなく、23 or 17 kDa蛋白

へと置き換わっていったのではと、現在のところ考えている。なぜ、ラン色細菌か ら紅藻に進化する過程で、20 kDa 蛋白が出現してきたのか、どの進化の過程で cyt c- 550 と 12 kDa 蛋白が 23, 17 kDa 蛋白に置き換わったのか、また、20 kDa 蛋白はどの進 化の過程で出現しどこで消失したのか、など興味深い問題がいくつか残っている。現 在、各表在性蛋白の抗体を作成しつつあるの で、これらの問題を、抗体等を用いて解明していきたいと考えている。

(1) Shen et al. (1992) FEBS Lett.301, 145-149.
(2) Shen et al.(1993) J.B.C. 26 8, 20408-20413.
(3) Shen et al.(1993) Biochem. 32, 1825-1832.
(4) Shen et al.(1995) J.B.C. 270, 6901-6907.
(5) Shen et al.(1995) Biochem. 34, 12661-12 668.
(6) Shen et al.(1997) J.B.C. 272, 17821-17826.
(7) Shen et al.(1998) Bi ochem. 37, 1551-1558.
(8) Enami et al.(1995) B.B.A. 1232, 208-216.
(9) Enami et al.(1998) Biochem. 37, 3581-3587.
(10) Koike et al. (1985) B.B.A. 807, 64-73.

==

榎並　勲氏の E-mail : enami@rs.noda.sut.ac.jp
沈　建仁氏の E-mail : shen@postman.riken.go.jp

誰でもが簡単に光合成を測ることができる時代

野菜・茶業試験場施設 生産部　岡野 邦夫

先頃、光合成研究会事務局の田口さんから、会員の電子メールリストを作成したいので内容は何でも構わないから事務局宛メールを送って欲しい、旨の連絡があったことは皆さんご承知のことと思います。そこで、挨拶代わりに「会報には基礎分野の情報ばかりでなく、応用分野の情報も掲載して欲しい」と書いて送ったところ、「実はこちらもそうした情報を求めていたところであり、丁度良いのでまず自分で原稿を書いて下さい」という依頼がきて、仕方なくこの文章を書くはめになりました。

私の専門分野は作物生理生態あるいは作物栽培であり、必ずしも光合成を専門に研究している訳ではありません。その時々の必要に応じて転流・分配、窒素栄養、ストレス生理、個体生理等を広く浅く手がけてきました。しかし、作物生育や生産性を理解する上で光合成は最も重要な生理機能である、との考えは学生時代から変わってはいません。そうした考えもあり、3年程前に当研究会の存在を知り早速入会しました。以来、会報に寄せられる記事を読んでいるのですが、世界の最前線の研究と栽培現場近くにいる自分の研究との関連性の少なさに、大きな困惑を覚えています。これは、ある意味では当然のことで、光合成現象の理解そのものが目的である理学分野の研究と、光合成現象を作物生産の手段と捉えている農学分野の違いを反映しているからです。しかしながら、最近、京都府立大の竹葉さんと東北大の牧野さんの間で交わされている誌上討論などは、その高度な内容の半分も理解できないにも関わらず、論点が「光呼吸の意義」という栽培的にも意味のある問題であるため、大変興味深く読ませて頂いてます。

さて、光合成の応用分野といってもその領域は広範で、また光合成・物質生産研究が華やかだった1970年代までに比べると、最近はこの分野の研究がやや低調あるいは混迷傾向にあるらしく、私のような門外漢には現在の状況がよく把握できません。一般に、栽培分野の研究者が光合成に関わる場合、そのほとんどは光合成速度を測定するという形であると思います。従来、葉の光合成速度（気孔からのCO_2取り込み速度）を測定するためには、赤外線ガス分析計（IRGA)、工夫を凝らした同化箱、環境制御装置等が必要であり、信頼できる測定値を出せるのはごく一部の研究者に限定されていました。そうした状況の中で、いくつかの大学や農水省の研究機関で各種作物の光合成速度が測定され、光、温度、CO_2等に対する反応性のデータも蓄積されてきました。しかし、それが個別作物の栽培技術の向上に有効に結びついてきたとは必ずしも言えないようです。水稲では光合成・物質生産研究の成果が多収穫技術の確立に結びついたのは有名な話ですが、それに続く成果が他の作物あるいは園芸分野からほとんど出てこないのは何故なのでしょうか。理由の一つとして、光合成測定が高度に専門的な技術であったため、何のために測定するのかという本来の目的が忘れられ、測定そのものが目的化してしまったことが考えられます。もう一つの理由は、室内実験で得られたデータを圃場環境下の作物に還元するのが難しいことがあげられます。多くの栽培研究者は、もっと手軽に光合成速度を測定したい、あるいは野外条件下で光合成速度を測定したいと常々考えてきました。最近一部で使われている酸素電極は、前者の

要望を満たすものです。後者に関しては、携帯用の光合成測定装置は市販されていたのですが、問題もありあまり利用されてはいませんでした。しかし、ごく最近、本質的な改良が加えられた機種が市販され始め研究者の注目を集めています。

一般論はこれくらいにして、以下に私自身の最近の経験を2，3紹介させて頂きます。東海道新幹線で静岡の掛川あたりを通るとき山の斜面に茶園が見えますが、この茶株は近くで見るとかまぼこ型をしています。これは株表面に伸びてきた新芽を機械で一斉に収穫するためで、摘採機の刃型と茶株の外形は一致しています。摘採の際に古葉が混入すると茶の品質が極端に低下するため、絶えず樹形を整え株表面を平滑にしておく必要があります。ところが近頃は、夏場の三番茶を収穫しなくなり、秋になると芽が伸び放題の茶園が増えています。これでは翌年春の一番茶を機械収穫できないので、適当な位置で刈り落とさねばなりません。この位置を決定するために、刈り落とし程度と翌年一番茶の収量・品質の関係が各県で検討されてきましたが、栽培試験の性格上結果は必ずしも一致せず、関係者の頭を悩ませてきました。機械摘採のために整枝することは、光合成の場である葉層を除去することでもあります。そこで私達は、最大の光合成生産を行うためには最低何cmの葉層が必要か、というかたちに問題を単純化して検討することにしました。

最初に、葉層内部のどこまで光補償点以上の光が侵入しているかを調べれば良いと考え、葉層内の光分布と葉の光－光合成特性を測定しました。光合成の測定にはクラーク型の酸素電極を使い、茶園からリーフパンチで葉片を打ち抜いてきて、実験室内で測定を行いました。IRGAを使った同化箱法とは異なり、酸素電極法は装置が安い上に測定が簡便であり、私のような素人には大変便利な手法です。但し、細断した葉片を緩衝液中に入れ、光合成的に発生するO_2を検出するこの方法は、インタクト葉での測定値と単純に比較できない面があるのも事実です。結果として、茶株内に侵入した光は急速に減衰し、表層より10cm以下の葉層では光補償点以下の光しか到達しないことが分かりました。次に、炭素の安定同位体（^{13}C）を使ったより直接的な証明を試みました。茶株の一部を大型の同化箱で覆い、その中で$^{13}CO_2$を発生させて葉層全体に固定させ、直後に摘採機を使って葉層を一定の厚さに刈り取り、それぞれの葉層に含まれる^{13}C量を測るという方法です。その結果、葉層別の^{13}C固定量は光の減衰曲線と良く似たパターンを示し、取り込まれた^{13}Cの97％が表層下10cmまでの葉層で固定されたことが分かりました。これらの結果から、10cm程度の厚さの葉層を残せば光合成生産は維持できるとの結論が得られました。後者の実験結果は、門司・佐伯の群落光合成理論を直接的に証明した数少ない例ではないかと密かに自負しているところです。

もう一つ、最近開発された携帯用光合成・蒸散測定装置（LI-COR社、LI-6400型）を使ったスイカの試験例を紹介します。スイカは通常つるを地面に這わせて栽培しますが、腰をかがめて側枝の除去や交配などを行うのは大変つらい作業です。また重い果実の収穫作業は重労働のため、農業者の高齢化とともに栽培面積が減少しています。そこで省力・軽作業的な栽培技術をめざして、立体栽培化することを考えました。これはメロンと同じようにつるを垂直に誘引して仕立てる方法で、作業姿勢が大変改善されます。また立体栽培では栽植密度を高められ、収穫果実数を

大幅に増やすことができます。スイカ立体栽培の試みは過去にも若干なされていますが、共通した結果は果実が小型化するという点です。その理由について、立体栽培では重力に逆らって光合成産物が転流するためではないかと言う研究者もいます。そこでまず、地ばいと立体栽培でスイカを作ってみたところ、果実の大きさは基本的に株当たりの総葉面積で決定されるが、葉面積が同じ場合でも、立体栽培では地ばい栽培より果実が小さくなることが確認されました。

次に、株当たりの生産力を評価する目的で、個葉の受光量と圃場光合成速度の測定を行いました。受光量の測定には簡易積算日射計フィルム（大成化工）を使いました。これはフィルムに含浸させた色素の退色程度から積算日射量を測定するもので、個別の葉の3～4日間の積算日射量が測定できる大変便利なものです。圃場光合成速度の測定には前掲のLI-6400を使いました。このモデルは環境条件の制御機能が大幅に改良されていますが、中でも際だった特徴は測定ヘッド上にLED光源が装着されている点です。旧型では自然光を利用して光合成測定を行っていたため、測定時の光条件が一定せず苦労をされた方も多いと思います。しかし、LI-6400では天候の如何に関わらず、一定の環境条件下で測定が可能です。そこで、付属のオートプログラムを使って作成した光－光合成曲線から飽和光強度を求め、光の強さ（PPFD）を1200 μ mols・m^{-2}・s^{-1}程度に設定して光合成速度を手当たり次第に測定してみました。同化箱法ならば1時間はかかるようなデータが、1分以内で得られるのには感動しました。ところが活性が等しい葉を選んだはずなのに、測定値が非常にばらつくのです。スイカは遺伝的に雑ぱくなのかなと思っていたのですが、ある時ふとひらめいて、日向の葉と日陰の葉を区別して測ったところ、全く異なった値が得られました。日陰の葉のPPFDは日向の葉の1/10程度の50～100 μ molsでしたが、この程度の光ではスイカの気孔は閉じており、測定時に1200 μ molsの強光を照射してもすぐには気孔が開かないため、非常に低い光合成測定値しか得られなかったのです。このことは、たとえ窒素栄養等が良好で高いポテンシャルを持った葉でも、直射光が十分に当たらなければ実際の光合成生産量は非常に小さいであろうことを意味します。

日射計フィルムによる測定から、土地をぜいたくに使っている地ばいスイカは、全ての葉がまんべんなく強い光を受けているのに対して、直立している立体スイカ群落は横方向からの光が入りにくいため、中段以下の葉の受光量が極端に少ないことが分かりました。果実収穫期近くに葉位別の光合成速度を測定すると、地ばいスイカでは、株元に近い下位葉でも高い光合成活性を維持していたのに対して、立体スイカでは、中段以下の葉の圃場光合成速度は上位葉の半分に満たない値でした。従って、たとえ葉面積が同じでも立体スイカの株当たりの光合成生産量は地ばいと比べて少なく、このことが果実サイズを小さくしている主因と考えられました。逆に、立体栽培でも栽植間隔を広げれば果実は大きくなると考えられ、この点については現在試験中です。小ぶりのスイカは悪いことばかりでもなく、核家族化した消費者にはかえって受け入れられやすく、農家にとっても省力・軽作業ばかりでなく、土地面積当たりの収穫果実数を3倍程度増やすことができるため、メリットは大きい栽培法ではないかと考えられます。

以上、目的を達成するための必要最小限のデータが得られればよいと考え、手抜きをしながら光合成測定を行ってきたわけですが、最近は、「変動する自然環境下での作物の光合成動態を知

りたいのに、光や風速などの環境条件を一定に制御しないと相互比較できる測定値が得られない」という矛盾に悩んでいます。

==

岡野邦夫氏のE-mail： okano@nivot-pc.affrc.go.jp, FAX : 0569-73-4744

Thea sinensis Linnaeus

ゲノム生物学的アプローチと光合成研究

かずさDNA 研究所　田畑 哲之

DNA 構造解析の高速化によって様々な生物で全ゲノムの塩基配列が明らかになりつつある。これらの膨大な遺伝子構造情報は今後の光合成研究に何を提供することができるのであろうか。本稿では、構造解析から機能解析に移行しつつあるゲノム解析の現状を紹介し、このアプローチを光合成研究にどのように取り入れることができるかその可能性を探る。

ゲノムプロジェクトとは？

ゲノムプロジェクトと聞けば、大量のシークエンサーを並べてゲノムの塩基配列をひたすら決定していくというイメージをもつ人が多い。確かにこれはゲノムプロジェクトの特徴的な一面ではあるが、実際にはいわゆる「ゲノム生物学」を行うための基礎データを蓄積する最も初期のステップにすぎない。ゲノム生物学のスタートポイントは、これまでの遺伝学のように個々の現象やそれらに対応する遺伝的制御カスケードを理解することではなく、ある生物がもつ全ての遺伝子の構造や機能をまずおおまかに捉えることにある。そして、これらが形成する複雑なネットワークを解明してゆくことによって、生命現象を理解しようとする。したがって、方法論的には、まずゲノムの塩基配列の決定から遺伝子のカタログ化を行い、それに続いて様々な方法を組み合わせて多数の遺伝子が関与する遺伝的ネットワークの解析を進めることになる。

シロイヌナズナゲノムプロジェクト

シロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）の全ゲノム塩基配列決定は、現在日欧米６グループの国際協調プロジェクトとして進められつつある。現時点で全ゲノムの約5分の1の構造が明らかにされており、今後約３年で全ゲノムの配列決定がほぼ終了すると予想されている。しかしながら、これがシロイヌナズナゲノム解析の最終目的ではないことは言うまでもない。プロジェクトの進行状況や得られたデータは全てインターネット上で公開されているが、その一方、水面化ではプロジェクトの成果を利用した大規模遺伝子機能解析が活発に行われ始めている。

ゲノムの構造情報を使って何ができるか - ゲノム生物学的アプローチ

ゲノムの全塩基配列をもとに計算機プログラムを走らせることによって、その生物がもつ遺伝子の種類、個数、ゲノム上の位置や予想産物の一次構造をかなりの精度で推定することができる。例えば、ラン藻（*Synechocystis* sp. PCC6803）の場合には約3.6 Mb の環状ゲノムに3,100余りの蛋白質遺伝子が予測されており、これらに関する情報はCyanoBase [http://www.kazusa.or.jp/cyano/]で一覧することができる。高等生物の遺伝子の場合にはIntron-Exon の境界を正確に予測することは難しく問題点も多いが、遺伝子のカタログ化は基本的に可能であるといってよい。シロイヌナズナのインターネットデータベースは現在グループ別に分散しているが、将来的には全遺伝子の情報を備えたサイトができると考えられる。したがって、このようなデータベースに付属のツールを活用することによって、遺伝子の探索は容易に行うことができる。ただし、ここで一つ注意すべきことは、同定された遺伝子に付けられている推定遺伝子名あるいは推定遺伝子

機能はそれほど信頼すべきではないという点である。蛋白質の機能が実験的に確認されている例はそれほど多くなく、遺伝子全体あるいはごく一部の類似性だけで機能が推定されているケースが大部分である。できればオリジナルの文献をさかのぼって調べることを勧めたい。

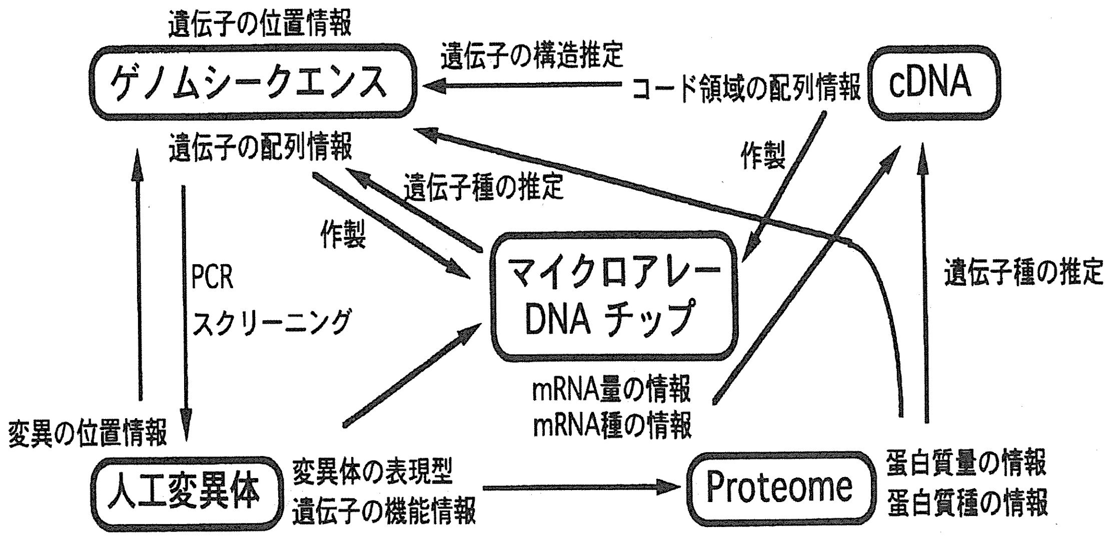
前節でも述べたように、ゲノム解析においてさらに重要なテーマはゲノムの塩基配列情報をどのように使えば、未知遺伝子の機能解析や遺伝子間のネットワークを明らかにできるかということである。現在のところ、ゲノム生物学的視点からとられているアプローチの例として以下のものがあげられる。

1. ゲノム塩基配列を利用した新たなマーカーの作製 突然変異のマッピングを行う際、既存のマーカーを用いておおまかなマッピングを行った後、その近辺にゲノム塩基配列をもとにマーカーとして使えそうな領域を選びだして新たなマーカーを多数作製する。これらを使うことによって、より精度の高いマッピングを行うことができる。

2. 系統的な人為的遺伝子破壊株の作製 ターゲッティングで一つ一つ遺伝子を破壊して表現型を観察する方法で、相同遺伝子組換え系が利用できるバクテリアや酵母で行われている。当面のターゲットとしては、構造上何らかの機能（例えば、光化学系、シグナル伝達系や膜貫通蛋白質など）が予測される遺伝子や機能が全く予測できない遺伝子が挙げられる。ラン藻PCC6803でも複数の研究者からなるコンソーシアムで遺伝子破壊プロジェクトが進められており、その結果はCyanoBaseとリンクしたCyanoMutants [http://www.kazusa.or.jp/cyano/mutants/]で公開される。

3. 大規模かつランダムな変異株の作製と網羅的分析高等植物ではターゲッティングの系がうまく動かないため、ランダムな挿入変異体（例えばT-DNAやトランスポゾン）を作製し目的の表現型を示すものを選抜するか、変異体の集団から目的の遺伝子が破壊されたラインを選抜する方法がとられる。ゲノムの塩基配列（＝遺伝子の塩基配列）が既知であれば、その情報を用いて合成したプライマーと挿入DNA部分に対応するプライマーの間でPCRを行うことによって、容易に目的の変異体を選抜することができる。シロイヌナズナでは欧米を中心に既に十万を越える変異体ラインが作られており、日々公開されるゲノムの配列情報をもとに構造上ある程度機能が推測される遺伝子について変異体の単離が進められている。

4. DNAチップ、マイクロアレーによる遺伝子発現の包括的解析 遺伝子の塩基配列をもとに合成したオリゴマーやPCR産物をスライドグラス上の数ミリ角の領域に超高密度にグリッド状に結合させたもので、ごく少量の標識mRNAとハイブリダイズさせることによって、多数の遺伝子（全遺伝子も可能）の転写量（正確には転写産物の蓄積量）を一度に高感度にモニターできる。遺伝的制御のネットワークを解析するには最適のテクノロジーであり、例えば異なる光条件や炭酸ガス濃度の条件に露出した植物体から抽出したmRNAをプローブとすることによって、特異的に発現する多数の遺伝子を特定することが可能である。また、特定の遺伝子の破壊株と野生株を比較することによって、制御カスケードに関する手掛かりを得ることもできる。シロイヌナズナでは、現在数千の遺伝子をカバーしたものが米国で作製され解析が行われつつある。これら以外にも、cDNAの大量解析、多数の遺伝子産物をモニターするためのProteome解析なども行



われる。そして、これら多様な解析を平行して進めその結果を統合することによって遺伝子ネットワーク全体を理解しようとするのがゲノム生物学的アプローチといえるであろう。

ゲノム生物学的アプローチを導入するには？

先にも述べたように、ゲノム生物学ではまずゲノムに含まれる全遺伝子を念頭において解析をスタートし、徐々に個々の制御システムへと焦点を絞ってゆく。したがって、特にスタート時には、大量の情報を扱うことができるシステム、変異体ラインなど大量の材料、新たなテクノロジーを必要とする。そして、これらの多くは日本の研究者がこれまで長く海外に依存してきたものにほかならない。我々の研究グループでは、この状況を少しでも改善するため、ラン藻研究においてはCyanoBaseなどデータ及び解析ツールを提供するデータベースを整備し、シロイヌナズナのゲノム解析においてもKAOS [Kazusa Arabidopsis Data Opening Site, http://www.kazusa.or.jp/arabi/]を通じてデータを公開している。また、今後２年の間に約40,000ラインのシロイヌナズナ変異体を作製し、広く一般の利用に供する予定である。

ゲノム生物学的アプローチは従来の研究手法を否定するものではなく、それを補ってより高速化、効率化をはかるものである。また、そこで使われている手法は、量的な問題は別にして何ら複雑なものではない。したがって、少し柔軟な発想をもたせれば、個々の研究の方法論の範囲内で十分利用可能かと思われる。同時に、これに必要な大量の情報や材料の全てを単独の研究グループで整備することは困難である以上、積極的に共同研究の体制をとることが望ましいと考えられる。いずれにしても、今後３年の間に明らかにされるシロイヌナズナ全ゲノムの塩基配列情報から必要な情報を引き出し十分に利用してゆくためには、これまでの光合成研究への新たな方法論の導入が必要ではないだろうか。

==

田端哲之氏のE-mail： tabata@kazusa.or.jp

クロロフィルb合成をめぐる最近の話題 ー反応機構と進化をめぐってー

北海道大学低温科学研究所　田中 歩
京都大学大学院 理学研究科 地質鉱物学教室　富谷 朗子

クロロフィルはグルタミン酸から20ステップほどの反応を経て合成される。最近、大腸菌の光感受性の原因遺伝子の同定や、光合成細菌のクラスター内の遺伝子を解析することによって、クロロフィル合成に関わるほぼ全ての遺伝子が単離された。また、高等植物からそれらのホモログを単離し、大腸菌で大量発現させることによって、酵素学的性質も調べられてきた。これらの研究成果をもとに、近い将来調節機構を含めて、クロロフィル合成の全体像が明らかになると思われる。

しかし、クロロフィル合成の最後の段階であるクロロフィル*b*合成に関しては、酵素学的性質も遺伝子も不明のままであった。これは、単離葉緑体ではクロロフィル*b*合成活性が失われること、大腸菌にも光合成細菌にもクロロフィルbが存在しなかったことに原因している。クロロフィルbは光化学系の集光装置の色素で、光環境に応じてその蓄積量が変化し、これによって集光装置の大きさが制御されており、光化学系の光環境への応答に中心的な役割を担っている。また、原核緑藻の分子系統学的解析は、クロロフィル*b*を持った生物の進化に関して、いくつかの興味ある結果を提示している。最近、我々のグループはクロロフィル*b*合成遺伝子の単離に成功した。そこで、我々の研究を中心に、クロロフィル*b*合成に関する酵素的な特徴と、クロロフィル*b*を持った光合成生物の進化的な話題について紹介する。

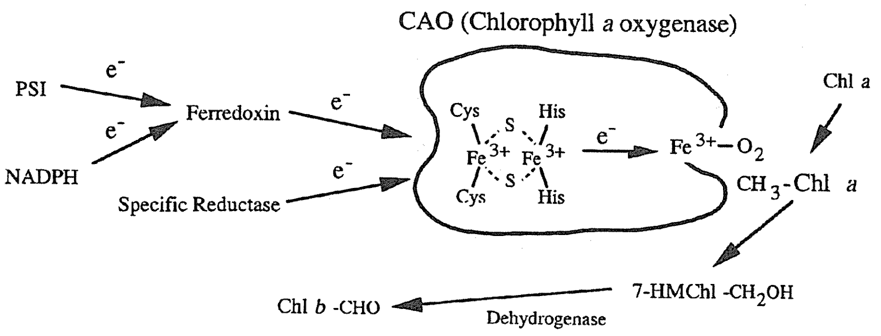
(1) クロロフィル*b*合成反応

単離葉緑体にクロロフィルの前駆体である5-アミノレブリン酸を与えるとクロロフィル*a*が合成される。このことは、単離葉緑体でもクロロフィル合成に必要な全ての酵素活性が保持されていることを示している。実際、キュウリなどの単離葉緑体を用いて、クロロフィル合成系の反応機構の解析が行われてきた。一方、クロロフィル*b*はクロロフィル*a*から合成されると考えられているが、単離葉緑体でこの活性を検出することはできなかった。クロロフィル*a*はテトラピロールの第2リングにメチル基をもっているのに対し、クロロフィル*b*はフォルミル基をもっている。安定同位体を用いた実験によって、クロロフィル*b*のフォルミル基の酸素は分子状酸素由来であることが、2つのグループによって示され、クロロフィル*b*合成にオキシゲナーゼの関与が示唆された。一方、メチル基がフォルミル基に転換されるのは、クロロフィル合成のどの段階かに関しては、クロロフィル*a*以外にも、その前駆体であるプロトクロロフィライド、クロロフィライド*a*，などが候補にあげられているが、未だ不明である。

我々のグループでは、クラミドモナスの分子遺伝学的解析によってクロロフィル*b*合成遺伝子の単離を試みた。クラミドモナスを用いたタギングによる遺伝子の単離は、最近いくつかのグループで行われており、有力な方法として注目されている。我々は、Nitrate reductase（NIT1）とArgininosuccinate lyase（Arg7）を選択マーカーに用い、クロロフィル*b*欠損株を単離した。

欠損株のゲノムを解析し、クロロフィル*b*欠損の原因遺伝子を単離した。その遺伝子をもとに、cDNAを単離し、構造を決定したところ、Rieske Type [2Fe-2S] cluster とnomonuclear nonheme Fe-binding siteのモチーフを持っていた。また、いくつかのメチルモノオキシゲナーゼとホモロジーがみられた。これらの結果より、この遺伝子産物はクロロフィル*a*の7位のメチル基に酸素を添加するオキシゲナーゼと結論し、この遺伝子をChlorophyll *a* Oxygenase (CAO) と名付けた。これは、クロロフィル*b*合成に分子状酸素が使われることを示唆した安定同位体による実験結果と一致する。

CAOと相同性が見られる酵素にp-toluenesulfonate methyl-monooxygenase がある。これは、芳香環のメチル基をフォルミル基にする最初の反応 ($-CH_3 \rightarrow -CH_2OH$) を触媒し、引き続きデヒドロゲナーゼがフォルミル基に転換 ($-CH_2OH \rightarrow -CHO$) する。この反応機構から類推すると、CAOがクロロフィル*a* ($-CH_3$) を7ーハイドロキシメチルクロロフィル ($-CH_2OH$) に転換、さらにデヒドロゲナーゼがクロロフィル*b* (-CHO) に転換すると予想される。しかし、タギングによって単離された6つのクロロフィル*b*欠損株は全てCAOに変異がみられ、デヒドロゲナーゼの変異株は得られなかった。今の所、CAOだけで、クロロフィル*a*を直接クロロフィル



ーCAOによるクロロフィルb合成ー

*b*に転換する可能性は否定できない。この点を明らかにするには、生化学的な解析が必要である。

オキシゲナーゼが働くためには、オキシゲナーゼを還元する必要がある。これまで知られているオキシゲナーゼは、それを還元するための特異的な還元システム（還元酵素）を持っている。この還元酵素は、Ferredoxin -NADPH Oxidoreductaseと類似のもので、ferredoxin様の蛋白質を介して電子のやり取りが行われる。CAOは、葉緑体に存在することが予想されるので、PSIかFNRによって還元されたferredoxinから電子を受け取ることが予想される。もしこの系が働くなら、光合成活性とクロロフィル*b*合成活性が何らかの機構で調節されていることが期待される。しかし、CAO特異的な還元システムの存在も現時点では否定できない。

(2) クロロフィル*b*を持った緑色植物の進化

植物を光合成色素で分類すると、クロロフィル*a*に加えて、1) クロロフィル*b*をもつ緑藻や高等植物、2) クロロフィル*c*をもつ珪藻、褐藻、ハプト藻、渦鞭毛藻、3) フィコビリンを持つ

シアノバクテリアと紅藻の大きく三つのグループに分けられる。このうち、シアノバクテリアだけが酸素発生型の光合成を行う原核生物であり、細胞学的な知見からシアノバクテリアが葉緑体の起源とみなされてきた。

ところが、比較的最近なって、原核緑藻類（Prochlorophyta）という、新しい分類群が発見された。1975年、海産ホヤの共生体として初めて見つかり、現在では3属3種が知られている。このグループは、酸素発生型光合成を行う原核生物でありながら、シアノバクテリアとは異なり、フィコビリンではなくクロロフィル*b*を光合成色素として持っている。このため、発見当初は、緑色植物の系統の直接の祖先はシアノバクテリアではなく、原核緑藻類ではないかと考えられた。

その後、16SrRNAやrpoC1遺伝子の分子系統学的解析から、原核緑藻類は緑藻や高等植物の直接の祖先というよりむしろ、シアノバクテリアのグループから派生した多系統的な分類群であることが報告された。さらに、原核緑藻類のクロロフィル*a*/*b*タンパク質は、真核生物のクロロフィル*a*/*b*タンパク質、クロロフィル*a*/*c*タンパク質とは異なるファミリーに属することがわかり、原核生物は緑色植物と同じ色素系を持つものの、集光システムは独立に進化したということが示された。これらの報告に基づいて、クロロフィル*b*をもつグループの多様化に関して、以下のようなシナリオが考えられている。1）すべての色素を持つ共通祖先がいたが、二次的に消失した。2）独立に複数回、クロロフィル*b*合成遺伝子が獲得された。3）遺伝子の水平移動によってクロロフィル*b*がひろまった。

これらの点を明らかにするためにには、クロロフィル*b*合成酵素CAOによる分子系統学的解析が必要である。我々のグループは原核緑藻類のProchlorothrixからPCRによってCAOのDNA断片を得た。このアミノ酸配列を調べたところ、緑藻や高等植物のCAOと高い相同性が見られた。今の所ProchlorothrixのCAOが高等植物と緑藻のどちらの系統に近いのか、またProchlorothrixのCAOは上記の3つのうちどのシナリオによって獲得されたかは結論できていないが、2)の可能性は低いと思われる。他の原核藻類を含めてCAOの全配列が決定できれば、この点を明らかにできると期待される。

光合成生物は進化の過程で新しい色素を獲得して高次分類群を形成していった。クロロフィル*b*を持った光合成生物の誕生に際しては、何らかのメチルオキシゲナーゼが変化し、クロロフィル*a*オキシゲナーゼ活性を持つようになって実現したと考えられる。CAOがどの様なオキシゲナーゼから由来したのかが明らかになれば、植物におけるクロロフィル*b*獲得過程の理解がすすむものと期待される。

==

田中　歩氏のE-mail : ayumi@ok-lab.bot.kyoto-u.ac.jp、FAX : 075-753-7257

ランソウの分子シャペロン

埼玉大 理学部 分子生物　　檜山 哲夫，仲本 準

分子シャペロン（Molecular chaperone）という言葉は，現在非常に多種のタンパク質を対象に 用いられている。それらの機能についても，定義の範囲が広がって来ている。もともとの定義は，‘あ るタンパク質が正しく折りたたまれて機能的な立体構造を形成する過程を助ける役目をする’ タンパ ク質ということであった。Chaperone とは，西欧で，社交界にお目見え（Debut）する若き令嬢（Debutante）に付き添う役目の人のことであると辞書にはある。Molecular chaperone という言葉は 最初，Xenopus の DNA とヒストンが機能性複合体（Nucleosome）を形成するとき，Nucleoplasmin が果たす役目を形容するのに使われた (1)。10年近く経って，Ellis が分子シャペロン（cpn）の定義 を一般化した (2)。そこで，このヌクレオプラスミンの他にも，大腸菌T4ファージのコート蛋白構築に 必要な因子（GroE）とか，免疫グロブリンの構築に必要なタンパク質（BiP）とか，更には，CO2 固定 酵素 Rubisco を構築するのに必要な RBP（Rubisco binding protein，実はこれが Ellis の専門であ った）を含めて，前述の定義がより一般的な形で提唱されることになる。

通常の温度（その生物の適温）よりも高い温度にさらされたとき，細胞は，いくつかのタンパク質を 通常より多く合成するようになる。これらを，熱ショックタンパク質（Heat shock protein, hsp と略記）と 呼ぶ。例外も多いが，hsp の多くは分子シャペロン機能を持つし，分子シャペロン(cpn)の多くは hsp である。現在では単にストレス下で働く特別なものではなく，通常の状態でも必須の役割を果たして いると考えられている。例えばリボゾームで合成されたばかりのポリペプチドが正しく折り畳まれて機 能性の立体構造を形成するのを助けていると考えられる。分子シャペロンの種類は多く，発見の経 緯によってさまざまな名称がついていて複雑であるが，便宜上サブユニットの大きさ（SDS-PAGE で の見かけの分子量）で分類することが多い。例えば，小さい順に，hsp10，hsp16，hsp60，hsp70， hsp90 といったものである。さらに，ほとんどすべてアミノ酸配列が分かっているから，それに基づいた いくつかのグループにまとめている。これらは細胞内で，単独で働くよりも，互いに共同して作用する ようなメカニズムがいろいろ提案されている。詳細は他の総説を参照されたい (3-5)。

分子シャペロンや hsp はすべての生物にあり，ランソウも例外ではないが，他の細胞に比べて，報 告は非常に少ない。これまで報告されたのは 2，3 のシャペロニン (6-8) と hsp70 (9) だけである。我々 が分子シャペロンに興味をもったのは，好熱性ランソウの PSI サブユニット遺伝子をクローニングして いるとき，シャペロニンと高い相同性のある ORF を偶然見つけたことがきっかけであった（分子シャペ ロンと混乱しやすいシャペロニン（Chaperonin）という語は，GroE に代表される原核生物のサブユニ ット分子量が 60,000 程度の分子シャペロンを意味する。RBP も構造的に似ていることから分子シャ ペロンの初期の研究はシャペロニンに集中している。これらは hsp である。そして結晶構造も報告さ れ，最も良く分かっている分子シャペロンと言える。GroEL, hsp60 又は cpn60 ともよばれる）。このタ ンパク質が熱ショックで大量に蓄積する

ことも分かり，以後この世界に入って5-6年になる (10,12)。ここでは我々の手がけたランソウの分子シャペロニンを中心として新しい知見を簡単に紹介したい。

シャペロニンは，原核細胞と葉緑体，ミトコンドリアのような原核細胞由来とされるオルガネラに分布する。最近，真核細胞の細胞質にもホモロジーは高くないが，同様のタンパク質が存在することが分かってきた（TCP-1など）。60kD のサブユニットはリング状の 7 量体を形成し，さらにこの 2 つが重なって 14 量体となって機能していると考えられている。変性したタンパク質はシャペロニン内部の‘空洞’で正しく折り畳まれる。この過程には，10kD程度のサブユニットから成るGroESと呼ばれる環状複合体とATPの加水分解が必要である。こうしたプロセスは，最近明らかになった立体構造によっても支持され，細胞内で何らか（熱など）の原因で変性したタンパク質の修復に関与していると考えられている（図 1）。

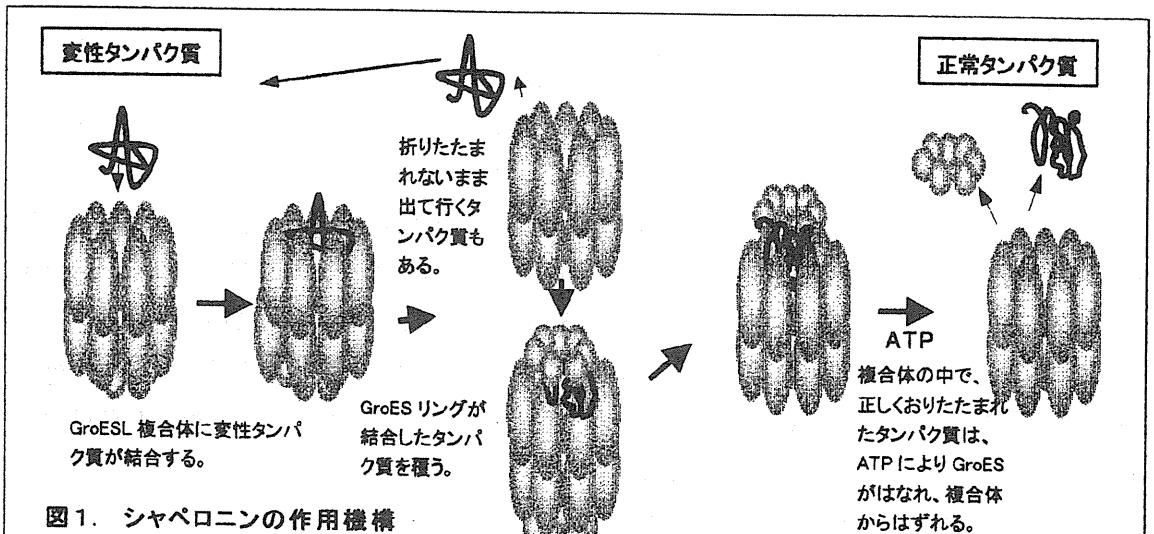


図 1．シャペロニンの作用機構

前述のORFは理研の井上研究室で分離した好熱性ランソウ *Synechococcus vulcanus* のPSI について共同研究を進めていたとき偶然見つけたのだが，この細胞を通常生育温度(50℃)からより高温(63℃)に移すと大量に蓄積するタンパク質の一つがやはりChaperonin様の配列で，結果的には，2 種の遺伝子（*groEL1*，*groEL2*）と遺伝子産物を確認した (10,12)。そのうち大量に熱誘導されるGroEL1の単離精製を試み，得られた標品は大腸菌などで得られる14量体ではなく，60kDa程度の単量体であった。すでに好熱細菌から得たシャペロニンを変性剤などでモノマーにしたものは，弱い一種の分子シャペロン活性（ATP非依存性）をもつという報告があった(11)。そこでは酵母のリンゴ酸デヒドロゲナーゼ（MDH）をまずグアニジン（3.5M）で変性させ，次いで希釈（200倍）して，活性を回復させる系において，MDHは，希釈により一部（20%程度）が自発的にもとの構造に折り畳まれ，活性を回復する性質をもつという(11)。そこで，この系に精製GroEL1標品を加えておくと，ほぼ完全にもとの活性に回復することが見られた。

その後，細胞を破壊した段階で既にモノマーになっていることが分かった。いろいろ条件を検討したが，今のところどうやっても14量体は得られていない。この遺伝子を大腸菌で発現さ

せた場合でも，GroEL1は菌体破壊の段階で既にモノマーになっていることも分かった。このモノマーのもつシャペロン様活性としては，他にMDHにおける熱変性からの回復と熱変性に対する保護効果の二つが顕著に見られた。またウシ肝臓由来のRhodaneseは，変性後希釈すると凝集してしまう（濁度の増加で測定）が，これを完全に押さえる効果もあった。前記好熱細菌や大腸菌などのGroELはかなり激しい処理をしないと単量体化されない。ところが*S. vulcanus*では普通に細胞を破壊するとモノマーしか得られないということは，少なくとも非常に単量体化し易い性質をもっていることを示唆する。こうした性質はかなりラン藻一般に共通しているのかもしれない。常温性の*Synechococcus* PCC7002もそうらしいし（愛媛大・林秀則氏，私信），我々も最近*Synechocystis* PCC6803や*Synechococcus* PCC7942でいずれでも全てモノマーとして抽出されてくるのを確認した。シャペロニンのアミノ酸配列を比較すると，大腸菌を含む‘普通の’細菌のグループとランソウのグループとでは，これまで知られる共通部分の他に，それぞれのグループに特有のアミノ酸残基がいくつか散見される。これらがポリマー形成に関係しているのかどうか。ラン藻などでは上記のようなATP依存シャペロン機構の他に，少なくとも一部は*in vivo*でモノマー状態で存在し，上記のような働きもしているということはないのだろうか。

大腸菌と異なり，ランソウのシャペロニンの特徴は，Geneが2種あって，そのうち一つは大腸菌と同じくgroESとoperonを形成しているが (*groEL1*)，もう一つの*groEL2*は*groES*を伴わないことだ (6,8,10,12)。大腸菌groEL変異株に*groEL1*を導入したところ，GroEL1を高温で蓄積し，変異株の高温耐性を回復させることができた。このことは，ラン藻のGroELホモログが大腸菌で熱ショック応答し，大腸菌本来のGroELの機能を相補することを示し興味深い。*groEL1*の上流には大腸菌のσ^{32}熱ショックプロモーターに類似の配列が見られないことと，σ^{32}のホモログがラン藻には見つからないことを合わせ考えると不思議であるといえよう。なお，GroEL2の場合は，蓄積はされたにもかかわらず耐性回復は見られなかった (10)。

ラン藻で我々がもう一つ注目したのはsmall hsp (sHSP, hsp16)と言われている分子量1-2万のサブユニットをもつ分子シャペロンである（注意：同じ位の大きさのGroESとは全く別物）。*S. vulcanus*では高温で初めて顕著に蓄積する。この点が常温でも存在するGroEL類とは異なる特徴であった。このsHSPの保存配列はC末端に集中しているが，眼の水晶体のαクリスタリン蛋白まで含めた膨大なグループとされ，あらゆる生物に分布している。我々はこのタンパク質を*S. vulcanus*からラン藻で初めて単離精製した（Roy他，発表準備中）。この標品は，他の生物同様にオリゴマーを形成している（280kDa程度）。そしてMDH等のモデル蛋白の熱変性を阻止する活性が見られた。今のところラン藻のgeneでは，他に京大・福沢氏の*Synechocystis* PCC6803のものだけであるが，お互いのホモロジーは低く50%程度である。前述のGroEL1と共にこのsHSPは高温で最も顕著に蓄積することから，ラン藻の生理特に光合成の熱耐性との関連に注目して研究を進めている。

*S. vulcanus*と比較して遺伝子操作の容易な常温性ラン藻の*Synechococcus* PCC7942で最近我々は2種のhsp遺伝子をクローニングした。一つは真核生物のhsp90に相同性のあるhtpGで，30

℃ではほとんど蓄積しない転写産物が，45℃，15分の熱ショックにより20倍蓄積した。この遺伝 子を破壊した株は45℃では全く生育できなかったことから高温耐性に関与することが示唆された。

もう一つは未知の熱ショック遺伝子（orf74）で，７３アミノ酸残基から成る塩基性のタンパク質を発 現していると考えられる。同じく欠損株は45℃では全く生育できなかったことから高温耐性に関与す ると考えられる。このORFの塩基配列やアミノ酸配列に相同性のあるものはデータベースで検索で きていない。新しいタイプのhspである可能性がある。DNAあるいはRNA結合タンパク質である可 能性も考え，その機能を明らかにするために，現在研究を進めているところである。

参考文献

1. Laskey, RA *et al* (1978) *Nature* **275**, 416-420
2. Ellis, RJ (1987) *Nature* **328**, 378-379
3. Ellis, RJ (1991) *Ann Rev Biochem* **60**, 321-347
4. Boston, SR *et al* (1996) *Plant Mol Biol* **32**, 191-222
5. Nakamoto, H, Hiyama, T (1999) in *Handbook of Plant and Crop Stress*, Marcel Dekker, *in press*
6. Lehel C *et al* (1993) *J Biol Chem* **268**, 1799-1804.
7. Webb R *et al* (1990) *J Bacteriol* **172**, 5079-5088.
8. Chitnis, PR *et al* (1991) *J Biol Chem* **266**, 58-65
9. Nimura K *et al* (1994) *Biochem Biophys Res Commun* **201**:466; **201**:848; **205**:2016
10. Furuki, M *et al* (1997) *Biochim Biophys Acta* **1294**, 106-110
11. Taguchi, H *et al* (1994) *J Biol Chem* **269**, 8529-8534
12. Tanaka, N. *et al* (1997) *Biochim Biophys Acta* **1343**, 335-348

==

檜山哲夫氏のE-mail： thiyama@sacs.sv.saitama-u.ac.jp、FAX： 048-858-3384

Texas A & M 大学 留学記

Texas A & M 大学　片山 光徳

私がポスドクとして米国 TexasA&M 大学の Susan Golden 教授の研究室に来てから約９カ月になります。ここの研究室では単細胞性のラン藻 *Synechococcus* PCC7942 を材料に用い、主に２種類の研究が行われています。一つは光合成系IIの反応中心タンパク質の強光による誘導機構の解析で、もう一つは概日時計の機能の解析です。Susan 教授はこの研究を２つの独立した研究としてではなく相互に関連したものとして解析を進めていく考えのようです。私はこのうちの概日時計についての研究を行っています。概日時計はその機能の解析を進める上で環境からの刺激の入力系、時計本体、そして遺伝子発現を調節する出力系とに分けて考えられています。ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の場合は光や温度などの環境からの刺激がいまだ未知の入力経路を通じて概日時計の位相を同調し、時計からの周期的振動は同様に未知の出力経路を通じてこのラン藻のほとんど全ての遺伝子発現に周期性を与えています。私の行っている研究は、ラン藻の概日時計の機能のうち概日時計からの入力系および出力系についての解析です。私が具体的に用いている方法は、ここの研究室でもっとも広く用いられている方法に基づいたもので、トランスポゾンによってランダムに突然変異を導入したラン藻の中から、スクリーニングによって興味のある表現型を示す突然変異体を単離してくるというものです。私が用いているトランスポゾンは挿入部位の遺伝子を破壊するだけではなく、その端に強い活性を持つ *rbcL* および *glnA* のプロモーターを含んでおり、挿入部位において遺伝子の過剰発現およびアンチセンスによる発現の減衰を引き起こし、近傍の遺伝子の発現に干渉します。トランスポゾンは抗生物質耐性遺伝子および大腸菌内で働く複製起点を含んでいるため、制限酵素によって切り出したトランスポゾンは挿入部位近傍のDNA断片と共にプラスミドとして回収されてくるというわけです。概日リズムは、各種のプロモーターとルシフェラーゼ遺伝子を結合したものを導入したラン藻の形質転換体をレポーター株として用い、ルシフェラーゼによる発光の強弱を経時的に測定することによってモニターしています。

私が現在行っている研究のうちの一つは、光合成系IIの反応中心タンパク質の一つをコードする*psbAI* 遺伝子の発現リズムの振幅を小さくするとともに概日リズムの位相を変化させる突然変異 *tnp6* の解析です。この突然変異体では概日時計から少なくとも *psbAI* 遺伝子の発現リズムまでの情報伝達系のどこかがおかしくなっており、この突然変異体において破壊されている遺伝子 *tnp6* は概日時計の出力系において機能していると考えています。ところで、もしこの突然変異がある特定の遺伝子の発現リズムにのみ影響を与えているとすれば、概日時計からの特定の出力系について的を絞った解析が可能になると思われます。そこで私は現在この突然変異が *psbAI* 遺伝子の発現リズムのみに関わっているのか、あるいは他の遺伝子の発現リズムにも影響を与えているのかということを調べるために、別の８種類の遺伝子のレポーター株で *tnp6* 遺伝子の破壊を行い、それぞれについて発現リズムを測定しようとしています。

私が行っているもう一つの仕事は、生物時計の光リセットに関わる遺伝子を単離するという

ものです。概日時計はラン藻に限らず一般に光によって同調されるのですが、その詳しい機構についてはほとんど分かっておらず、光同調に特異的な光受容体は同定されていないのです。私が現在行っているスクリーニングでは長時間（１２時間）の暗黒により位相が同調されるけれども、短時間（５時間）の暗パルスには反応しない、いわば光刺激に対する感受性の低くなった突然変異体を単離しようとしています。

Susan 教授の研究室では４人の大学院生および４人のポスドクによって主な研究が行われており、これらのメンバーが強光反応、概日時計いずれかの研究にたずさわってます。研究室にはこのほかに、技官と４、５人のアルバイトの学部生がおり、実験の準備や後片づけをやってくれています。大学院生およびポスドクはそれぞれ独立なテーマを持ち研究を進めていますが、大学院生は確実にデータが取れそうな堅実な研究を行い、ポスドクはどちらかといえば冒険的な研究を行う傾向があるようです。

Susan 教授の研究室では週１回の割合で研究の経過報告会があり、各人がお互いの研究について議論するための場となっています。また、同様にラン藻を研究材料として用いている James Golden 教授の研究室のメンバーと共に行う合同のミーティングでは最近の生物学のトピックの紹介および各々の研究室のメンバーの研究についての発表をおこなっています。さらに概日時計の研究にたずさわっている者は大学内の概日時計の研究者と共に論文紹介の合同セミナーを毎週行っています。また毎週、学外から招いた研究者によるセミナーがあります。

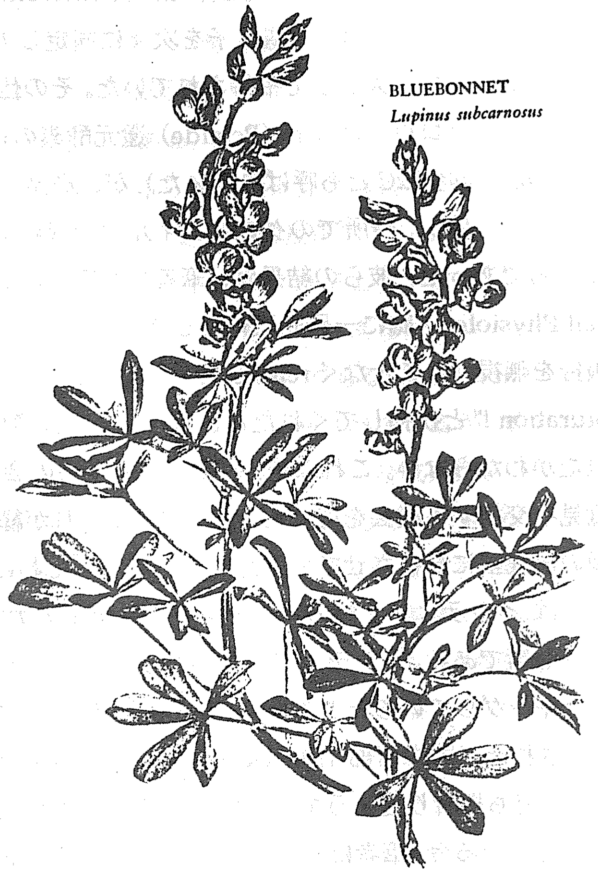
こちらに来てから、最も必要に迫られたのはやはり英語の能力で、これはこちらに来る前から少しは準備していたつもりでしたが、やはり実際に英語しか通じない世界に飛び込んでみなければ分からないものです。こちらに来て実感したのは一つでも多くの単語を正確な発音で憶えればそれだけ生活が楽になるということです。会話の中でよく出てくる不明な単語はなるべく記憶するようになりましたし、会話で苦労した単語ほど忘れにくいようです。その一方で研究室の中だけならば、少しの専門用語と想像力だけでそれほど支障がないのも事実で、これについては科学研究についての思考方法はどこでも共通なのだと実感したものでした。先に書きましたが、私のいる生物学科では、毎週やたらとセミナーがあるのでなるべくこれらに参加して、英語を苦労せずにに聞き取れるようになろうと努力しています（英語で生物学についてのディスカッションと情報交換ができるようになるのは私がこちらに来るときに立てた目標の一つです）。

私は、この研究室に来ているアルバイトの学部生を見て感銘を受けました。彼らは非常に働き者で朝９時から夕方５時までチップ詰めや培地作りなどずっと何かしら仕事をしています。私はこれほどよく働く学生アルバイトを見たことがなかったので、彼らになぜそんなによく働くのかと聞いてみたのですが、他のアルバイトに比べてこれほど楽な仕事はないということでした。私は今までに実験の準備と後片づけにどれほど多くの時間を取られてきたかをここに来て実感しました。学部生のアルバイトについてだけでなく、ここの研究室では各人の研究が最大の能率で進められるようにデザインされているようです。ここでの各人の一日の研究時間がそれほど長くなく（大抵の人々は夕方６時には仕事を終えて帰る）、週末はしっかり休むにもかかわらず実験の結果がすぐ出てくるのはこうした配慮が払われているためと思われます。

私の今までの研究結果についいえば、まだ詳しく述べられるほどのデータは集まっていないのですが、私の解析している *tnp6* 遺伝子はすべての概日リズムに影響を与えるのではなく、ある一群の遺伝子の発現リズムにのみ影響を与えることが明らかになりつつあります。また、概日リズムの光リセットに異常をもつと思われるいくつかの突然変異体が取れています。私は今後最大1年半ここで研究を続ける予定ですが、これらの実験をまとめるには丁度よい長さなのではないかと思っています。

======================================

片山光徳氏の連絡先：
c/o Prof. S. S. Golden
Department of Biology, Texas A&M University, College Station, TX 77843-3258, USA
E-mail: katayama@bio.tamu.edu
Fax: 1-409-862-7659



The State Flower of Texas

インディアナ大学留学雑感

大阪大学 蛋白質研究所　　藤田 祐一
(Department of Biology, Indiana University)

「そんなに寒い頃に行くものではない」と誰かに言われつつ、面倒を見ている修士の学生の学位論文のめどが付く１月末日を渡航日と決めてしまった自分の愚かさを恨みつつ、長期出張の準備もいい加減なまま、あわただしく関西空港からアメリカ合衆国に向けて発ったのが、平成１０年１月３１日であった。文部省の在外研究員への申請が認められて、この日より１年間、米国インディアナ州ブルーミントン（Bloomington）にあるインディアナ大学（Indiana University）に滞在する機会を得ての渡米である。１年間やっかいになるのは、同大学の生物学科のカール・バウアー（Carl Bauer）教授の研究室である。

筆者がバウアー教授と知り合ったのは、1992年夏に名古屋で開催された第９回国際光合成会議の会場であった。当時から、バウアー教授は、光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus* を用いてバクテリオクロロフィル（Bchl）の生合成に関わる遺伝子を次々に同定していく仕事を展開しており、同会議のシンポジウムの講演者の一人として招待されていた。その仕事の一環として、Bchlの生合成過程の一つであるプロトクロロフィリド（Pchlide）還元酵素の遺伝子 *bchL* を同定するとともに、そのホモログ（*chlL*、当時 *frxC* とも呼ばれていた）が、緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* の葉緑体DNAにコードされており、暗所でのクロロフィル生合成に関与していることを、Plant Cell 誌に報告したところであった。彼らの結果は、筆者らがラン藻 *Plectonema boryanum* を材料として Plant and Cell Physiology 誌に一足先に報告した結果と完全に一致していた。バウアー教授は、筆者らの報告を無視することなく refer してくれた上、同会議で筆者らのポスターの前まできて、"Conglaturation !" と祝福してくれたことは、初めて国際学会に出席した筆者をどれだけ勇気づけてくれたかわからない。これ以後、何度か国際学会の会場でお会いして、最近の仕事の進展について意見を交換する機会を持つことができた。これが縁となって、visiting scholar としてバウアー教授の研究室に滞在させていただくことになったわけである。

ここブルーミントンは、インディアナ州の州都であるインディアナポリスから南に車で約１時間の人口６万人の小さな街である。インディアナ大学を中心とした大学の街であるためか、夜中でも女性が一人でジョギングしているところをよく見かけるほど治安が良い。インディアナ大学は、１８２０年に設立された米国中西部（Midwest）で最も伝統ある州立大学である。そのキャンパスの美しさは、全米でも指折りだそうで、春を迎えて木の芽が一斉に吹きはじめ、至るところで様々な花が咲き始めている今、筆者はその美しさを実感しているところである。欧米の大学では普通なのかもしれないが、キャンパスのあちこちに林があって、野生のリスやウサギが走り回っているのを目の当たりにすると、環境の良さに目を見張るものがある。バウアー教授の研究

室のあるジョーダンホール (Jordan Hall) には、４０以上の生物学科の研究室がひしめき合っている。かのワトソン (James Watson) 博士がかつてここの生物学科に大学院生として在籍し、ファージの研究でPhD を取ったということを、筆者はこの建物のロビーに飾ってある著名な生物学者の写真で見つけるまでは知らなかった。 バウアー教授の経歴について少しふれておくと、１９８６年にイリノイ州立大学のガードナー(Jeff Gardner)教授のもとでファージの研究でPhDを得、その後２年間デュポン (DuPont) 社のマーズ (Berry Marrs) 博士の元でポスドクを勤めておられる。光合成細菌を材料とする研究はその時以来ということになる。このときのポスドクの同僚にパクラシ (Himadri Pakrasi) 博士、フェアマス (Wim Vermaas) 博士やダイナー (Bruce Diner) 博士がおられたことを聞いて、現在の光合成の研究をリードする人物が意外なところで重なっていたのに驚かされた。１９８８年にインディアナ大学に赴任し、１９９４年よりゲスト (Howard Gest) 教授の研究室を引き継ぐことになり現在に至っている。現在のバウアー研は、ポスドクが６人、大学院生が３人という人員構成で、光合成細菌を材料として、大きく分けて４つのテーマについて研究を展開している。一つは、Rhodospirillum centenumという光合成細菌の走光性の分子メカニズムを明らかにしようとするプロジェクトである。R. centenumをはじめ幾つかの光合成細菌は、赤外線に対しては正の走光性を示し、可視光に対しては負の走光性を示すことが古くから知られていたが、その分子機構についてはほとんど不明であった。そこでバウアー教授は、R. centenumを材料として、広範なトランスポゾン変異を試みて、走光性に異常を来した変異株を数百種類単離し、その原因遺伝子をトランスポゾンをタグとして片っ端から同定していくという戦略で研究を進めつつある。こうして同定された遺伝子には、繊毛を構築する蛋白質をコードする遺伝子群、E. coliで知られる走化性の情報伝達に関わるcheYなどの既知の遺伝子ホモログに加えて、光合成電子伝達と走光性の反応をリンクさせる可能性のある遺伝子など新規な遺伝子が数多く見いだされつつある。このプロジェクトには、ポスドク３人と院生の１人が関わっており、現バウアー研の主要テーマになりつつある。二つ目は、R. capsulatusの光合成遺伝子クラスターの発現制御に関わる蛋白質の解析である。R. capsulatusは、好気的条件では主に呼吸によって生育し、光合成遺伝子群の発現は抑制されているが、嫌気的条件では光合成遺伝子クラスターの発現が誘導され、Bchl、カロテノイドの生合成系遺伝子群、光化学系の構造遺伝子群が発現し、光化学系が構築される。この誘導に関わるRegA/RegBと呼ばれる二成分系蛋白質、好気的条件下での発現抑制に関わるDNA結合蛋白質CrtJなどの転写制御に関わる蛋白質の諸性質を、E. coliで大量発現させて精製した蛋白質を用いて解析を進めている。このテーマにはポスドク２人と院生２人が関与しており、数年前からのバウアー研の主要テーマである。私が来研する５年ほど前に、バウアー研の最初の日本人として井上和仁博士（神奈川大学）が１年余り滞在してRegA/RegB系の研究に関わっておられた。三番目のテーマは、系統的に様々な光合成細菌から光合成に関わる遺伝子群をクローニングして、それらを比較することにより、光合成の分子進化の手がかりを得ようとするプロジェクトである。PS I 型の反応中心を持つ緑色細菌Chlorobium tepidum・ヘリオバクテリア Heliobacillus mobilusのゲノムDNAから、R. capsulatusのBchl合成系を欠失させた変異株を相補する断片として光合成に関与する遺伝子群を

クローニングする戦略で、このプロジェクトにも当初から井上博士が関わっておられ、現在ポスドクの一人が、H. mobilisから得た遺伝子断片の塩基配列を決定しつつある。この断片には、Bchl生合成系遺伝子をはじめ１９個に及ぶさまざまな光合成関連遺伝子がクラスターをなしており、進化的にも非常に興味深い。４番目のテーマが、Bchlの生合成系の酵素と遺伝子との対応をはっきりさせ、それらの酵素の諸性質を明らかにしようとするプロジェクトで、筆者がポスドクの一人と共同して進めつつある。Bchlの生合成系におけるプロトポルフィリンからクロロフィリドに至るまでの過程は、クロロフィルの合成系と共通した中間体を経ることから、これらの過程に関わる遺伝子は、クロロフィル合成系と共通していると考えられる。これまでの研究から、Mg-キラターゼ（chlI、chlD、chlH）、Mg-プロトポルフィリンIX-メチルトランスフェラーゼ（chlM）、NADPH-Pchlide還元酵素（por）、クロロフィルシンターゼ（chlG）については、これらの遺伝子を発現させたE. coliにおいて活性が検出されたことから、酵素とそれをコードする遺伝子の関係が明らかにされているが、Bchlやクロロフィルの５番目の５員環を形成させる反応を触媒するMg-プロトポルフィリンIX-モノメチルエステル酸化的シクラーゼ、プロトクロロフィリドの８位のビニル基をエチル基に還元する8-ビニル還元酵素、NADPH-Pchlide還元酵素と同じ反応を触媒するが反応に光を要求しない光非依存性Pchlide還元酵素については、それらの反応に関わると考えられる遺伝子は同定されているが、それらの遺伝子自身がそれらの酵素蛋白質をコードしているのか否か、さらにそれらの酵素自体の性質等については、ほとんど不明の状態である。H. mobilisの光合成遺伝子クラスターには光非依存性Pchlide還元酵素に関わる三つの遺伝子が非常に緊密なオペロン（bchL-bchN-bchB）を形成しており、この点を利用して、筆者らはこのオペロンを一括してＰＣＲで増幅し発現ベクターに導入して、E. coliまたはR. centenumで３つの蛋白質を一括して大量発現させ、Pchlide還元活性を検出することを試みている。　バウアー研の研究テーマについては以上であるが、しばらくこの研究室に滞在して気づいた点について少し触れてみたい。一番最初に気づいて感心したのは、実験とは直接関係はないが、２４時間のセントラルヒーティングである。外は零度以下の寒さにも関わらず室内ではＴシャツで過ごせるほどの徹底ぶりである（そのおかげで真冬でもSDS-PAGEのゲルが固まりにくいことなどない。）。冷暖房は各部屋毎に行い、帰るときには必ずスイッチを切って帰る日本の通例と比べ、エネルギーの節約をなかば義務づけられているわが国の資源の貧弱さに悲哀を感じるのは、考え過ぎであろうか。　欧米に留学されていた方から、よく話として聞いていたのであるが、バウアー研でも研究室で共通に使われる溶液や寒天培地の調製、ピペットマンのチップやエッペンチューブの滅菌、ガラス器具の洗い物は、それ専門の方にやっていただける。これは、非常にありがたいシステムであることを実感する。洗い物が山とできる実験をした後でも、それを洗わずにすぐに帰ることができるし、洗い物に使う時間を別のことに当てることができるのだから。また、DNAの塩基配列の決定は、分子生物系の研究室にとっては必須のテクニックであるが、こちらでは塩基配列決定のゲル調製と電気泳動、データ収集を専門にするテクニシャンを雇っており、研究者はシークエンス反応さえ行ってサンプルを所定の場所に置いておくと、明くる日にはコンピュータ上でその結果を見ることができる。他のアメリカの大学には鋳型さえ用意すれば後はすべてテ

クニシャンがやってくれるという研究室もあると聞くが、仕事を徹底して分業化し、共通のものを共有して効率化を図るアメリカの合理性を見る気がする。ところが、こういうシステムも、逆に非効率に見えるところもある。例えば、びっくりしたのは、オートクレーブが各フロアに数台しかない点である。しかもさすがに共通のものだけあって巨大なオートクレーブである。筆者がたまに小さなボトルだけをこの巨大なオートクレーブにかけるたびに、どうしてもっと小さな機動性の高いオートクレーブを買わないのか不思議でしょうがなく思うのである（遺伝子組換えを行う施設では実験室に一台は必ずオートクレーブを置くことを要求する日本のシステムに対しても疑問を感じないわけではないが。）。　もうひとつ、面白いと思ったのは、学科全体の購買システムである。一般的な試薬や文房具を学科として一括購入しており、地下にある"Biology Store"（彼らは、ストックルームとも呼んでいる）に行くと、主要な制限酵素なども含めて、たいていの一般的な試薬、文房具をその場で手に入れることができ、非常に便利である。　セミナーについて少し触れておく。バウアー研のセミナーは"Lab meeting"と呼んでいて、毎週水曜の朝９時から１０時まで行われる。研究室の簡単な連絡事項の後、一人ずつ約４５分くらいかけて自分の仕事の進捗状況を説明する。たいていバウアー教授自らドーナツを買ってきて、朝からドーナツをほうばりつつ始まるセミナーには、最初は随分抵抗感があったものだが、最近は朝食の代わりになりつつある。また、これとは別に、生物学科としての仕事のセミナーがあって、年に一度くらいの割合で院生、ポスドクに回ってくる。このセミナーは、昼食の時間に行われ、聴衆はハンバーガを片手に気楽に聞いているが、演者の方にとっては、持ち時間が１時間もあり、他の研究室のメンバーも聞きに来るため、かなりハードなものであるが、プレゼンテーションのよい訓練になっているようである。　以上、思いつくままインディアナ大学に来て２カ月のうちにいろいろ気が付いたこと（多分に表面的であるが）を書き連ねたが、最後につけ加えておきたいのは、日本の研究室も少なくとも研究設備については、アメリカに比べてほとんど引けを取らないレベルになってきていることを実感した点である。例えば、バウアー研には分光光度計がシングルビームのタイプが一台しかなく、それも他の研究室の人が度々使いに来ている。超遠心機もバウアー研にはない。低速遠心機も３０年くらい前の非常に古いタイプのものが２台きりである。それでもこの研究室からは、重要な成果が次々と上がっているのである。何がその研究レベルを高くさせているのか、それをこれからの滞在で何かしら学べたらと考えている。

==

藤田裕一氏の連絡先：
Department of Biology, Indiana University , Bloomington IN 47405, USA
E-mail: yfujita@bio.indiana.edu (Yuichi Fujita)

編集後記

年齢（トシ）のせいに違いないのですが、近頃挨拶が嫌いな人が多くなったように感じます。「無意味な挨拶は犯罪」と信じているのでは、と疑いたくなる事も多いこの頃です。他人の考えに接することは元々容易ではないのですから、「意志疎通」のチャンスを誘起する機能をもつ「挨拶」という行為は、もっと尊重されても良いのではないでしょうか。

今回の編集では、「挨拶」にトリガーされて面白い原稿が飛び込んできました。野菜・茶業試験場の岡野氏の記事がそれ。一見、植物個体の光合成機能を精密に測定するにはどうすればよいか、という技術的問提起のようにも取れますが、底流には、いわゆる光合成研究者は直接生産に繋がる「現場の光合成」の問題に対してどの様な回答を与えうるのか、という問いかけを含んでいるようにも思えます。

光呼吸に関する誌上討論が前号で一段落しましたので、次号からは岡野氏の問題提起、あるいは岡野氏の記事に誘発された編集局の問題提起、を題材に誌上討論を繰り広げては如何、と考える次第です。奮ってご意見を投稿していただけますようお願い致します。その節は、yorinao@postman.riken.go.jp、あるいはtaguchi@postman.riken.go.jpへメールを送信して下さい。（ＹＩ）

★ 光合成研究会の年会費は、1996年までが¥1000、1997年以降は¥1500です。

★ 研究会メンバーのE-mail addressを整備中です。以前にもお願いしましたが、まだ登録なさっていない方はtaguchi@postman.riken.go.jpまで一度メールをお送り下さい。内容は何でも結構です。

光合成研究会賛助会員名簿　（アイウエオ順）
旭光通商株式会社 日本たばこ産業株式会社　アグリ事業部 日本たばこ産業株式会社　遺伝育種研究所 盟和商事株式会社 有限会社　アースサイエンス

****

光合成研究会　1997～1998年役員

会長　井上頼直　（理化学研究所）

幹事（日本光生物学会の委員を兼任）

小野高明　（理化学研究所）

幹事　都筑幹夫　（東京薬科大学・生命科学部）

幹事　池内昌彦　（東京大学・教養学部）

幹事　寺島一郎　（大阪大学・大学院理学系研究科）

****

光合成研究会　会報　第24号　1998年5月25日発行

〒351-01　埼玉県和光市広沢2－1
理化学研究所　光合成科学研究室内
光合成研究会
TEL: 048-462-1111 (ext. 5542), FAX: 048-462-4685
E-mail: yorinao@postman.riken.go.jp

振替貯金口座　00140－3－730290　光合成研究会