光合成研究

第 32 巻　第 1 号（通巻 93 号）2022 年 4 月
Vol. 32　NO. 1　April 2022
JOURNAL OF THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

集会案内　第 13 回日本光合成学会年会およびシンポジウム　2
トピックス　光合成をやめた不思議な植物「菌従属栄養植物」の進化の道のり
末次 健司 他（神戸大）　4
研究紹介　シロイヌナズナの葉緑体ゲノムの標的一塩基置換
中里 一星 他（東京大）　12
研究紹介　珪藻の集光性色素タンパク質の分子系統と多様性
熊沢 穣 他（京都大）　18
解説特集　「盗葉緑体現象」
序文　高橋 俊一 他（琉球大）　26
解説　盗葉緑体性渦鞭毛藻類ヌスットディニウムから探る細胞内共生の進化
大沼 亮（神戸大）　27
解説　ウミウシは遺伝子水平伝播無しで、餌由来の葉緑体を利用し光合成をする
前田 太郎（慶應義塾大）　38
表紙の紹介　チラコイド膜の維持に関わる VIPP1 タンパク質のオリゴマー構造
坂本 亘（岡山大）　48
若手の会特別企画　第 1 回「3 足のわらじで、Academia, Industry, Society を繋ぐ！」
藤瀬 里紗（広島大学 他）　50
集会案内　第 29 回「光合成セミナー2022：反応中心と色素系の多様性」の開催案内
大岡 宏造（大阪大）　53

事務局からのお知らせ　55
日本光合成学会会員入会申込書　56
日本光合成学会会則　57
「光合成研究」投稿規定　59
幹事会名簿　60
編集後記・記事募集　61
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2022 年度役員　62
賛助法人会員広告

集会案内

第 12 回日本光合成学会年会およびシンポジウムの開催案内

期日:　2022 年 5 月 20 日（金）9:00～5 月 21 日（土）17:30（予定）
開催形態：　Zoom によるオンライン開催
年会 HP：　https://photosyn.jp/event.php
参加費：　2000 円（学会口座に振込。振込手数料は本人負担。会員は学会費（1500 円）も合わせて振込可能）
参加・発表申込：　年会 HP より参加申し込み
　発表受付　2022 年 4 月 1 日（金）から 4 月 29 日（金）
　要旨受付　同上
　参加受付　2022 年 4 月 1 日（金）から 5 月 18 日（水）
参加資格：　非会員でも参加・発表可

全てオンラインで開催し、シンポジウムは例年通り 2 つ実施します。一般発表は、Zoom による口頭発表のみ（質疑応答含め 15 分の予定）とします。ポスター発表は行いません。Zoom のブレイクアウトルーム機能を利用し、2 会場同時進行で行なう予定です。発表希望が多い場合には会場数を増やして対応します。プログラムの詳細は、後日アナウンスします。

なお、学生口頭発表につきましては、昨年同様、優秀発表賞（副賞付き）の表彰を行います。表彰の対象は、会員・非会員を問いません。ぜひ、奮ってご発表ください。PI の皆さんは、研究室ご所属の学生さんに発表を奨励してください。よろしくお願いします。

シンポジウム 1　「光合成研究の最前線」
趣旨：オンライン開催を活かし、海外の最先端研究者にご講演いただきます。

1) Boon Leong Lim (The University of Hong Kong)
「Comparing mesophyll and guard cell photosynthesis in *Arabidopsis thaliana*」
2) Dario Leister (Ludwig-Maximilians-University Munich)
「Novel screens for novel protein(modification)s
3) Conrad W. Mullineaux (Queen Mary University of London)
「mRNA localisation and thylakoid membrane biogenesis in cyanobacteria」
4) Roberta Croce (Vrije Universiteit Amsterdam)
「 From Photoprotection to Photoinhibition: Quenching and quenchers in photosynthesis」
5) Alizee Malnoe (Umeå University)
「Regulation of photoprotective qH by LCNP and SOQ1」

シンポジウム 2　「光合成の誕生・進化・退化」
趣旨：進化の視点から光合成を考えるシンポジウムを開催します。
1) 尾﨑 和海（東邦大・東工大）
　「地質記録と理論モデルから読み解く光合成と地球環境の共進化」
2) 野口 巧（名大）
　「光合成酸素発生の起源と進化」
3) 高林 厚史（北大）
　「光捕集系の進化と光環境適応」
4) 堀 孝一（東工大）
　「植物の陸上進出と乾燥ストレス応答機構の発達」
5) 山口 晴代・鈴木 重勝（環境研）
　「光合成をやめる進化　〜クリプト藻の葉緑体ゲノムでは光合成能消失前に何が起こるのか？〜」

世話人
東京工業大学生命理工学院
増田 真二、下嶋 美恵、堀 孝一、太田 啓之
東京工業大学科学技術創成研究院化学生命科学研究所
久堀 徹、田中 寛、吉田 啓亮、前田 海成
問い合わせ　photosyn@rec.res.tiech.ac.jp

トピックス

光合成をやめた不思議な植物「菌従属栄養植物」の進化の道のり

[1] 神戸大学大学院理学研究科
[2] 大阪府立大学高等教育推進機構
末次 健司 [1]*、小林 康一 [2]

陸上植物の多くは菌根菌と共生しており（菌根共生）、土壌の無機塩類と光合成産物をお互いにやり取りする「相利共生」の関係を成立させている。しかしながら、植物の中には、光合成をやめ、菌根菌から養分を略奪するという特異な進化を遂げた菌従属栄養植物が存在する。植物のアイデンティティは、光合成にあるといっても過言ではないことを考えると、菌従属栄養植物が、どのような適応を経て、光合成をやめるに至ったのかを明らかにすることは、進化生態学的に非常に興味深い課題であるだけでなく、光合成の仕組みや成り立ちの理解にも大きく貢献するだろう。ここでは、筆者らの最近の研究を中心に、光合成をやめた植物の進化の道のりを概説し、その過渡期にいると思われる植物の光合成のあり方について議論したい。

1. はじめ に

皆さんは「植物の特徴を挙げよ」と言われた場合、どのように答えるだろうか。多くの人が、クロロフィル（葉緑素）を持ち、光合成を行うことを挙げるのではないだろうか。しかしながら、植物の中にも光合成能力を失った従属栄養植物が存在する。従属栄養植物は、他の植物に取り付いて養分を奪う「寄生植物」とキノコやカビの仲間（真菌）から養分を奪う「菌従属栄養植物」に大別される。このうち、寄生植物は、農作物に甚大な被害を与えるオロバンキなどが存在することから比較的研究が進んでいる。また一般の人々の間でも、世界最大の花をつけるラフレシアは有名だ。一方で菌から養分を奪う植物はあまり研究されておらず、つい最近まで有機物から直接栄養を得ていると誤解され腐生植物と呼ばれていた [1]。しかし「腐生植物」は、腐った有機物、例えば死体などから養分を得ているわけではなく、キノコやカビの菌糸を根に取り込み、それを消化して生育している。このため、菌に依存して生きていることを明確化するため、菌従属栄養植物（myco-heterotrophic plants）という呼び名が提唱され [1]、学術的な場ではこの呼び方が普及してきた。本稿でも、菌類から養分を奪い、光合成能を喪失した植物を、菌従属栄養植物と呼ぶことにしたい。なお菌従属栄養植物に寄生される菌類の多くは、普段は独立栄養植物と共生し、植物から光合成産物を提供してもらっている。よって菌従属栄養植物の多くは、菌糸のネットワークを通じ、間接的に他の周辺の植物に寄生していると捉えることもできる [1]。

多くの人が、植物なのに他の生物に寄生するなんて特殊な戦略だと感じるかもしれない。しかし、自ら光合成を行いつつ菌類にも寄生する栄養調達様式を採用している植物は、意外なほど多く存在する。例えば、ラン科の植物は、種子に養分を蓄積しないため、発芽から葉が出るまでの期間は根に取り込んだ菌類から養分を奪っている [2]。既知の被子植物のうちの 10%（およそ 25000 種）をラン科植物が占めることを考えると、菌類に寄生する植物が、いかにありふれた存在であるかがおわかりいただけるだろう。なお光合成を行いな

*連絡先 E-mail: kenji.suetsugu@gmail.com

がらも菌に寄生する植物は部分的菌従属栄養植物と呼ばれ、独立栄養植物と光合成をやめた完全菌従属栄養植物をつなぐ進化の中間段階的な存在であると考えられている。

2. どんどん見つかる新種

まず生態について解説する前に、菌従属栄養植物の特筆すべき点として、まだどのような種が存在するかさえ、その全貌が未解明であることを強調しておきたい。これは世界で最も植物の戸籍調べが進んでいるとされる日本でさえ例外ではない。例えば、末次は、2012 年 4 月、鹿児島県三島村竹島で、未知の菌従属栄養性のラン科植物を発見した。詳しく検討した結果、この植物はラン科のオニノヤガラ属に属し、既知種の中ではハルザキヤツシロランに近縁であることが判明したが、花の内部構造などが明らかに異なり、新種「タケシマヤツシロラン」として発表した[4]（図 1）。植物相に関する調査研究が進んでいる日本においては、被子植物の新種記載は、年間数種にとどまっている。しかもそのほとんどは、「地元でその存在が既に知られており和名はついていたもの」か、「これまで知られていた植物を詳細に検討した結果、複数種に分かれることが判明したもの」かのどちらかだ。従って、日本において未知の植物が、未知の自生地とともに見つかるというのは非常に珍しいことだ。

図1. 閉鎖花のみをつけるタケシマヤツシロラン
花が開いておらず、蕾のようにみえるが写真に写っている花はすべて受粉済みである。

では、なぜ今までタケシマヤツシロランは発見されずにいただろうか。その理由はタケシマヤツシロランの独特な生活史にある。タケシマヤツシロランは、地上部に姿を現す期間が 1 か月程度と短いうえに植物体も全長 10cm 程度と小さく、色も周辺に紛れ込みやすい保護色をしている[4]。これらの特徴が、タケシマヤツシロランの発見を困難にしたと考えられる。発見が難しいのは他の菌従属栄養植物も同様であるため、菌従属栄養植物は世界に 600 種程度しか知られていないが、その種数は過小評価されている可能性が高い[5]。菌従属栄養植物は、ラン科、ツツジ科、ヒメハギ科、リンドウ科、ヒナノシャクジョウ科、コルシア科、アヤメ科、サクライソウ科など、非常に幅広い分類群で見られ、タケシマヤツシロラン以外にも近年も多くの新種が発見されている[1]。事実、末次もタケシマヤツシロランを皮切りに、国内外問わず 20 種近い菌従属栄養植物を新種として記載している。未開の地である熱帯域でフィールド調査を丹念に行えば[6–8]、まだまだ多くの新種の菌従属栄養植物を発見できる可能性が高い。

なお今回紹介したタケシマヤツシロランは、花が開かないまま自家受粉で結実する（閉鎖花しかつけない）点で、その生態も興味深い。ラン科植物は、基本的には特定の送粉者を呼び寄せるために、独特な花形態を進化させていることが知られている[9]。よってラン科でありながら昆虫による受粉の可能性を完全に捨てた本種は注目すべき存在である。実は、植物全体を見渡しても送粉者のいない場合や資源が乏しい場合の保障として閉鎖花を咲かせるケースがほとんどで、閉鎖花しかつけない植物はほぼ皆無である[10]。一方で、タケシマヤツシロランが属するオニノヤガラ属では、本種の他にも、クロシマヤツシロランやヌカヅキヤツシロランなどの閉鎖花のみをつける分類群が、琉球列島や台湾で近年次々と発見された。これらの材料を活用し、閉鎖花しかつけない植物を生み出す遺伝的メカニズムや進化的背景の解明に取り組んでいるところである。

3. 光合成をやめた生活の利点とは？

次に菌類から養分を略奪するという進化に、どのような適応的意義があるのか考えてみたい。良く挙げられる利点は、「菌に寄生することで、ほかの植物が生育できないほど暗い林床へ進出することができ、他の植物との競争を回避できるようになった」というものだ[3]。しかしながらこの利点に関しては、生存率をどの程度上昇させることができるといった定量的なデータを得ることは難しい。

そこで、末次は、別の菌従属栄養性の適応的意義として、一度、地上部を現した後でも、ストレスにさらされた際には、翌年以降、地下にとどまり、菌から十分な炭素源を得た後、再度、地上部を出現できるという利点を考えた。通常の光合成だけを行っている植物においても、多年生植物の場合、地上に現れない状態で生存し続け、翌年以降、再度、地上部が現われることがある。こうした現象も休眠と呼ばれるが、種子休眠とは異なり、根の呼吸などの代謝活動は停止しない[11]。そのためそれまでに蓄積した養分が枯渇してしまい、ほとんどの場合、休眠を経た個体の生存率は低下してしまう[12]。しかしながら菌に寄生する植物の場合、休眠中も、菌類から炭素源を補うためコストが軽減され（むしろ地上部を現さないことで食害などを受ける危険性が減るため）、生存率を保つことができる可能性がある。

そして、部分的菌従属栄養植物であるキンランにおいて、複数年に渡る出現条件の観察データをもとにこの仮説を検証したところ、予測通り食害を受けたときや結実したときなど、植物の資源が枯渇した際に休眠が起こりやすくなることが明らかになった。さらに食害や資源の枯渇といったストレスにさらされた際に休眠に入るにも関わらず、休眠した個体のほうが非休眠個体より生存率が高いことが明らかになった（図 2）。これらの知見は、菌に寄生する意義のひとつに「休眠コストを軽減し、ストレスを受けた際に、地上部を展開せずに地下にとどまることができる」ことが挙げられることを示す重要な成果といえるだろう[13]。

4. 困難を極める不思議な進化

それでは逆に光合成をやめるという進化にどのような不利益があるのかを考えてみたい。この前項までに述べたように、25000 種以上もの植物が、少なくとも生活史の一部では菌に寄生するにも関わらず、完全に光合成を失った植物は 800 種ほどしか知られていない。我々がその多様性を正しく認識できていない面もあるが、部分的菌従属栄養植物に比べ、圧倒的に少ないことは間違いな

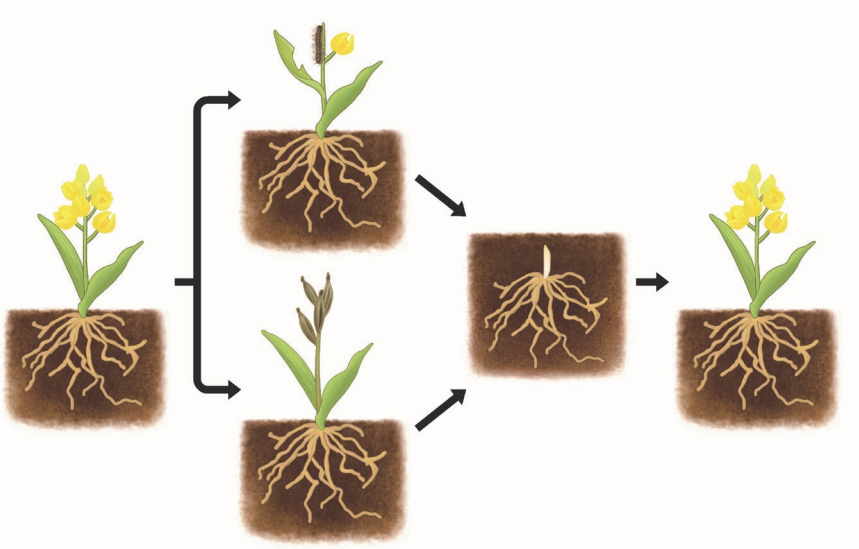


図2. キンランの生活史の模式図
食害を受けたときや結実したときなど、植物の資源が枯渇した際には、休眠が起こりやすくなる。

い。このことは完全に光合成をやめる生き方に何らかの不都合があることを示唆しているように思える。

光合成をやめることにどのような障壁があるのかを考えるよい材料となるのが、光合成能力と菌類への寄生能力を兼ね備える部分的菌従属栄養植物だ。興味深いことに、部分的菌従属植物では、クロロフィルを完全に失ったアルビノ変異体がよくみられる[14,15]（図 3）。通常の植物では、クロロフィルを失ったアルビノは、種子に貯蔵された養分を使い果たすと枯れてしまう。しかしながら部分的菌従属栄養植物のアルビノは、菌から炭素源を含む養分を略奪することができるため、クロロフィルを持つ通常個体と同様に成長することができる。にもかかわらずこの部分的菌従属栄養植物のアルビノ形質は、集団内にほとんど広がらない[13]。その理由としては、光合成を行わないのに葉や気孔を持つアルビノは、光環境に応じた気孔の開閉を行うことができないためオーバーヒートにより乾燥しやすく、通常の個体よりも早い段階で枯死してしまうことが挙げられる[16]。事実、種子の成熟前に消失してしまうことも多いため、キンランのアルビノ個体は、通常個体の 1%以下の種子しか生産していなかった[16]。また成長の面では通常個体と同等とはいえアルビノは、光合成を行わない分、特に生育時期の後半において炭素制限に陥りやすいようだ[16]。さらにアルビノ個体は反射率の高い白い葉を持つことで、植食性昆虫から見つけられやすくなることにより食害率も上昇することも分かっている[13,16]。

図3. キンランのアルビノ突然変異個体と通常個体
アルビノも通常個体と同等の高さに成長している。

これらのことを考えると、植物が光合成をやめるためには、寄生能力の獲得だけでなく、同化器官や気孔の退化、開花から結実までの期間の短縮、非開花時期の休眠、保護色、あるいは、新たな二次代謝物質の獲得など、数多くの適応を遂げる必要があることがわかる[13,16]。これらの適応を全て獲得するのは非常に難しいため、完全に光合成をやめることができた植物種は非常に少ないのかもしれない。

5. 一足飛びには起こらない光合成機能の喪失

上述の通り、光合成をやめるためには、同化器官の退化などの多くの適応が必要であることが推測された。このような多くの形質を一度に獲得することはできるのだろうか？

実は、緑葉を持つ種とまったくクロロフィルを持たない種を含む近縁種の系統樹を作成することで、菌従属栄養性の種の出現に先行して、緑葉を持ちながら、自身の光合成産物の不足を補う部分的菌従属栄養性の種が先に現れる場合が多いことが証明されている[17]。もちろん光合成をやめるに際しては、従属栄養性の獲得は大前提であるため、部分的菌従属栄養性の獲得は、完全菌従属栄養性獲得の前適応になったのは間違いない。その一方で、部分的菌従属栄養植物の多くは、前述のキンランなどを初めとして、一見すると独立栄養植物と見紛うばかりの立派な緑葉を持っており、光合成機能を完全に喪失した菌従属栄養植物への進化の道のりはまだまだ遠いように思える。

そこでこのミッシングリンクを考える上で重要そうな植物として、我々はマヤランに着目した[18,19]。マヤランは、普通葉はもたないが、結実期になると果実にクロロフィルを蓄積し、光合成を行う植物である（図 4)。葉のない薄緑色の茎に花を咲かせるマヤランの姿は、一見、完全菌従属栄養植物を思わせるが、^{13}C と ^{15}N の安定同位体比分析から、緑色を濃くする果実期には、1/4 程度の炭素を光合成により得ていると推定された[18]。実際、果皮には気孔が発達し、光依存的な酸素発

図4. 葉を退化させたマヤラン
緑色していることからもわかるように光合成している。特に果実期には1/4程度の炭素を光合成で得ていると推定されている。

生活性が検出される[19]。また自生地の林床で測定した果実の光化学系 II の実効量子収率（Y_{II}）は、50 μmol photon m^{-2} s^{-1} 前後の日陰環境下で 0.4 程度の値を示したことから、光合成電子伝達を行っていることは明らかである。果実における光合成が炭素収支に寄与することが多くの植物で報告されており[20]、マヤランにおいても、果実の光合成は重要な役割を担っているのかもしれない。

一方でマヤランには、一般的な独立栄養植物とは大きく異なる光合成の特徴も見られる。特に顕著なのは、一般的な植物の光化学系 II の最大量子収率（Fv/Fm）が 0.8 を超えるのに対し、マヤランの果皮では 0.6 に達しないほど低いことである（図 5A）[19]。低温蛍光スペクトルの分析から、マヤランの果皮では、光化学系 II からエネルギー的に乖離した光捕集アンテナ複合体が多く存在することが示唆されており、それらの光化学反応に寄与しないアンテナの存在が、Fv/Fm の値を低くしているのかもしれない。また、マヤランの果実では、actinic light 照射後のクロロフィル蛍光の誘導がかなり速い。クロロフィルの蛍光誘導は還元型プラストキノン（Q_A）の飽和までの速度を反映することから、この種では光化学系の機能状態も一般的な植物とは大きく異なっていると推測される[19]。これらの特徴は光合成活性を制限する要素となるため、一般的な光合成を行う独立栄養植物においては不利となり得るが、同じ理屈が光合成への依存度を弱めた部分的菌従属栄養植物に当てはまるかは定かでない。例えば、強光下ではマヤランの果実は非常に低い Y_{II} の値を示すが、光化学系 II 自身の量子収率が低いため、プラストキノンプールの酸化状態を示唆する qP の値は比較的高く保たれる（図 5B）[19]。つまり、マヤランの果実では、光化学系 II の機能に制限があることで、下流の電子伝達鎖を酸化的に保てている、という見方が可能である。実際、光化学系 II の電子伝達の阻害により光化学系 I の光阻害を減少できることがシロイヌナズナにおいて報告されており[21]、Fv/Fm が低いことが、マヤランではむしろ適応的に働いている可能性も考えられる。マヤ

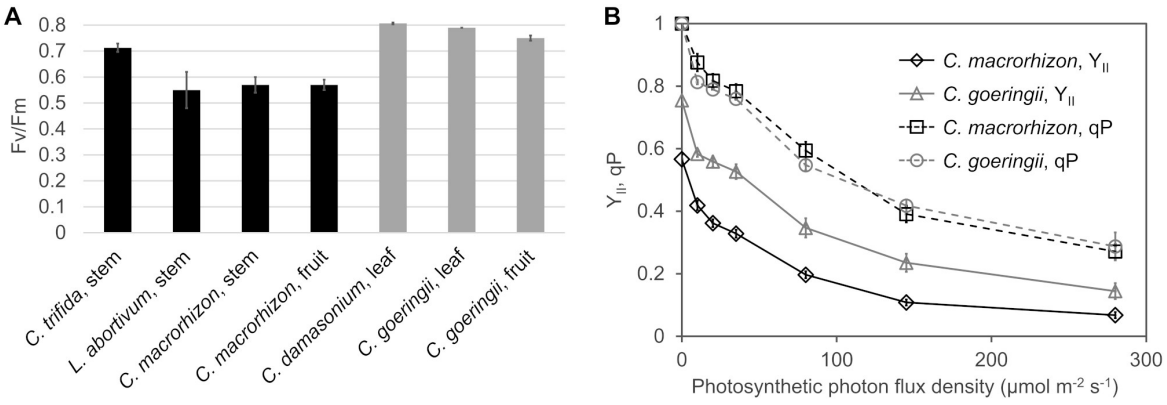


図5. 部分的菌従属栄養性のラン科植物における光合成パラメータ
A. 普通葉をつけない*Corallorhiza trifida*[22]、*Limodorum abortivum*[23]、およびマヤラン（*Cymbidium macrorhizon*）[19]の茎または果実の光化学系II最大量子収率（Fv/Fm）と、普通葉をもつ*Cephalanthera damasonium*[22]およびシュンラン（*Cymbidium goeringii*）[19]の葉または果実のFv/Fm。各論文に記載されているデータを集約して表示した。
B. マヤラン（*C. macrorhizon*）とシュンラン（*C. goeringii*）の果実における光化学系II実効量子収率（Y_{II}）とqPの光応答曲線の比較。Kobayashi et al. (2021)[19]に基づいて作成した。

ランと同様に、普通葉を失った部分的菌従属栄養植物である *Corallorhiza trifida* や *Limodorum abortivum* も低い Fv/Fm 値を示す一方、立派な緑葉をもつ部分的菌従属性のキンラン属 *Cephalanthera damasonium* やシュンランではそのような低下はみられないことから（図 5A）[19,22,23]、光化学系 II の能力の低下が、光合成をやめるという進化において一つの重要なステップとなっているのかもしれない。

6. 光合成遺伝子の喪失

前述の通り、普通葉をもたないマヤランは菌への依存度がかなり高くなっているが、基本的な光合成能力は維持されており、それを反映するように、色素体ゲノムには *ndh* 遺伝子以外のすべての遺伝子が保持されている[24]。この傾向は *C. trifida* や *L. abortivum* でも同様であり[24]、これらの植物種でみられる Fv/Fm の減少は、核や色素体ゲノムにおける大規模な改変というよりは、光合成関連遺伝子の部分的な変化によって引き起こされているのだろう。

一方で、完全に光合成能力を失った植物や藻類では、色素体ゲノムの退縮がみられる。しかし、その程度は、極度に縮小したものから一部欠損しただけのものまで様々であり、光合成能を失ってからの期間の長さなどに依存するのだろう[25,26]。光合成能を有するマヤランでもほとんどの *ndh* 遺伝子が失われているように、順番としては、まず *ndh* 遺伝子群が欠損すると考えられている。しかし、*ndh* 遺伝子の喪失は独立栄養性の植物や藻類でもしばしばみられるため、光合成能力の喪失との直接的な関連性は不明である[24,26]。次に失われるのは、光化学系 I や II、シトクローム b_6f 複合体のサブユニットをコードする遺伝子である。それに対し、ルビスコ大サブユニットや ATP 合成酵素をコードする遺伝子はより長く保持されることが知られており、光合成以外の重要な機能をもつためだと推測されている[25,26]。また、色素体はヘムや脂肪酸の合成などの光合成以外の役割も担い、それらの代謝に関わる遺伝子の一部（*trn*E や *acc*D）は色素体ゲノムにコードされているため、色素体ゲノムや色素体そのものは、光合成をやめても細胞内に維持されるケースがほとんどである[26]。例外として、寄生植物のラフレシアや光合成をやめた緑藻のポリトメラは色素体ゲノムを完全に喪失した可能性が指摘されており、渦鞭毛藻類やアピコンプレクサに属する二次共生藻類には、色素体自体を完全に失ったと考えられる種も存在する[26]。色素体をどこまで退縮させられるかは、色素体の機能を補完する経路が確保できるかどうかで決まるのだろう。

7. 光合成をやめた植物の進化の行く先

最後にこれまでの議論を踏まえ、光合成をやめた植物の進化のいきつく先を考えてみたい。まず菌との関わりの面を考えてみよう。通常、植物は菌に光合成産物を供する対価として、窒素やリンを受け取っている。菌根共生と呼ばれるこの関係には、植物と菌がお互いに良いパートナーかどうかを見分ける仕組みが存在することが知られている[27]。つまり植物が菌に炭素を十分に与えないと、菌はその植物を見限って別の植物と共生関係を強めることができるのだ[27]。そのため、菌従属栄養植物のように、植物側が一方的に菌に寄生しようとした場合、菌からの「審査」を欺く必要があると考えられる。しかし、うまく審査の目をくぐり抜けて菌に寄生できたとしても、得られる炭素は限られているのか、菌従属栄養植物の多くは非常に小型である。

また菌に依存するデメリットは、栄養調達の面に限らない。菌従属栄養植物が寄生する菌類の多くは薄暗い林床に生息しているため、菌従属栄養植物も暗い環境に生息せざるを得えない。そこはハナバチに代表される訪花性昆虫のにぎわいとは無縁の世界で、虫媒による受粉が期待できない。そのような場所で、菌従属栄養植物はどのように受粉を達成しているのか調査したところ、多くの種が同花内で受粉が成立する自動自家受粉を採用していることがわかった[28,29]。さらに極端に自殖に特化した例が、閉鎖花のみをつけるタケシマヤツシロランのような植物であろう。

その一方、菌従属栄養植物と宿主である菌類との間で見られるような敵対的な相互作用の場では、相手に対抗するため絶えず適応し続けていく

必要がある[30]。有性生殖は、遺伝子を組み換えて適応の速度を速める非常に重要な性質である。寄生者―宿主系を離れてみても、自家受粉のみに頼る生活史には、近交弱勢をはじめとする様々な不具合が生じることが知られている[31]。多くの菌従属栄養植物は、完全自殖性となり有性生殖の機会を失ったことで、菌類への対抗適応という面では不利な立場に立たされている可能性がある。自らは光合成をせず、菌類から養分を掠め取って生きる菌従属栄養植物。彼らは、効率的でしたたかな存在にみえる。しかし長い進化スケールで考えると、消えゆく運命にあるのかもしれない。

8. おわりに

今回紹介したタケシマヤツシロランをはじめ、菌従属栄養植物の多くは深い森に生息する植物である。彼らは、生態系の絶妙なバランスの中で生活環を全うしているため、環境の変化に弱いという特性がある。そのため、進化というような長期間のタイムスケールを考えずとも、開発により多くの種が絶滅の危機に瀕している。今のこの瞬間にも、未知の種が人知れず絶滅している可能性もある[5]。かつて南方熊楠も、ホンゴウソウを初めとする光合成をやめた植物が生える場所こそ森の聖域であると述べ、そういった環境の貴さを訴えた。豊かな森とそこに棲む菌類に支えられた菌従属栄養植物が未来永劫生き続けることができる世の中であることを願っている。

Received Jan 23, 2022; Accepted Mar 17, 2022; Published Apr 30 2022.

参考文献

1. Leake, J. R. The biology of myco-heterotrophic ('saprophytic') plants. *New Phytol.* **127**, 171–216 (1994).
2. Bidartondo, M. I. The evolutionary ecology of myco-heterotrophy. *New Phytol.* **167**, 335–352 (2005).
3. Bidartondo, M. I., Burghardt, B., Gebauer, G., Bruns, T. D. & Read, D. J. Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **271**, 1799–1806 (2004).
4. Suetsugu, K. *Gastrodia takeshimensis* (Orchidaceae), a new mycoheterotrophic species from Japan. *Ann. Bot. Fenn.* **50**, 375–378 (2013).
5. Suetsugu, K., Nakanishi, O., Kobayashi, T. & Kurosaki, N. *Thismia kobensis* (Burmanniaceae), a new and presumably extinct species from Hyogo Prefecture, Japan. *Phytotaxa* **369**, 121–125 (2018).
6. Nishioka, T., Suetsugu, K., Repin, R. & Kitayama, K. Thismia kinabaluensis (Thismiaceae), a new species from Mt. Kinabalu, Sabah, Borneo. *Phytotaxa* **360**, 174–178 (2018).
7. Suetsugu, K., Suleiman, M. & Tsukaya, H. A new species of *Gastrodia* (Gastrodieae, Epidendroideae, Orchidaceae) from the Maliau Basin Conservation Area, Sabah, Borneo. *Phytotaxa* **367**, 78–84 (2018).
8. Tsukaya, H. & Okada, H. Two new species of *Sciaphila* Blume (triuridaceae) from Kalimantan, Borneo, with a new record of *S. thaidanica* from Borneo. *Syst. Bot.* **38**, 600–605 (2013).
9. Nilsson, L. Orchid pollination biology. *Trends Ecol. Evol.* **7**, 255–259 (1992).
10. Culley, T. M. & Klooster, M. R. The cleistogamous breeding system: A review of its frequency, evolution, and ecology in angiosperms. *Bot. Rev.* **73**, 1–30 (2007).
11. Shefferson, R. P. R. S. Demographic response to shading and defoliation in two woodland orchids. *Folia Geobot.* **41**, 95–106 (2006).
12. Shefferson, R. P. & Tali, K. Dormancy is associated with decreased adult survival in the burnt orchid, Neotinea ustulata. *J. Ecol.* **95**, 217–225 (2007).
13. Suetsugu, K. & Kato, M. Evolution of life history traits suited to mycoheterotrophic life style with special reference to pollination biology. *BSJ-Rev.* **5**, 93 (2014).
14. Suetsugu, K. *et al.* Comparison of green and albino individuals of the partially mycoheterotrophic orchid *Epipactis helleborine* on molecular identities of mycorrhizal fungi, nutritional modes and gene expression in mycorrhizal roots. *Mol. Ecol.* **26**, 1652–1669 (2017).
15. Suetsugu, K., Yamato, M., Matsubayashi, J. & Tayasu, I. Comparative study of nutritional mode and mycorrhizal fungi in green and albino variants of *Goodyera velutina*, an orchid mainly utilizing saprotrophic rhizoctonia. *Mol. Ecol.* **28**, 4290–4299 (2019).
16. Roy, M. *et al.* Why do mixotrophic plants stay green? A comparison between green and achlorophyllous orchid individuals in situ. *Ecol. Monogr.* **83**, 95–117 (2013).

17. Selosse, M.-A. & Roy, M. Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. *Trends Plant Sci.* **14**, 64–70 (2009).
18. Suetsugu, K., Ohta, T. & Tayasu, I. Partial mycoheterotrophy in the leafless orchid *Cymbidium macrorhizon*. *Am. J. Bot.* **105**, 1595–1600 (2018).
19. Kobayashi, K., Suetsugu, K. & Wada, H. The leafless orchid *Cymbidium macrorhizon* performs photosynthesis in the pericarp during the fruiting season. *Plant Cell Physiol.* **62**, 472–481 (2021).
20. Simkin, A. J., Faralli, M., Ramamoorthy, S. & Lawson, T. Photosynthesis in non-foliar tissues: implications for yield. *Plant J.* **101**, 1001–1015 (2020).
21. Suorsa, M. *et al.* Proton Gradient Regulation5 is essential for proper acclimation of *Arabidopsis* photosystem I to naturally and artificially fluctuating light conditions. *Plant Cell* **24**, 2934–2948 (2012).
22. Cameron, D. D., Preiss, K., Gebauer, G. & Read, D. J. The chlorophyll-containing orchid *Corallorhiza trifida* derives little carbon through photosynthesis. *New Phytol.* **183**, 358–364 (2009).
23. Girlanda, M. *et al.* Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal Russulaceae. *Mol. Ecol.* **15**, 491–504 (2005).
24. Kim, Y.-K. *et al.* Plastome evolution and phylogeny of Orchidaceae, with 24 new sequences. *Front. Plant Sci.* **11**, 22 (2020).
25. Graham, S. W., Lam, V. K. Y. & Merckx, V. S. F. T. Plastomes on the edge: the evolutionary breakdown of mycoheterotroph plastid genomes. *New Phytol.* **214**, 48–55 (2017).
26. Hadariová, L., Vesteg, M., Hampl, V. & Krajčovič, J. Reductive evolution of chloroplasts in non-photosynthetic plants, algae and protists. *Curr. Genet.* **64**, 365–387 (2018).
27. Kiers, E. T. *et al.* Reciprocal rewards stabilize cooperation in the mycorrhizal symbiosis. *Science* **333**, 880–882 (2011).
28. Suetsugu, K. Autonomous self-pollination and insect visitors in partially and fully mycoheterotrophic species of *Cymbidium* (Orchidaceae). *J. Plant Res.* **128**, 115–125 (2015).
29. Suetsugu, K. Autogamous fruit set in a mycoheterotrophic orchid *Cyrtosia septentrionalis*. *Plant Syst. Evol.* **299**, 481–486 (2013).
30. Ladle, R. J. Parasites and sex: Catching the red queen. *Trends Ecol. Evol.* **7**, 405–408 (1992).
31. Brandvain, Y., Kenney, A. M., Flagel, L., Coop, G. & Sweigart, A. L. Speciation and introgression between *Mimulus nasutus* and *Mimulus guttatus*. *PLoS Genet.* **10**, e1004410 (2014).

Evolutionary history of mycoheterotrophic plants

Kenji Suetsugu[1*] and Koichi Kobayashi[2]

[1] Department of Biology, Graduate School of Science, Kobe University

[2] Faculty of Liberal Arts and Sciences, Osaka Prefecture University

研究紹介

シロイヌナズナの葉緑体ゲノムの標的一塩基置換‡

[1] 東京大学 大学院農学生命科学研究科
[2] 東京工業大学 生命理工学院
[3] 久留米大学 医学部
[4] 京都大学 大学院理学研究科
中里 一星[1]、奥野 未来[2,3]、山本 宏[4]、田村 美子[1]、
伊藤 武彦[2]、髙梨 秀樹[1]、堤 伸浩[1]、有村 慎一[1]*

シロイヌナズナの葉緑体ゲノムの特定の C:G 対を T:A 対に置換する、標的一塩基置換法について報告する。2020 年 7 月に米国のグループが人工制限酵素 transcription activator-like effector nuclease (TALEN) の DNA 結合ドメインと細菌の cytidine deaminase を融合した塩基置換酵素を用いて、ヒト培養細胞ミトコンドリア DNA の標的シトシン (C) を一過的にチミン (T) に置換したと報告した。筆者らはこの方法を応用し、シロイヌナズナの葉緑体ゲノムの標的一塩基置換を試みた。塩基置換酵素発現ベクターを核ゲノムに導入した形質転換体 T_1 世代の植物個体の中には、標的の C が T にホモプラスミックに置換されたものが存在した。また、導入変異は種子後代に安定遺伝し、その中には核ゲノムのヌルセグリガントである可能性の高い個体も含まれた。

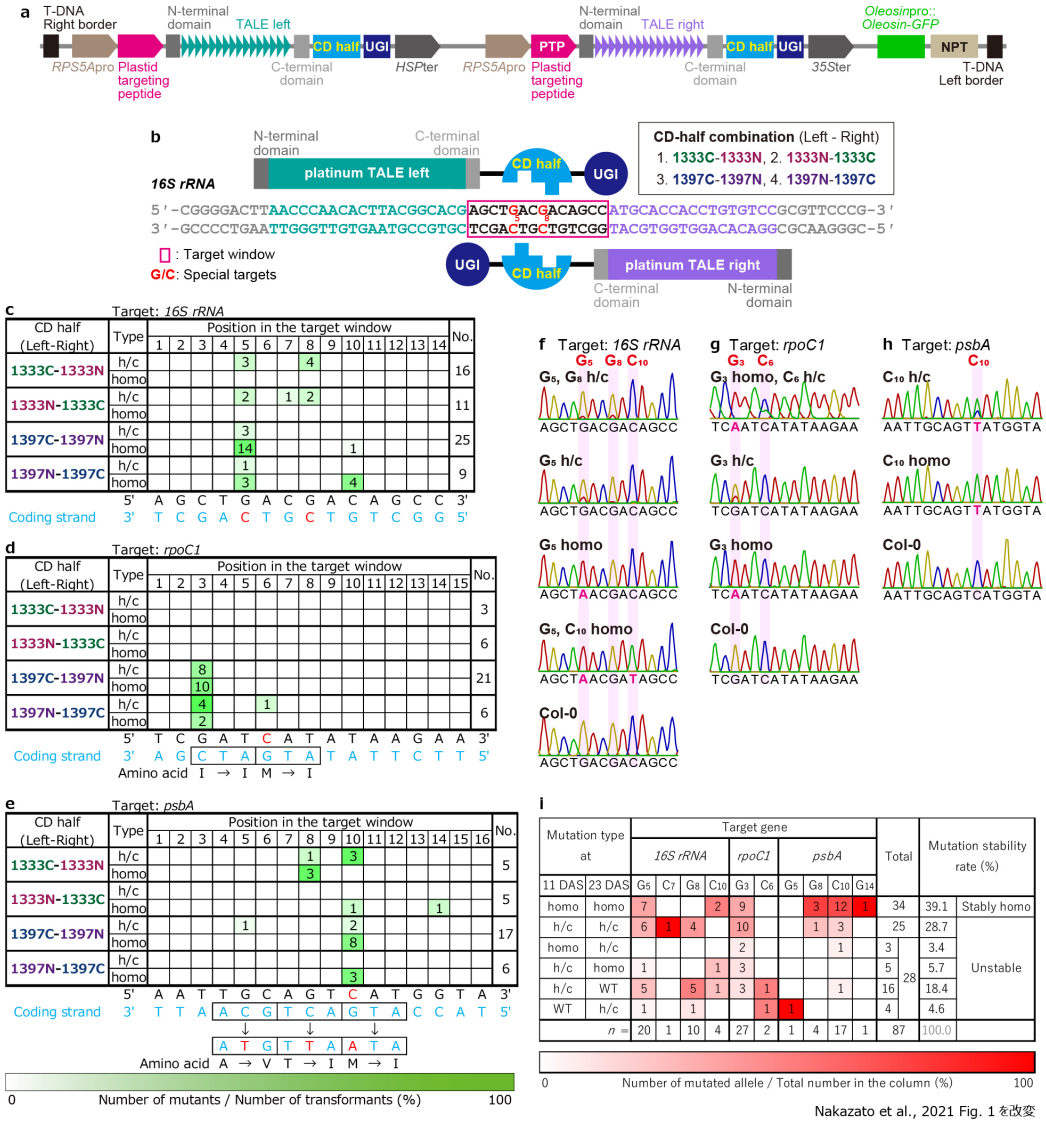
1. はじめに

葉緑体ゲノムは、光合成に関連する遺伝子群や、それらの発現に必要な遺伝子群をコードしており、その改変によって作物の光合成能力の向上が見込まれる。また、それに付随して、作物に収量やバイオマスの増加をもたらす可能性がある。葉緑体ゲノムの改変方法は既に報告されているが、その中心技術であるパーティクルガンを用いた葉緑体形質転換法[1]（葉緑体ゲノムへの遺伝子導入法）には、相同組換えを利用してゲノムの特定箇所に遺伝子を導入できる、導入遺伝子をタンパク質レベルで高発現させることができる、という利点がある[2]。その一方で、この手法はモデル植物シロイヌナズナやイネを含む多くの植物種への適用が困難である上に[3–6]、選抜マーカー遺伝子の葉緑体ゲノムへの挿入を伴うため[5,7]、作出された植物体が遺伝子組換え生物扱いとなり実用化上の障壁がある、という望ましくない点もある。本研究ではシロイヌナズナを用いて、これらの望ましくない点を避けつつ葉緑体ゲノムを安定改変する技術の確立を試みた。

我々は、オルガネラのゲノム編集を目指して、ゲノム編集酵素発現ベクターで核ゲノムを形質転換し、その転写/翻訳産物をオルガネラへ局在させるという手法をとっている。細胞質から葉緑体ストロマへの物質輸送において、タンパク質の場合はその N 末端部分に葉緑体移行シグナルをつければ達成できるが、現時点で RNA を効率的に輸送する方法は確立されていない。そのため、核のゲノム編集によく用いられている CRISPR/Cas システムは葉緑体ゲノムの改変に用いることができず、タンパク質のみからなるシステムを用いる必要がある。2020 年 7 月に米国のグループがタンパク質のみを用いた方法で、ヒト

‡第 11 回日本光合成学会年会学会賞受賞論文
*連絡先 E-mail: arimura@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

培養細胞ミトコンドリア DNA の標的の C を一過的かつ部分的に T に置換したと報告した[8]。この手法では、*Burkholderia cenocepacia* DddA タンパク質の cytidine deaminase (CD) を二分割したポリペプチドの N 末端側に人工制限酵素 TALEN の DNA 結合ドメイン（TALE、さらにこの N 末端



Nakazato et al., 2021 Fig. 1 を改変

図1. 葉緑体ゲノムの標的一塩基置換

a, ptpTALECD発現ベクターのT-DNA領域（植物の核ゲノムに挿入される配列）。**b**, 一対のpTALECDタンパク質と*16S rRNA*遺伝子におけるtarget window (赤色の四角で囲まれた領域)。左右のTALEが結合する配列をそれぞれ緑色と紫色で表した。CDを1,333番目または1,397番目のグリシンの直後で二分割し、そのN末端側とC末端側をそれぞれTALEに融合した。赤色のC:G対は真の標的塩基対。CD, cytidine deaminase; UGI, uracil glycosylase inhibitor. **c-e**, 23 DASのT_1個体において、target windowの何番目の塩基対にどの程度の変異が何個体で導入されたかを示す表 (c, *16S rRNA*; d, *rpoC1*; e, *psbA*)。T_1個体に占める塩基置換個体の割合を緑色の濃さで示し、塩基置換に伴うアミノ酸置換を表の下部に示した。赤色のCは 真の標的シトシン。homo, ホモプラスミー; h/c, ヘテロプラスミーまたはキメラ。**f-h**, サンガー法によるtarget windowの配列の代表的な解読結果 (**f**, *16S rRNA*; **g**, *rpoC1*; **h**, *psbA*)。各target windowにおいて、表示されている少なくとも 1つのデータで置換された塩基をピンク色の帯で覆った。**i**, 11 DASと23 DASの少なくとも一方で置換された塩基について、2時点間の置換程度 (mutation type) の変化の割合を表にした。この割合は、置換程度の変化 (例：11 DAS homo & 23 DAS homo) の総数 (Total列の各数値、11 DAS homo & 23 DAS homoの場合は34) を、置換された塩基の総数 (87) で割った値である。 赤色の濃さは置換された塩基の数の、各列における割合を表す。Unstableとは、2時点間で置換程度が異なることを意味する。Gx/Cy, TALE leftが結合したDNA鎖上にあり、target windowの左端から見てx番目のGまたはy番目のC; WT, wild type. 図は文献17より引用。

側にミトコンドリア移行シグナル配列が結合している）を、また C 末端側に uracil glycosylase inhibitor (UGI[9]) を、それぞれ融合した一対のタンパク質が用いられた。この塩基置換法では、左右の TALE ドメインがそれぞれ標的 DNA 配列に特異的に結合し、その間の配列 (target window) にある C:G 対が T:A 対に置換された[8]。本研究ではこの手法を応用し、葉緑体に局在する標的一塩基置換酵素を発現するベクター（図 1a）でシロイヌナズナ Col-0 の核ゲノムを形質転換することで、葉緑体ゲノムの特定の C を T に（C:G 対を T:A 対に）変換することを試みた。この酵素は、CD を二分し、それぞれに UGI と人工制限酵素 platinum TALEN の DNA 結合ドメイン (pTALE[10]) を融合し (pTALE-CD-UGI)、さらにシロイヌナズナ RecA1 タンパク質の葉緑体移行シグナル[11,12] を繋げた一対のタンパク質 (plastid-targeted pTALE-CD-UGI, ptpTALECD) である。

2. 結果と考察

2.1. シロイヌナズナ Col-0 の葉緑体ゲノムの特定の C:G 対を T:A 対に、T_1 世代でホモプラスミックに置換

葉緑体ゲノムの 3 つの領域に存在する特定の C:G 対をそれぞれ置換するための ptpTALECD を発現するベクターを作製し、これをシロイヌナズナ Col-0 の核ゲノムにフローラルディップ法[13]により形質転換した。このベクターからは左右の ptpTALECD 分子が同時に発現し、それぞれがシロイヌナズナの効率的なゲノム編集に用いられる *RPS5A* プロモーター[14,15] の下で発現する（図 1a）。本研究では先行研究[8]と同様に、target window にある C:G 対が置換されることが予想された（図 1b）。形質転換体 T_1 世代（形質転換体当代 T_0 から得られた種子）の植物体の target window を含む領域を PCR で増幅後、その配列をサンガー法により解読したところ、3 つの target window それぞれで特定の C:G 対の置換が確認された。その中には、一細胞に数百から数千コピーあるとされる葉緑体ゲノム[16]の全てで塩基置換が生じた個体（ホモプラスミックな塩基置換を受けた個体）も存在した（図 1c-h）。次に、植物の発達過程における導入変異の安定性を調べるために、発芽低温処理終了 11 日後と 23 日後 (11 and 23 days after stratification, DAS) の少なくとも一方で置換された塩基に関して、導入変異の程度の違いを調べた。少なくとも一方の時点で置換が確認されたのべ 87 塩基のうち 34 個の塩基 (39.1%) は両時点でホモプラスミックに置換されていた（図 1i）。このことから、T_1 世代であっても、発達過程を通じて葉緑体ゲノムにホモプラスミックな塩基置換を保持しうることが示された。

2.2. オフターゲット変異

ゲノム編集では、標的以外の配列が意図せず改変されてしまうオフターゲット変異が問題となる。そこで、サンガー法によりホモプラスミックな塩基置換が検出された 17 個体の T_1 個体について、葉緑体ゲノムとミトコンドリアゲノムにおけ

SNPs information				REF	ALT	WT1	Target region: *16S rRNA*									
Position (bp)	Annotation		On/Off target				1397 CN 1	1397 CN 2	1397 CN 7	1397 CN 12	1397 CN 16	1397 NC 1	1397 NC 2	1397 NC 3	1397CN 8 T_1	1397CN 8 T_2
36,840	Large single copy	Intergenic	Off target	TC	TT	0.0	83.9	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
63,079	Large single copy	Intergenic	Off target	TC	TT	0.0	100.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0
83,505	Large single copy	*rpl22*	Off target	TC	TT	0.0	10.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
89,363	Inverted repeat 1	*ycf2*	Off target	TCC	TTT	0.0	13.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
89,364	Inverted repeat 1	*ycf2*	Off target	TC	TT	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
102,021	Inverted repeat 1	*16S rRNA*	Target C_{10}	AC	AT	0.0	0.0	1.9	0.2	0.3	0.0	99.9	55.5	100.0	0.0	0.0
102,026	Inverted repeat 1	*16S rRNA*	Target G_5	TC	TT	0.0	100.0	100.0	99.8	100.0	100.0	100.0	58.5	9.9	100.0	100.0
102,162	Inverted repeat 1	*16S rRNA*	Off target	TC	TT	0.0	100.0	1.2	0.0	0.1	0.0	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0
102,206	Inverted repeat 1	*16S rRNA*	Off target	TC	TT	0.0	0.0	0.6	0.0	19.2	0.0	0.2	0.5	0.3	0.0	0.0
102,254	Inverted repeat 1	*16S rRNA*	Off target	TC	TT	0.0	100.0	2.3	0.0	0.3	0.0	0.2	0.6	0.5	0.0	0.0
103,807	Inverted repeat 1	Intron	Off target	TC	TT	0.0	100.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0

10
0

Nakazato et al., 2021 Fig. 2a

表1. 葉緑体ゲノムのオフターゲット変異

Illumina short readで30,000リード以上読まれた箇所のうち、参照ゲノムと比べて10%以上異なった箇所を表にした。表は文献17より引用。

るオフターゲット変異を調べた。表 1 では、*16S rRNA* を標的とした 9 個体の結果を示した。1 個体 (1397CN 1) を除いて 50%を超える葉緑体ゲノム上のオフターゲット変異は検出されず（表 1）[17]、また調べたどの個体でもミトコンドリアゲノム上のオフターゲット変異は検出されなかった[17]。このことから、全体的に精緻な葉緑体ゲノム改変を達成できたことが明らかになった。

2.3. 導入変異の遺伝

導入変異が種子後代に遺伝するか調べるために、ホモプラスミックな塩基置換が生じた T_1 世代の形質転換体 7 個体の自殖後代 T_2 をジェノタイピングした。代表例 (*psbA* 1397NC 1) を図 2a に示した。その結果、親が持っていた葉緑体ゲノム上のホモプラスミックな変異が調べた全ての T_2 個体に遺伝しており、その中には核ゲノムの *ptpTALECD* 遺伝子が PCR で増幅されない、ヌルセグリガント（日本では遺伝子組換え生物として扱われない）である可能性の高い個体も存在することが分かった（図 2a）[17]。

2.4. *psbA* の開始コドンの変異体の解析

T_1 世代で光化学系 II の反応中心タンパク質 D1 をコードする *psbA* の開始コドンにホモプラスミックな変異 (ATG>ATA) が導入された個体が得られた（図 1h、導入変異のホモプラスミー性を全ゲノムシーケンスでも確認した[17]）。*psbA* の発

a

Line name			Seed GFP fluorescence	T-DNA (TALE PCR)*	SNP type of C_{10}	Phenotype on 7 DAS
psbA 1397NC 1	T_1		+	+	**T (homo)**	
	T_2	1	-	-	**T (homo)**	WT-like
		2	-	-	**T (homo)**	WT-like
		3	-	-	**T (homo)**	WT-like
		4	-	-	**T (homo)**	WT-like
		5	-	-	**T (homo)**	WT-like
		6	-	-	**T (homo)**	WT-like
		7	-	-	**T (homo)**	WT-like
		8	+	+	**T (homo)**	WT-like
		9	-	-	**T (homo)**	WT-like
		10	+	+	**T (homo)**	WT-like
		11	-	-	**T (homo)**	WT-like
		12	+	+	**T (homo)**	WT-like
		13	+	+	**T (homo)**	Variegated cotyledon
		14	-	-	**T (homo)**	WT-like
		15	-	-	**T (homo)**	WT-like
WT (Col-0)			-	-	**C**	

*The targeted region for T_1 plants was *GFP*.

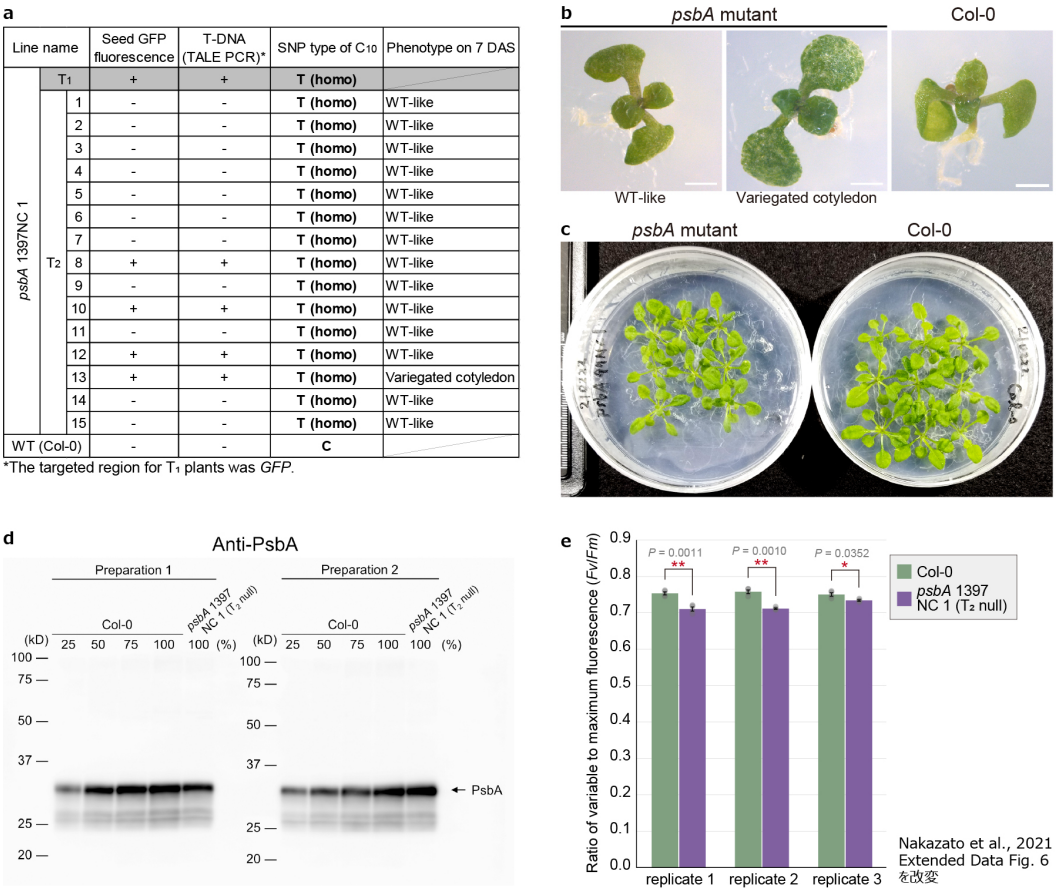


図2. *psbA* 1397NC 1の自殖後代T_2のジェノタイプと表現型
a, T_2個体のジェノタイプ。**b** & **c**, 種子GFP蛍光を呈さなかったT_2個体の写真。**b**, 7 DASにおける代表的な個体。斑入りの子葉 (variegated cotyledon) を持つ個体は1個体でのみ見られた。バーの長さは1 mm。**c**, 27 DASにおける植物の写真。プレートの直径は9 cm。 **d**, チラコイド膜タンパク質のイムノブロット解析（実験的反復は2）。いずれの反復でも同様の結果が得られた。各レーン上部の数値は泳動したタンパク質の相対量を表し、100は1 µgのクロロフィルに相当する。**e**, 光化学系IIの最大量子収率 (Fv/Fm)。各反復で各遺伝子型 4 個体のクロロフィル蛍光を計測した。エラーバーは標準誤差を表す。*P < 0.05 & **P < 0.01（両側ウェルチ検定）。図は文献17より引用。

現に異常を示す既知の変異体[18,19]と同様に、この変異体もショ糖の存在しない独立栄養条件で生育できないことが予想されたが、驚いたことにこの個体は独立栄養条件で生育し、種子形成も行った[17]。*psbA* の開始コドンの変異を受け継いだ種子後代 T_2 世代の内、ヌルセグリガントである可能性の高い個体は野生型と同様の生育を示した（図2a-c）。そこで、これらの個体における開始コドン ATG の ATA への変化が *psbA* の発現に与える影響を調べるために、光化学系 II の最大量子収率を表す *Fv*/*Fm* 値と D1 タンパク質の蓄積を調べた。驚いたことに、明暗 16/8 時間の恒温培養器条件下では変異個体の D1 タンパク質の蓄積量は野生型と同様で（図 2d）、*Fv*/*Fm* 値の低下は野生型と比べてわずか（しかし有意）であった（図2e）。変異型の ATA コドンから最も近い代替開始コドン候補（葉緑体ゲノムで開始コドンとして機能することが知られている ATG, GTG, TTG[20]）から翻訳が開始されると、大きさが 10%程度小さい D1 タンパク質の蓄積が予想される。しかし、そのようなタンパク質は見られなかったことから（図2d）、これらの代替開始コドン候補から翻訳が始まった可能性は棄却された。以上より、*psbA* の開始コドン ATG が ATA に変化すると、少なくとも本研究における生育条件下では、光化学系 II の機能がやや低下するものの、D1 タンパク質の蓄積を大きく損なうことはないことが示唆された。変異個体で D1 タンパク質の翻訳がどのコドンから始まっているのかについては、今後の解明が期待される。

3. 材料および方法

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) ecotype Col-0 および形質転換体を、22℃・長日条件（16 時間明期、8 時間暗期）で生育させた。成熟した Col-0 の核ゲノムに、ptpTALECD 発現ベクターをフローラルディップ法[13]にて形質転換した。得られた形質転換体の DNA を抽出し、標的領域を PCR で増幅後、サンガー法によって塩基配列を解読した。全ゲノム解析や *psbA* 変異体の解析実験を含め、その他の詳細な実験方法については文献[17]を参照されたい。

4. おわりに

本研究では、ptpTALECD 発現ベクターをシロイヌナズナの核ゲノムに形質転換することで、葉緑体ゲノムの特定の C:G 対を T:A 対に、T_1 世代でホモプラスミックに置換することに成功した。また、導入変異は種子後代に安定して遺伝し、その中には核ゲノムに導入した外来遺伝子を持たない可能性の高い個体も含まれた。本手法は原理的には、核ゲノムを形質転換可能な、シロイヌナズナ以外の植物種にも適用できるため、従来のパーティクルガンを用いた葉緑体形質転換法と比べて広範な植物種の葉緑体ゲノムを改変可能になることが期待される。また、未成熟終止コドンの創出、多様なアミノ酸置換、遺伝子発現調節領域や RNA の高次構造の改変が可能であるため、葉緑体ゲノムにコードされる遺伝子の基礎研究の迅速化に寄与しうる。

謝辞

本稿執筆の機会をくださりました本誌編集委員の皆様に御礼申し上げます。

Received Feb 21, 2022; Accepted Mar 23, 2022; Published Apr 30 2022.

参考文献

1. Svab, Z., Hajdukiewicz, P. & Maliga, P. Stable transformation of plastids in higher plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **87**, 8526–8530 (1990).
2. Yu, Y., Yu, P.-C., Chang, W.-J., Yu, K. & Lin, C.-S. Plastid Transformation: How Does it Work? Can it Be Applied to Crops? What Can it Offer? *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 4854 (2020).
3. Yu, Q., Lutz, K. A. & Maliga, P. Efficient plastid transformation in Arabidopsis. *Plant Physiol.* **175**, 186–193 (2017).
4. Ruf, S. *et al.* High-efficiency generation of fertile transplastomic Arabidopsis plants. *Nat. Plants* **5**, 282–289 (2019).
5. Rascón-Cruz, Q. *et al.* Plastid transformation: Advances and challenges for its implementation in agricultural crops. *Electron. J. Biotechnol.* (2021).

6. Piatek, A. A., Lenaghan, S. C. & Stewart Jr, C. N. Advanced editing of the nuclear and plastid genomes in plants. *Plant Sci.* **273**, 42–49 (2018).
7. Fuentes, P., Armarego-Marriott, T. & Bock, R. Plastid transformation and its application in metabolic engineering. *Curr. Opin. Biotechnol.* **49**, 10–15 (2018).
8. Mok, B. Y. *et al.* A bacterial cytidine deaminase toxin enables CRISPR-free mitochondrial base editing. *Nature* **583**, 631–637 (2020).
9. Mol, C. D. *et al.* Crystal structure of human uracil-DNA glycosylase in complex with a protein inhibitor: protein mimicry of DNA. *Cell* **82**, 701–708 (1995).
10. Sakuma, T. *et al.* Repeating pattern of non-RVD variations in DNA-binding modules enhances TALEN activity. *Sci. Rep.* **3**, 1–8 (2013).
11. Cerutti, H., Osman, M., Grandoni, P. & Jagendorf, A. T. A homolog of Escherichia coli RecA protein in plastids of higher plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **89**, 8068–8072 (1992).
12. Cao, J., Combs, C. & Jagendorf, A. T. The chloroplast-located homolog of bacterial DNA recombinase. *Plant Cell Physiol.* **38**, 1319–1325 (1997).
13. Clough, S. J. & Bent, A. F. Floral dip: a simplified method for Agrobacterium-mediated transformation of Arabidopsis thaliana. *Plant J.* **16**, 735–743 (1998).
14. Tsutsui, H. & Higashiyama, T. pKAMA-ITACHI vectors for highly efficient CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Physiol.* **58**, 46–56 (2017).
15. Arimura, S. *et al.* Targeted gene disruption of ATP synthases 6-1 and 6-2 in the mitochondrial genome of Arabidopsis thaliana by mitoTALENs. *Plant J.* **104**, 1459–1471 (2020).
16. Sakamoto, W. & Takami, T. Chloroplast DNA dynamics: copy number, quality control and degradation. *Plant Cell Physiol.* **59**, 1120–1127 (2018).
17. Nakazato, I. *et al.* Targeted base editing in the plastid genome of Arabidopsis thaliana. *Nat. Plants* **7**, 906–913 (2021).
18. Baena-González, E. *et al.* Deletion of the tobacco plastid psbA gene triggers an upregulation of the thylakoid-associated NAD (P) H dehydrogenase complex and the plastid terminal oxidase (PTOX). *Plant J.* **35**, 704–716 (2003).
19. Schult, K. *et al.* The nuclear-encoded factor HCF173 is involved in the initiation of translation of the psbA mRNA in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell* **19**, 1329–1346 (2007).
20. Zoschke, R. & Bock, R. Chloroplast translation: structural and functional organization, operational control, and regulation. *Plant Cell* **30**, 745–770 (2018).

Targeted base editing in the plastid genome of *Arabidopsis thaliana*

Issei Nakazato[1*], Miki Okuno[2,3], Hiroshi Yamamoto[4], Yoshiko Tamura[1], Takehiko Itoh[2], Hideki Takanashi[1], Nobuhiro Tsutsumi[1] and Shin-ichi Arimura[1]

[1] Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo

[2] School of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology

[3] School of Medicine, Kurume University

[4] Graduate School of Science, Kyoto University

研究紹介

珪藻の集光性色素タンパク質の分子系統と多様性‡

[1] 京都大学大学院農学研究科
[2] 基礎生物学研究所
[3] 岡山大学異分野基礎科学研究所
[4] 兵庫県立大学大学院理学研究科
[5] 京都大学大学院生命科学研究科
熊沢 穣 [1a]、 西出 浩世 [2]、長尾 遼 [3]、井上 (菓子野) 名津子 [4]、沈 建仁 [3]、
中野 雄司 [5]、内山 郁夫 [2]、菓子野 康浩 [4]、伊福 健太郎 [1b]

ツノケイソウ (*Chaetoceros gracilis*) は微細藻類である珪藻の一種であり、高い環境応答性と油脂生産性から産業利用が期待されている。加えて、光化学系超複合体の立体構造解析にも用いられるなど、基礎研究でも利用が進んでいる実用藻類である。珪藻は、水中の光環境に適応した集光性色素タンパク質として fucoxanthin chlorophyll *a*/*c*-binding protein (FCP) を持つ。本研究では、ツノケイソウの全 FCP 配列をドラフトゲノム及びトランスクリプトームから取得し、分子系統解析に基づいて 6 つのサブファミリーに分類した。その分類は、クライオ電子顕微鏡構造解析で明らかとなった光化学系超複合体における配置をよく反映しており、さらに紅藻を色素体の起源とする紅色系統二次共生藻類全体に適用可能であった。これら結果を元に、FCP サブファミリーの機能分担と多様化の過程を考察した。

1. はじめ に

珪藻とは

珪藻は光合成を行うストラメノパイルの 1 グループであり、ハプト藻、渦鞭毛藻と並んで現代の海洋において主要な一次生産者である [1]。褐色をしている珪藻やハプト藻の色素体は、共生した紅藻に由来するため、これらは紅色二次共生藻類と呼ばれる。しかし、珪藻は緑色系統由来の遺伝子配列も有しており、それらは緑色系統藻類との一時的な共生、あるいは水平伝播で獲得したと考えられている [2]。従って、珪藻のゲノムには、紅藻、緑藻、宿主 (ストラメノパイル) 由来の遺伝子が混在するため、各遺伝子ファミリーの由来と多様性、機能分化を考えるとき、その点に注意した分子系統解析を行うことが必要である。

珪藻の集光性色素タンパク質 FCP

真核光合成生物の多くの系統において、光合成の主要な周辺集光性色素タンパク質は 3 回膜貫通型の集光性色素タンパク質 (Light-harvesting complex; LHC) ファミリーである [3]。LHC は多様なクロロフィルとカロテノイドを結合し、生育する光環境に合わせた光捕集を行う。LHC の名称は、緑藻を含む緑色植物の集光性色素タンパク質の名称として使われることが多いが、用語として適切な使用ではないとの指摘もある [4]。本稿では以降、膜貫通型の集光性色素タンパク質全体を LHC と呼ぶ。そして珪藻やハプト藻の LHC はその構成色素からフコキサンチン-クロロフィル結合タンパク質 (Fucoxanthin Chlorophyll *a*/*c*-binding protein; FCP) と呼ばれる。

‡第 11 回日本光合成学会年会学会賞受賞論文
[a] 連絡先 E-mail: kumazawa.minoru.77z@st.kyoto-u.ac.jp
[b] 連絡先 E-mail: ifuku.kentaro.2m@kyoto-u.ac.jp

LHC (FCP) の分類について

珪藻や他の紅色系統藻類のゲノム配列が解読される以前から、LHC (FCP) は、アミノ酸配列上の相同性を有しつつも、紅色系統藻類と陸上植物や緑藻をはじめとする緑色系統で分子系統がはっきりと分離することが知られていた[4,5]。そしてモデル珪藻とされる中心目珪藻 *Thalassiosira pseudonana* と羽状目珪藻 *Phaeodactylum tricornutum* のゲノムがそれぞれ2004年と2008年に解読されたことで[6,7]、LHC の分子系統はより網羅的に議論されるようになった[8–10]。例として、Dittami *et al.* (2010) は、珪藻の LHC は Lhcr、Lhcf、Lhcx の 3 つのサブファミリーに分類されるとし[9]、Hoffman *et al.* (2011) はさらに多くのクレードに分類されることを示唆した[10]。しかしながら、いずれにおいてもゲノム情報からの配列情報が網羅的かつ完全ではないことが懸念された。そこで筆者らは、上記のモデル珪藻と同等レベルに遺伝子予測を精密化したツノケイソウドラフトゲノム v1.1 (ChaetoBase, https://chaetoceros.nibb.ac.jp) と、完全長 mRNA 配列を取得する Iso-Seq を用いたトランスクリプトームデータを利用して、ツノケイソウの全 LHC 配列を網羅的に取得することを試みた[11]。また、ロングリードシークエンサーを利用した、ドラフトゲノムを現在準備を進めており、今後、連続性と網羅性の両面で v1.1 より優れたツノケイソウのゲノム情報と遺伝子モデルの構築を目指している。

2. LHC 配列の網羅的な取得と分子系統解析

NCBI RefSeq データベースの *T. pseudonana* と *P. tricornutum* で FCP とアノテーションされている遺伝子 (それぞれ30配列、39配列) をクエリーとして BLASTP を行うことで、ツノケイソウのドラフトゲノムから 44 配列の LHC (FCP) が取得できた。さらに異なる 2 条件で培養したツノケイソウのロングリードトランスクリプトーム Iso-Seq から、さらにドラフトゲノムで網羅していない領域に存在すると考えられる 2 配列の LHC を取得した。

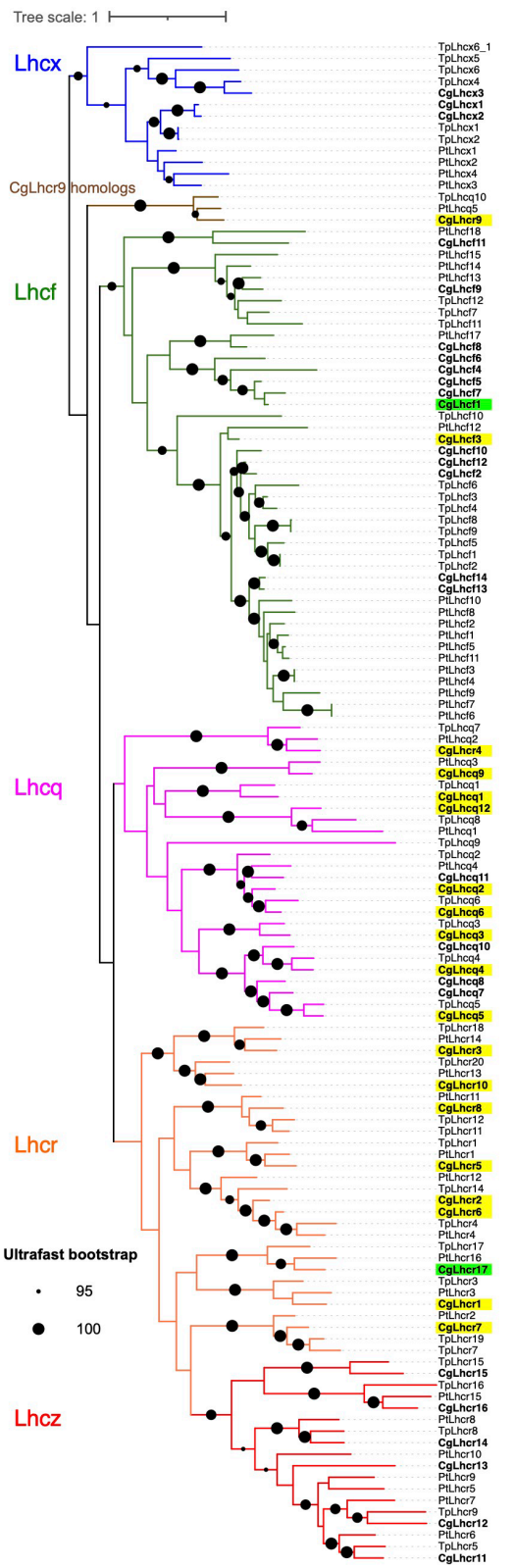


図1 珪藻集光性色素タンパク質LHC (FCP) の最尤系統樹
無根系統樹として表示。光化学系Iに同定された分子種は黄色、光化学系IIに同定された分子種は緑色でハイライトしてある。Cg, *C. gracilis* (太字); Tp, *T. pseudonana*; Pt, *P. tricornutum*。

その上で、得られた LHC 46 配列 (ツノケイソウ) と、既知の LHC 30 配列 (*T. pseudonana*)、39 配列 (*P. tricornutum*) の全てをクエリーとした BLASTP 検索によって、モデル珪藻 *T. pseudonana* と *P. tricornutum* のゲノムから、それぞれ 44 配列と 42 配列の LHC を取得し直して、RefSeq データベース上のアノテーションを補完した。

取得した全 LHC 配列を利用した分子系統解析の結果、珪藻の LHC は 6 つのサブファミリー、即ち Lhcf、Lhcr、Lhcz、Lhcx、Lhcq、CgLhcr9 ホモログに分けられることを認めた (**図 1**)。これに従ってモデル珪藻の LHC 遺伝子名を、一部は再命名するなどして新たに整理し直した。次節では各サブファミリーの特徴を整理する。

3. 各 LHC サブファミリーの特徴

Lhcf サブファミリー

Lhcf サブファミリーは最もタンパク質としての蓄積量が多いサブファミリーであり、ツノケイソウ光化学系 II (PSII) -FCPII 超複合体構造では、CgLhcf1 が主要な四量体の集光性色素タンパク質 LHC (FCP) を構成していた[12,13] (**図 2**)。そしてさらに高分解能の構造解析の結果、この主要な四量体が CgLhcf1 に加え、CgLhcf5-7 も含むヘテロ四量体であることが明らかとなっている (長尾ら、印刷中)。

中心目珪藻 *T. pseudonana* では、二次元電気泳動と質量分析から、TpLhcf1-6 及び TpLhcf7 と TpLhcf11 が光化学系 II-FCPII に同定されている[14]。LHC の分子系統樹では、Lhcf のクレードは珪藻種ごとに形成されていた (**図 1**)。例えば、ツノケイソウ PSII-FCPII で主要な分子種である CgLhcf1 及び CgLhcf4-6 が系統樹で一つのクレードを形成するのに対し、*T. pseudonana* でも光化学系 II-FCPII に検出された TpLhcf1-6 はツノケイソウとは異なる一つのクレードを形成している。このことは、珪藻は種内で Lhcf サブファミリーの分子種を多様化させることで、生育する光環境に PSII 周辺アンテナを適応させてきた可能性が考えられる。事実、クライオトモグラフィーとクライオ電子顕微鏡単粒子解析から、*T. pseudonana* の光化学系 II では周辺アンテナが四量体ではなく三量体を形成し、また、そのアンテナの集合様式には同種内でも多様性がありうることが報告されている[15]。

Lhcr/Lhcz サブファミリー

Lhcr はもともと紅藻型 (red algal-type) ということで名付けられたサブファミリーであり、紅色系統藻類に広く存在する。Lhcr サブファミリーは、ツノケイソウでは 9 分子種あり、そのうち 8 分子種は光化学系 I (PSI) -FCPI 超複合体構造に

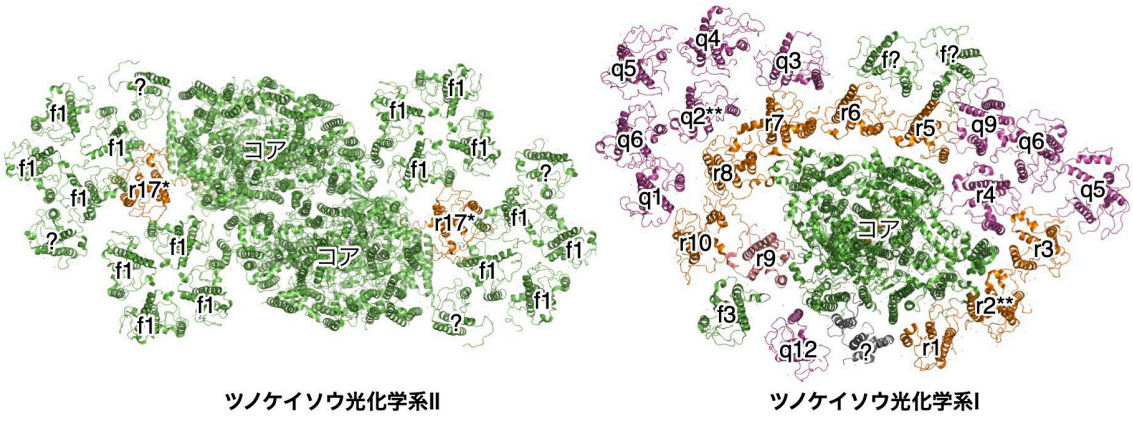


図2 ツノケイソウ光化学系-集光性色素タンパク質超複合体構造
(左) PSII-FCPII のクライオ電子顕微鏡構造 (PDB ID: 6J40)。PDB ID: 6J40で未同定であったCgLhcr17 (r17*) は Pi *et al.* (2019) に基づいて追加した[13]。(右) PSI-FCPIの同構造 (PDB ID: 6LY5)。PDB ID: 6LY5ではq2** (Lhcq2) はLhcq6と同定され、r2** (Lhcr2) は未同定であったため、Nagao *et al.* (2020) に基づいて改変及び追加した[19]。チラコイド膜をストロマ側から見た平面図として示す。図中のFCPの色は同定されたサブファミリーに対応しており、Lhcr (橙)、Lhcq (マゼンタ)、Lhcf (緑)、CgLhcr9 ホモログ (サーモンピンク) である。光化学系コアはいずれも緑で表示しており、PSII-FCPIIでは二量体、PSI-FCPIでは単量体である。

おいて、PSI と直接相互作用する内縁部の LHC (FCP) 分子として同定された (**図 2**)。興味深いことに、残りの 1 分子種である CgLhcr17 は PSII のコアに隣接する単量体に同定されている (**図 2**)。分子系統樹から、Lhcf サブファミリーとは全く異なり、各々の珪藻種が保存された Lhcr 遺伝子のセットを有することが明らかとなった (**図 1**)。この事実は、珪藻の進化の早い段階で PSI の周辺アンテナとしての Lhcr のセットが確立し、それが種を超えて保存されていることを示唆している。

また Lhcr はその内群か姉妹群に Lhcz を有することがあるが、必ずしもそのブートストラップ値は高くない。Lhcr が進化的に古いことを考えると、恐らくは Lhcz は Lhcr から生じたと考えられる。Lhcz の機能、遺伝子発現やタンパク質相互作用など、そのほとんどにおいて現時点で未知である。Lhcr と同様に遺伝子セットが珪藻間で保存されている傾向があることから、構造的に決まったセットを必要とする分子機能を有する可能性もあり、今後の解析が待たれる。

Lhcx サブファミリー

Lhcx は、エネルギー依存の非光化学的消光 (Non-photochemical quenching: NPQ) である qE を介した光保護に関与しており [16]、緑藻やコケで qE を担う Lhcsr サブファミリーと相同性がある [17,18]。ツノケイソウは Lhcx サブファミリーを 3 分子種有しているが、それはそれぞれ 6 分子種と 4 分子種を有するモデル珪藻 *T. pseudonana* と *P. tricornutum* に比べて少ない。また、いずれの Lhcx も光化学系-集光性色素タンパク質複合体の構造中には認められていない。Lhcx/Lhcsr の起源が紅色系統藻類と緑色系統藻類のいずれであるかは未だ議論されているが、いずれもが紅色系統二次共生藻類を起源とする説が現時点では有力である [9]。

Lhcq サブファミリー

Lhcq は筆者らが新しく命名した新規の LHC サブファミリーであり、珪藻に特徴的なサブファミリーである。従来の報告においては、Lhcr や Lhcf と混同されていた分子種やアノテーションされていなかった分子種の多くが、今回、Lhcq として再分類された。我々の分子系統樹では、中心目珪藻であるツノケイソウと *T. pseudonana* 間で保存された *Lhcq* 遺伝子セットがあり、それらの多くはツノケイソウ PSI-FCPI の中で、Lhcr サブファミリーからなる内縁部の外側にある外縁部の LHC (FCP) として同定された [19,20] (**図 1**)。ただし、Lhcq の中では例外的に、CgLhcr4 と CgLhcq12 は PSI コアに隣接する内縁部に結合している。また、過去の生化学的解析においても、*T. pseudonana* の光化学系 I に TpLhcq6 と TpLhcq9 を除く全ての Lhcq 分子種が検出されていた [21]。従って Lhcq についても構造的なセットが中心目珪藻で保存されている可能性がある。

CgLhcr4 は構造における配置から Lhcr4 と命名されたが、分子系統解析では Lhcq に含まれる。しかしながら、今後の LHC 分子種及び遺伝子名の命名は分子系統に基づくのが混乱を防ぐためにも良いと考えられる。また、LHC のうち、オルソロガスな遺伝子セットを有するサブファミリーでは、近縁種のオルソロガスな遺伝子名に準拠するのが合理的であると考える。

一方、羽状目珪藻 *P. tricornutum* は、中心目珪藻の 2 種間のように多くの *Lhcq* 遺伝子セットを共有せず、4 分子種のみを持つことが明らかとなった。その中の 2 分子種は、ツノケイソウ PSI コアに隣接した CgLhcr4 (Lhcq サブファミリー) と CgLhcq12 にオルソロガスな PtLhcq2 と PtLhcq1 であり、外縁部に同定された分子種にオルソロガスなのは PtLhcq3 (CgLhcq9 に類似) のみであった (**図 1、図 2**)。即ち、中心目珪藻の 2 種では、Lhcr に加えて Lhcq の遺伝子セットの多くが PSI を取り囲む LHC (FCP) の内縁部と外縁部の両方で保存される一方で、羽状目珪藻の *P. tricornutum* では Lhcr と内縁部の Lhcq のみが主に保存されていた。従って、珪藻の PSI のアンテナの構成は、PSI コアから離れるに従って、珪藻種、例えば中心目と羽状目によって、大きく異なる可能性がある。

Lhcq にはルーメン側に位置する C 末端のクロロフィル結合配列「PGSVP」があり、これは Lhcq

を特徴づける色素結合配列である。一部の Lhcf も類似した配列を有し、Lhcq と Lhcf の進化的な関連を示唆する。こうした色素結合配列は各サブファミリーを特徴づける要素ではあるが、現時点ではエネルギー移動における機能と関連付けた議論はできておらず、今後の課題である。

また、カロテノイド結合配列も Lhcq には特徴がある。LHC の 3 回膜貫通ヘリックスのうち、α1 と α3 は相同性を有しており、そのそれぞれストロマ側に位置する N 末端側にはカロテノイド結合配列がある [22,23]。緑藻や紅藻 LHC に共通した「祖先型配列」は GFDPLG であり、珪藻では Lhcr がそのカロテノイド結合配列を有し、また、類似した配列が Lhcq の α3 の N 末端側に保存されている (**図 3**)。一方で、Lhcq と Lhcf の α1 の N 末端側は、共通してフェニルアラニン残基が一つ追加された配列を有し、さらに Lhcf の α3 の N 末端側では特にアスパラギン酸残基並びが大きく異なる配列となっていた。このことから Lhcq はカロテノイド結合配列においては Lhcr と Lhcf の中間的な特徴を有しており、祖先的な Lhcr から Lhcf が生じる中間段階の分子である可能性が考えられる。

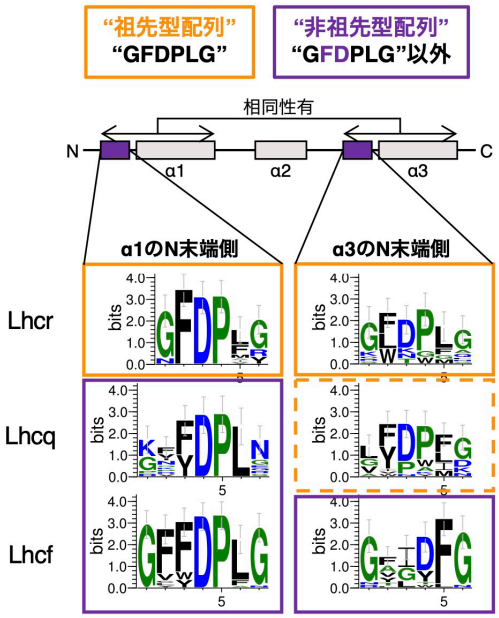


図3 LHCのドメイン構造とカロテノイド結合コンセンサス配列のロゴ表示

CgLhcr9 ホモログサブファミリー

CgLhcr9 は系統樹では独立したクレードを有し、他の珪藻種で基本的に 1 分子種のオルソログが存在する (**図 1**)。*P. tricornutum* のオルソログである PtLhcq5 は、未命名であったことから、質量分析による報告では Pt17531 (JGI Phatr2 ID に由来する) と呼ばれることもあった [e.g. 24]。PSI-FCPI 構造において、CgLhcr9 は PSI コアと直接相互作用する位置に同定されたが、他の LHC 分子種とはコアに対して異なる表面で結合しており、分子系統解析でも独立した系統である (**図 2**)。従って、CgLhcr9 ホモログは、珪藻で広く共通した独自の役割を持つ可能性も考えられる。

4. 紅色系統二次共生藻類における LHC サブファミリーの分布

珪藻や褐藻などの光合成性ストラメノパイル (不等毛藻類) や、ハプト藻など、紅藻類を起源に持つ紅色系統二次共生藻類の多くでは、共通して膜貫通型の LHC が集光性色素タンパク質として利用されている。そこで、珪藻で行なった網羅的な LHC 配列の探索と分子系統解析を、他の紅藻類と紅色系統二次共生藻類にも適用した。

これまで知られていたように紅藻は Lhcr サブファミリーのみを有していた [8–10]。一方で、褐藻やハプト藻は珪藻と同じ 6 種のサブファミリーを有していることが新たにわかった。また、褐藻やハプト藻ではツノケイソウ PSI のコアに隣接する CgLhcr4 や CgLhcr9 にオルソロガスな分子種が保存されていた。さらに Lhcr についても不完全ではあるものの、オルソロガスな遺伝子セットが存在した。褐藻ではこれに加え、珪藻 PSII-FCPII で中心部に位置する単量体として同定された CgLhcr17 にもオルソロガスな分子種を有していた。ただし、クリプト藻 *Guillardia theta* は Lhcr と Lhcz のみを有しており、これらは珪藻の LHC 分子種とオルソロガスな関係にはなかった。従って、クリプト藻を除く、紅色系統二次共生藻類全体で広く、PSI に隣接する集光アンテナの構成が保存されていることが明らかとなった。

紅色系統の進化と共生の過程にはまだ不明な点が多くあるものの、本研究によって、クリプト

藻を除く紅色系統二次共生藻類において、集光性色素タンパク質は、紅藻が有している Lhcr サブファミリーから、共生過程を通して Lhcf、Lhcz、Lhcq、CgLhcr9 ホモログサブファミリーに多様化したと推測される。それらの光化学系-集光性色素タンパク質超複合体における配置から、まず Lhcr のセットが PSI の周辺アンテナとして整備され、新たなサブファミリーである Lhcq、及び CgLhcr9 ホモログによって、PSI のアンテナサイズは紅藻から大幅に拡大したと考えられる。さらに、紅色系統二次共生藻類は、PSII の集光アンテナとして、紅藻にはない膜貫通型 LHC として、Lhcf サブファミリーをそれぞれの種内で発達させた。Lhcf サブファミリーは、分子系統や色素結合モチーフの類似性から Lhcq サブファミリーの派生型である可能性が高く、Lhcr から Lhcq、Lhcq から Lhcf への連続的なサブファミリーの進化が両光化学系における周辺アンテナの多様化をもたらしたと推測される。

5. おわりに

紅色系統藻類の遺伝子は、近年のゲノム情報の加速度的な増加に伴って、種を跨いだ網羅的な比較解析が可能になってきている。本研究もそうした流れの上にあり、遺伝子情報の網羅的な取得と分子系統解析によって、新しい集光性色素タンパク質の配列とサブファミリーの存在を明らかにできた。こうした集光性色素タンパク質の多様化は、光環境適応を通じて、珪藻やハプト藻が海洋において主要な藻類となった一因と考えられる。緑藻や陸上植物と比較して、個々の珪藻 LHC (FCP) の分子機能に関してはまだまだ未解明な点が多く、今後、個々のさらなる分子機能解析を行なっていきたい。

6. 謝辞

本研究をまとめるにあたり、JST ALCA (JPMJAL1105、JPMJAL1608 [K. I. and Y. K.])、JSPS 科学研究費 (JP20H03116 [K.I.]、JP20K06528、JP21K19085、JP20H02914 [R.N.]、and JP17H06433 [J.R.S.])、基礎生物学研究所共同利用研究 (no. 21-306 [K.I.、Y.K.、I.U.]) 、日本化学会 吉野彰研究助成（K. I.）の助成を頂いた。

Received Feb 28, 2022; Accepted Mar 28, 2022; Published Apr 30 2022.

参考文献

1. Pierella Karlusich, J. J., Ibarbalz, F. M. & Bowler, C. Phytoplankton in the Tara Ocean. *Annu. Rev. Mar. Sci.* vol. 12 233–265 (2020).
2. Dorrell, R. G. *et al.* Chimeric origins of ochrophytes and haptophytes revealed through an ancient plastid proteome. *Elife* **6**, 1–45 (2017).
3. Büchel, C. Evolution and function of light harvesting proteins. *J. Plant Physiol.* **172**, 62–75 (2015).
4. Green, B. R. & Durnford, D. G. The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **47**, 685–714 (1996).
5. Durnford, D. G. *et al.* A phylogenetic assessment of the eukaryotic light-harvesting antenna proteins, with implications for plastid evolution. *J. Mol. Evol.* **48**, 59–68 (1999).
6. Armbrust, E. V. *et al.* The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: Ecology, evolution, and metabolism. *Science* **306**, 79–86 (2004).
7. Bowler, C. *et al.* The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes. *Nature* **456**, 239–244 (2008).
8. Koziol, A. G. *et al.* Tracing the evolution of the light-harvesting antennae in chlorophyll *a*/*b*-containing organisms. *Plant Physiol.* **143**, 1802–1816 (2007).
9. Dittami, S. M., Michel, G., Collén, J., Boyen, C. & Tonon, T. Chlorophyll-binding proteins revisited - A multigenic family of light-harvesting and stress proteins from a brown algal perspective. *BMC Evol. Biol.* **10**, 365 (2010).
10. Hoffman, G. E., Puerta, M. V. S. & Delwiche, C. F. Evolution of light-harvesting complex proteins from Chl *c*-containing algae. *BMC Evol. Biol.* **11**, 101 (2011).
11. Kumazawa, M. *et al.* Molecular phylogeny of fucoxanthin-chlorophyll *a*/*c* proteins from *Chaetoceros gracilis* and Lhcq/Lhcf diversity. *Physiol. Plant.* **174**, e13598 (2022).

12. Nagao, R. *et al.* Structural basis for energy harvesting and dissipation in a diatom PSII–FCPII supercomplex. *Nat. Plants* **5**, 890–901 (2019).
13. Pi, X. *et al.* The pigment-protein network of a diatom photosystem II–light-harvesting antenna supercomplex. *Science* **365**, (2019).
14. Calvaruso, C., Rokka, A., Aro, E. M. & Büchel, C. Specific Lhc proteins are bound to PSI or PSII supercomplexes in the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Plant Physiol.* **183**, 67–79 (2020).
15. Arshad, R., Calvaruso, C., Boekema, E. J., Büchel, C. & Kouřil, R. Revealing the architecture of the photosynthetic apparatus in the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Plant Physiol.* **186**, 2124–2136 (2021).
16. Buck, J. M. *et al.* Lhcx proteins provide photoprotection via thermal dissipation of absorbed light in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Nat. Commun.* **10**, (2019).
17. Giovagnetti, V. & Ruban, A. V. The evolution of the photoprotective antenna proteins in oxygenic photosynthetic eukaryotes. *Biochem. Soc. Trans.* **46**, 1263–1277 (2018).
18. Tokutsu, R. & Minagawa, J. Energy-dissipative supercomplex of photosystem II associated with LHCSR3 in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **110**, 10016–10021 (2013).
19. Nagao, R. *et al.* Structural basis for assembly and function of a diatom photosystem I-light-harvesting supercomplex. *Nat. Commun.* **11**, (2020).
20. Xu, C. *et al.* Structural basis for energy transfer in a huge diatom PSI-FCPI supercomplex. *Nat. Commun.* **11**, 1–12 (2020).
21. Ikeda, Y. *et al.* Two types of fucoxanthin-chlorophyll-binding proteins I tightly bound to the photosystem I core complex in marine centric diatoms. *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **1827**, 529–539 (2013).
22. Kühlbrandt, W., Wang, D. N. & Fujiyoshi, Y. Atomic model of plant light-harvesting complex by electron crystallography. *Nature* **367**, 614–621 (1994).
23. Bassi, R., Croce, R., Cugini, D. & Sandonà, D. Mutational analysis of a higher plant antenna protein provides identification of chromophores bound into multiple sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 10056–10061 (1999).
24. Grouneva, I., Rokka, A. & Aro, E. M. The thylakoid membrane proteome of two marine diatoms outlines both diatom-specific and species-specific features of the photosynthetic machinery. *J. Proteome Res.* **10**, 5338–5353 (2011).

Molecular phylogeny and diversity of fucoxanthin chlorophyll *a*/*c* -binding proteins in the diatom light harvesting complex

Minoru Kumazawa[1], Hiroyo Nishide[2], Ryo Nagao[3], Natsuko Inoue-Kashino [4], Jian-Ren Shen[3], Takeshi Nakano[5], Ikuo Uchiyama[2], Yasuhiro Kashino[4], Kentaro Ifuku[1]

[1]Graduate School of Agriculture, Kyoto University

[2]National Institute for Basic Biology

[3]Research Institute for Interdisciplinary Science, Okayama University

[4]Graduate School of Science, University of Hyogo

[5]Graduate School of Biostudies, Kyoto University

解説特集

盗葉緑体現象

Editor:　高橋 俊一（琉球大）、高林 厚史（**北海道大**）

序文
高橋 俊一（琉球大）、高林 厚史（**北海道大**）　26

解説　盗葉緑体性渦鞭毛藻類ヌスットディニウムから探る細胞内共生の進化
大沼 亮（神戸大）　27

解説　ウミウシは遺伝子水平伝播無しで、餌由来の葉緑体を利用し光合成をする
前田 太郎（慶應義塾大）　38

解説特集

序文 ‡

[1]琉球大学 熱帯生物圏研究センター
[2]北海道大学 低温科学研究所
高橋 俊一[1]、高林 厚史[2]

我々ヒトにとって、捕食は生きる上で不可欠で、生き続けるには捕食というしがらみから決して逃れることはできない。だからこそ、無限の光エネルギーを利用して栄養を作る「光合成」は非常に魅力的に見える。では、ヒトを含む従属栄養生物は決して光合成能力を持つことができないかというと、そうではない。葉緑体獲得の進化を見ればわかるように、従属栄養生物が光合成生物を共生させ、オルガネラ化し、光合成能力を獲得するということは何度も起こっている。また、現存する従属栄養生物の中には、光合成生物を細胞内に取り込み維持することで（光共生）、もしくは葉緑体を細胞内に取り込み維持することで（盗葉緑体）、擬似的に光合成能力をもつものも少なくない。光共生や盗葉緑体の研究の歴史は長く、この研究分野への関心は高い。最近は、分子レベルでの研究も進められており、それらの進化や生理機能の理解が飛躍的に進んでいる。

本解説特集では、従属栄養生物が光合成生物の葉緑体を細胞内に取り込むことで光合成生物化する「盗葉緑体」にスポットを当て、二つの解説記事を掲載する。一つは、「盗葉緑体性渦鞭毛藻類ヌスットデニウムから探る細胞内共生の進化」というタイトルで大沼亮氏（神戸大学）に執筆いただいた。渦鞭毛虫 *Nusuttodinium*（ヌスットデニウム）の細胞内に取り込まれたクリプト藻の葉緑体がどう維持されるのかについて、葉緑体と一緒に取り込まれた核に着目した研究成果を中心に解説いただいた。もう一つは、「ウミウシは遺伝子水平伝播なしで、餌由来の葉緑体を利用し光合成する」というタイトルで前田太郎氏（慶応大学）に執筆いただいた。ウミウシに取り込まれた葉緑体は、長期に渡り光合成活性が維持されるが、それが藻類からの遺伝子水平伝播なしでなされているという研究成果を中心に解説いただいた。今回の二つの記事を読むと、「盗葉緑体」といっても、渦鞭毛虫とウミウシでは全く違った戦略で取り込んだ葉緑体の光合成が維持されていることがわかる。どちらも今後の研究のさらなる発展が予想され、「盗葉緑体の光合成」という新たな光合成研究分野への発展が期待される。

最後に、本特集の編集にあたっては、お忙しい中、執筆者、査読者の方々にはたいへんお世話になった。この場を借りてお礼申し上げる。

‡解説特集「盗葉緑体現象」

*連絡先 E-mail: tshun@lab.u-ryukyu.ac.jp

解説

盗葉緑体性渦鞭毛藻類ヌスットディニウムから探る細胞内共生の進化‡

神戸大学内海域環境教育研究センター
大沼 亮*

藻類はあらゆる真核生物の系統に多系統的に存在するが、これは細胞内共生によって藻類ではなかった生物が藻類を取り込み、やがては取り込んだ藻類を共生体として恒久的に維持する機構を得て自らも光合成生物になるという、いわば「藻類化」の進化が複数回起こったためである。しかしながら、その藻類化のプロセスには未だ解明されていないことが多い。我々は、藻類を取り込んでその葉緑体を一時的に使う「盗葉緑体」現象を示す渦鞭毛虫 *Nusuttodinium*（ヌスットディニウム）が共生体を取り込んでから恒久的に維持するまでのプロセス解明の鍵になると考え、本生物をモデルとした研究を行っている。本稿では我々が 2020 年に報告した論文を中心に、*Nusuttodinium* 属の進化、盗葉緑体の形態変化、共生藻の遺伝子発現等を解説し、藻類化の進化プロセスを議論したい。

1. はじめ に－藻類の誕生と系統

「藻類」とは酸素発生型光合成をする生物うち、コケ類、シダ類、種子植物を除いたものの総称で、分類学的には雑多な生物の集まりである。藻類は、真核生物のあらゆる系統に存在するが、互いに近縁ではない赤の他人で、藻類は多系統である。系統的に遠く離れたもの同士の集まりであるにも関わらず、藻類の細胞には葉緑体を備えて酸素発生型光合成をするという共通点がある。葉緑体という共通した細胞小器官を持つのは、もともと葉緑体を持っていなかった生物が酸素発生型光合成をする藻類を取り込んで自らも「藻類化」するという細胞内共生が、独立に何度も起こったためである[1]。陸上植物や緑藻類、紅藻類の葉緑体はその祖先でシアノバクテリアを細胞内に共生したこと（一次共生）に起源すると知られているが、他の藻類は一次共生によって葉緑体を得た緑藻、または紅藻を細胞内共生させることによって葉緑体を得た生物である[1]。多くの紅藻由来の葉緑体を持つ藻類においては、紅藻を直接取り込んで葉緑体としたのか、または紅藻由来の葉緑体を持つ藻類をさらに取り込んで間接的に紅藻由来の葉緑体を獲得したのか、現在の紅藻葉緑体が辿った進化史には諸説あり議論が続いているが[2]、真核生物と真核藻類の細胞内共生によっても藻類化が起こったことは通説となっている。藻類における葉緑体獲得の進化については、本誌 90 号の神川博士の記事に詳しく解説されているため、詳しくはそちらを参照されたい[3]。細胞内共生は真核生物のあらゆる系統に「藻類」を誕生させる進化の原動力であるが、果たしてどのように従属栄養性の宿主細胞と光合成性生物が共生関係を結び、1 つの生物として成立するのかというプロセスについては不明な点が多い。この細胞内共生のプロセスを解明する上で、しばしば議論される現象に、盗葉緑体現象が挙げられる[4,5]。盗葉緑体 (kleptoplast、kleptochloroplast、または kleptoplastid) とは、非光合成性の生物が、食作用によって他の光合成生物を細胞内に取り込み、その葉緑体を一時的に維持する現象である[6]。しかしながら、その共生関係は一時的なもので、やがては取り込まれた葉緑体は消化される。盗葉緑体性生物は真核

‡解説特集「盗葉緑体現象」

*連絡先 E-mail: ryoonuma@harbor.kobe-u.ac.jp

生物の系統に広く散在しており、繊毛虫類、渦鞭毛虫類、有孔虫類、ウミウシ類、扁形動物類などで報告されている[5]。私は、藻類の細胞内共生の進化に興味を持ち、一時的な細胞内共生関係を結ぶ盗葉緑体性渦鞭毛虫類を用いて研究を行ってきた（図 1）。ここでは特に *Nusuttodinium* 属渦鞭毛虫類の盗葉緑体現象について、その進化史と我々が行ってきた研究について解説する。

2. *Nusuttodinium* 属渦鞭毛虫類の進化史

渦鞭毛類（または渦鞭毛虫類）は水圏に広く生息する単細胞性の生物である。原生の渦鞭毛藻類は約半数が光合成性で、多くの渦鞭毛藻葉緑体は紅藻由来であり、アンテナ色素としてペリディニンとよばれるカロテノイドを持つことで特徴づけられる[7]。一方で、渦鞭毛藻類の約半数はその多様化の過程で光合成能を喪失した従属栄養性種であり[7]、非光合成性種はしばしば「渦鞭毛虫」ともよばれる。私が研究材料として用いている *Nusuttodinium* 属は 2014 年に新設された属であり[8]、現在は 7 種が記載されている[9]。名前の「*Nusutto-*」は読んで字のごとく日本語の盗人に由来しており、本属の種がクリプト藻という単細胞性藻類の葉緑体を「盗んで」使うことに冠されたものである。前述の通り、この *Nusuttodinium* 属渦鞭毛藻類も自前の光合成能は持たないため、本稿では本属を便宜的に「渦鞭毛虫」と表す。

まずは、本属渦鞭毛虫類の我々の系統分類学的研究から明らかとなった本属の進化史を解説する。私は北海道大学大学院理学院生物多様性生物学講座で堀口健雄教授の指導のもと、本格的に本属渦鞭毛虫類の研究を開始した。我々は本属渦鞭毛虫類の安定的な培養株確立とさらなる多様性の解明のため、野外から渦鞭毛虫類を採集し、系統分類学的研究を行った。この結果、後述の実験観察に用いた培養株を確立したほか、*Nusuttodinium* 属渦鞭毛虫類に形態的に類似した従属栄養性渦鞭毛虫類を発見、記載した[9]。野外から採集した *Nusuttodinium* 属渦鞭毛虫類は通常、盗葉緑体を持った状態で採集されることが通常であるが、我々が記載した種の細胞は採集直後でも無色であり、クリプト藻を与えても取り込んだ後、1 日程度で消化してしまうことがわかった。この渦鞭毛藻は形態的、系統的に新属新種とすることが妥当であると判断し、*Pellucidodinium psammophilum* と命名し、記載を行った[9]。図 2 に示す通り、*Nusuttodinium* 属渦鞭毛虫類は典型的なペリディニン型の葉緑体を持つ種、及び従属栄養性の *P. psammophilum* と単系統になる（図 2）。よって *Nusuttodinium* 属の進化史には 2 通りの進化史が考えられる。本属の祖先種は典型的な葉緑

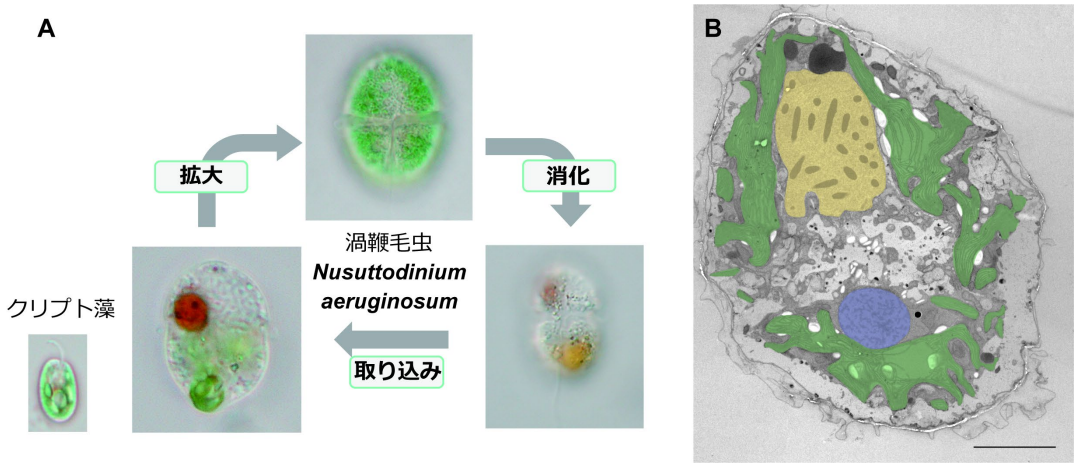


図1 *Nusuttodinium aeruginosum*の盗葉緑体現象
(A) *Nusuttodinium aeruginosum*はクリプト藻を取り込み、その葉緑体を一時的に細胞内に保持するが、やがては消化する。(B) *N. aeruginosum*の透過型電子顕微鏡画像。緑、青、黄で強調した部分はそれぞれ盗葉緑体、クリプト藻核、渦鞭毛虫核を示す。スケールバーは5 μmを示す。

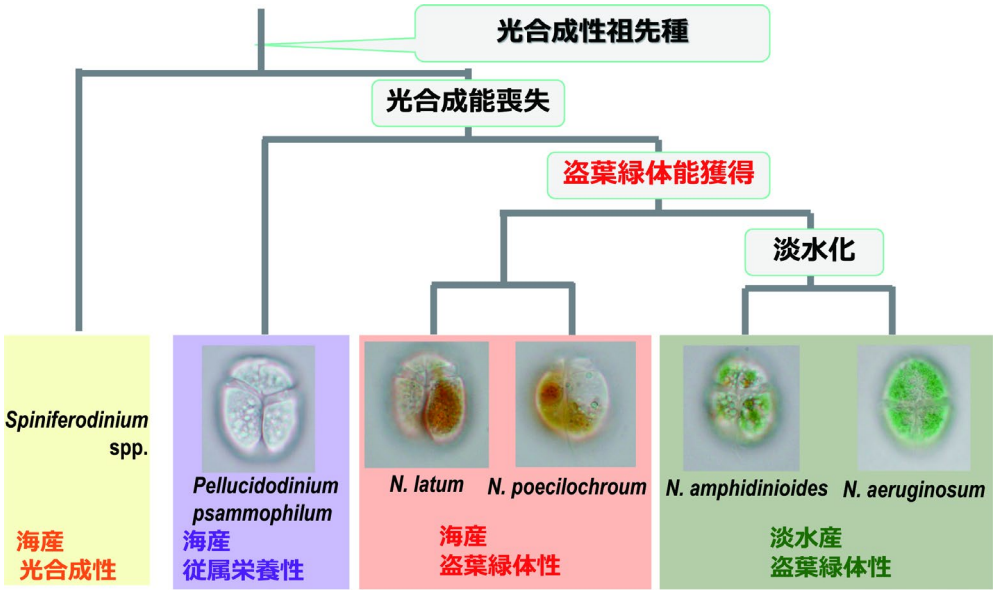


図2 *Nusuttodinium*属渦鞭毛藻類の系統樹の概略
*Nusuttodinium*属渦鞭毛虫類は典型的なペリディニン型葉緑体を持つ光合成種、及び従属栄養性種と姉妹群を形成する。進化のシナリオを再節約的に考えると、*Nusuttodinium*属の祖先は光合成性で、*P. psammophilum*と*Nusuttodinium*の共通祖先に分岐したあとに光合成能を喪失し、*Nusuttodinium*属の祖先で盗葉緑体能を獲得したと考えられる[9]。

体を持つ光合成性種であったと考えることは共通するが、最も再節約的に考えると、従属栄養性姉妹種との共通祖先で光合成を喪失した後、*Nusuttodinium* 属の共通祖先で盗葉緑体能を獲得したと考えられる（図 2）[9]。また、ペリディニン型葉緑体による光合成能の喪失が *P. psammophilum* の祖先と、*Nusuttodinium* 属の祖先で独立して起こったとも考えられるが、いずれにしても *Nusuttodinium* 属の共通祖先はペリディニン型葉緑体を保持し、その光合成能を喪失したと考えられる。*Nusuttodinium* 属はクリプト藻を取り込んで盗葉緑体とすることは共通しているが、その現象には属内でバリエーションがあることが知られている。海産の *N. latum* や *N. poecilochroum* はクリプト藻であれば幅広い種を取り込むことができる[8,10]。一方で、淡水産種 *N. acidotum* や *N. aeruginosum* の細胞はもっぱら青緑色を呈し、*N. acidotum* では *Cryptomonas* 属のクリプト藻を与えても取り込まず[11]、これら 2 種では青緑色をした *Chroomonas* 属のクリプト藻を特異的に盗葉緑体として利用することが知られている[11,12]。

3. 盗葉緑体の形態変化と種間比較

Nusuttodinium 属渦鞭毛虫類は、1980 年代から透過型電子顕微鏡による細胞内微細構造の観察が盛んに行われ、葉緑体の由来はクリプト藻であること、*N. acidotum*、*N. aeruginosum* の葉緑体はクリプト藻のものよりも著しく大きいことがわかっていた[13,14]。Schnepf らは、細胞によってクリプト藻の核があったりなかったりすることに着目し、この葉緑体はクリプト藻から盗んだものであろうと結論付けている[13]。しかしながら、クリプト藻が渦鞭毛虫に取り込まれてからどのように変化していくのか、すなわち、なぜ渦鞭毛虫細胞内の葉緑体が著しく大きいのか、なぜ細胞によってクリプト藻核の有無に差があるのかは不明であった。先行研究では野外から採集した渦鞭毛虫をそのまま用いていたため、経時的な変化を観察した例が少なかったことが要因であると思われる。そこで我々は、上記で確立した淡水産種 *N. aeruginosum* と海産種 *N. poecilochroum* の培養株を用いて、クリプト藻の取り込み直後からの形態変化を透過型電子顕微鏡で観察した[15]。*Nusuttodinium* 属渦鞭毛藻類を餌（クリプト藻）な

しでしばらく培養すると葉緑体を消化して無色の細胞になる。このような細胞に再度クリプト藻を取り込ませ、経過時間ごとにクリプト藻の細胞の変化を観察した。*Nusuttodinium* 属薄鞭毛虫類はクリプト藻の葉緑体の他に、クリプト藻核、ミトコンドリア、ゴルジ体、エジェクトソームとよばれる射出装置を取り込む。光学顕微鏡下ではクリプト藻をまるごと取り込んでいるように見えるが、鞭毛や細胞外皮の構造は電子顕微鏡では観察されないため、取り込みのプロセスで喪失すると考えられる。海産種 *N. poecilochroum* では、取り込み後 10 分程度で葉緑体の周囲に配置されたミトコンドリア、エジェクトソームを細胞質ごと食胞に移して消化が始まる。さらに 4-6 時間でクリプト藻核も食胞に移され、葉緑体のみが細胞質に残されることがわかった。本種では取り込み後から盗葉緑体の変形が起こるが、サイズの変化は見られなかった（図 3A）[15]。対して淡水産種 *N. aeruginosum* では、ミトコンドリア、クリプト藻核はクリプト藻細胞質ごと残存する。さらに観察を続けると約 72 時間後には渦鞭毛虫の細胞全体に葉緑体が拡大され、最終的に盗葉緑体のサイズは元のクリプト藻の葉緑体と比べて 20 倍以上になることが明らかとなった（図 3A）。拡大された葉緑体内部にはチラコイドが葉緑体全体に渡って密に配向しており、葉緑体の拡大に伴ってチラコイドも複製していると考えられる。取り込み後 120-144 時間程度で渦鞭毛虫は最初の細胞分裂をするが、その際に拡大した盗葉緑体も同調分裂させ、両方の娘細胞に受け継ぐことが観察された（図 3B）[16]。しかしながら、クリプト藻核では分裂が起こらず、片方の娘細胞に受け継がれるた

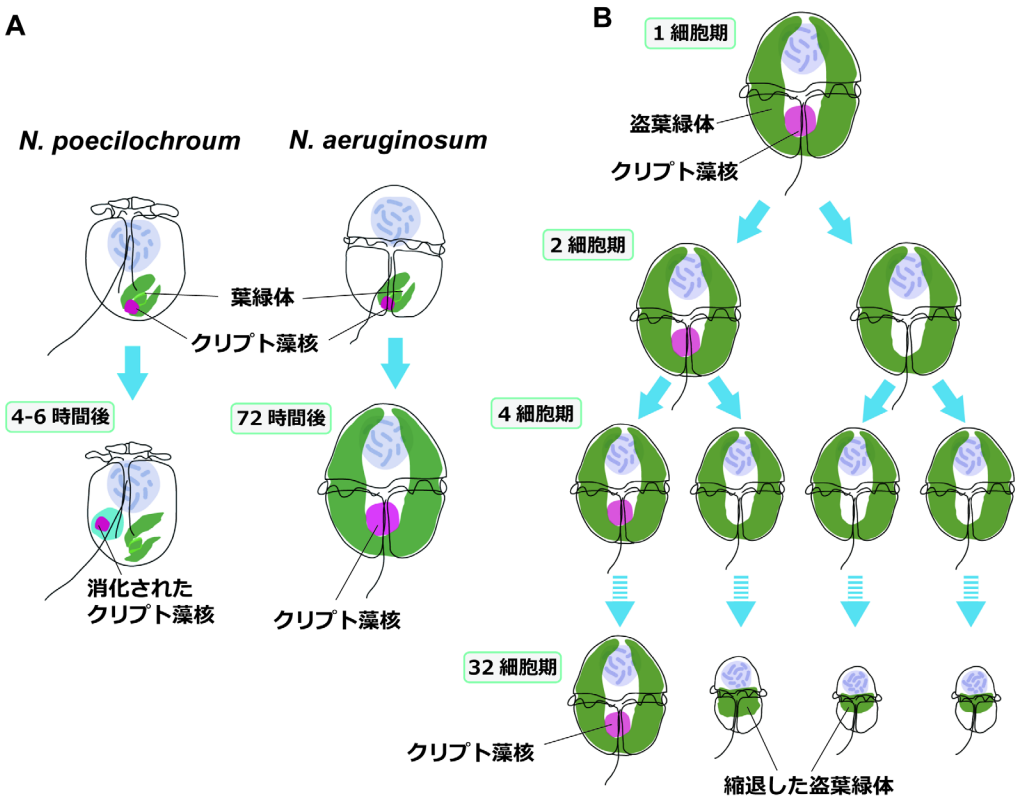


図3 *Nusuttodinium poecilochroum* と *N. aeruginosum* の盗葉緑体の形態変化の概略
(A) *Nusuttodinium spp.*はクリプト藻をまるごと取り込むが、*N. poecilochroum*はクリプト藻核を早期に消化する一方、*N. aeruginosum*はクリプト藻核を保持し、盗葉緑体を拡大する。論文中では*N. poecilochroum*にオレンジ色のクリプト藻*Rhodomonas* sp.を餌として与えているが、後に*Chroomonas* sp.を与えても同様の結果になることを確かめている。(B) *N. aeruginosum*のクリプト藻オルガネラの分配。盗葉緑体は同調分裂し、両方の娘細胞に受け継がれるが、クリプト藻核は分裂せず、片方の娘細胞のみに受け継がれる。クリプト藻核を失った細胞は盗葉緑体が縮退する。図はOnuma & Horiguchi (2013, 2015)[15,16]をもとに作図した。

め、結果としてクリプト藻核を持つ細胞と持たない細胞ができることが明らかとなった。先行研究で観察されていたクリプト藻核の有無の差はこのクリプト藻核の分裂を伴わない細胞分裂様式に起因する可能性が高い。さらに、クリプト藻 1 細胞を取り込ませた渦鞭毛虫の細胞分裂を追跡し、クリプト藻核の行方と盗葉緑体のサイズを観察すると、やはりクリプト藻核は片方の娘細胞のみに受け継がれて行き、分裂が起こらないことが確かめられた。このクリプト藻核を受け継いだ細胞が最も大きな盗葉緑体を持つのに対し、クリプト藻核の喪失が早ければ早いほど盗葉緑体が縮小することが明らかとなった（図 3B）。前述の海産種 *N. poecilochroum* の結果と併せて考えると、盗葉緑体を拡大するためにはクリプト藻核を維持することが必要で、*N. aeruginosum* ではクリプト藻核を失うと拡大を伴わない分裂を繰り返すために盗葉緑体が縮小すると考えられた。これらの形態観察によって盗葉緑体の（サイズの）維持にはクリプト藻核にコードされる遺伝子群が働いている可能性があることが強く示唆された [16]。盗葉緑体の維持期間は *N. poecilochroum* で 1 週間程度と比較して、*N. aeruginosum* で 1 ヶ月以上と非常に長い。葉緑体を取り込んで一定期間維持する上記の 2 種は、他の生物を取り込んですぐに消化する捕食性の段階とは異なり、葉緑体の消化が抑制されている可能性が高い。加えて、永続的な共生関係にある生物に見られる宿主と共生体の同調分裂、及びのその後の細胞成長が、*N. aeruginosum* でも起こることが確かめられた。これらのことから、*N. poecilochroum* は比較的初期の共生関係を示す生物で、*N. aeruginosum* は永続的な共生関係に近い進化段階であると考えることもできる。

4. *Nusuttodinium aeruginosum* の盗核現象

私は国立遺伝学研究所の宮城島進也教授の研究室に博士研究員として在籍していた当時、種々の培養実験やトランスクリプトーム解析によって盗葉緑体現象の形態観察以外の観点から解明することを試みた。ここでは 2020 年に The ISME journal に報告した *N. aeruginosum* とその盗葉緑体のもととなるクリプト藻を用いた研究結果について紹介する。この研究ではまず、*N. aeruginosum* に取り込まれたクリプト藻核がどのように盗葉緑体の維持に寄与しているか、そして取り込まれる前と後ではクリプト藻にどのような変化があるのかを網羅的に調べるため、クリプト藻のトランスクリプトーム解析を行った。*N. aeruginosum* はクリプト藻との二員培養で維持されており、そのままトランスクリプトームの解析に供すれば、取り込まれたクリプト藻（共生クリプト藻）と取り込まれる前のクリプト藻（自由生活クリプト藻）の区別がつかなくなるため、まずは両者の分離法を考案した。ポリプロピレン製食品保存容器の蓋と底をくり抜き、蓋と容器の間に 5 μm メッシュのプランクトンネットを挟み込み、「ふるい」を作成した（図 4A）。このふるいに二員培養株を通すと、サイズの小さい自由生活クリプト藻はメッシュを通り抜け、渦鞭毛虫＋共生クリプト藻はメッシュの上に残るため、両者を分離することに成功した（図 4B）。トランスクリプトームの変動解析では、明暗の切り替えへの応答性も解析可能とするため、培養条件は暗期で 24 時間培養したものを基準とし（0 時間）、明期に移して 1 時間後、4 時間後、12 時間後、再度暗期に移して 1 時間後（13 時間）とし、明期と暗期のトランスクリプトームの変動も比較可能な実験系とした [17]。

まずは渦鞭毛虫に取り込まれる前と後では何がどのように変化するのかを明らかにするため、自由生活条件と共生条件のデータを統合し、比較を行った。形態観察で予想されていたように、渦鞭毛虫に取り込まれたクリプト藻核には転写活性があることがわかった。発現変動遺伝子を探索すると、自由生活条件と比較して共生条件で 2505 遺伝子が有意に発現上昇、1874 遺伝子が発現低下していた（図 4C）。これらの遺伝子の機能を推定すると、発現上昇した遺伝子群には集光タンパク質、光化学系のタンパク質、カルビンサイクル、クロロフィル合成に関連する酵素の遺伝子群、活性酸素消去に働く酵素の遺伝子群等が含まれることがわかった。加えて、DNA 合成、翻訳に関連する遺伝子群の発現上昇も見られた。対

して発現が低下する遺伝子には、チューブリン、アクチン等の細胞運動に関わる遺伝子群、M 期亢進に関わる *CDC20* が含まれることがわかった（図 4D）[17]。これらは、前述の葉緑体の拡大やクリプト藻核の不分裂とも符合する結果と考えられ、渦鞭毛虫に取り込まれたクリプト藻は分裂や運動が停止する一方で、光合成や葉緑体の製造に特化した「マシーン」のように変化していると予想される。形態観察に加えてこの遺伝子発現解析からも、*N. aeruginosum* ではクリプト藻核が機能的であり、クリプト藻核も盗んで使っていると確かめられた。後述するが、このような現象には盗核現象（Karyoklepty）と名付けられている[18]。次に、自由生活条件のクリプト藻で明暗の切り替えに応答して発現変動する遺伝子を予め検出し、共生条件ではそれらの遺伝子群の変動パターンがどのように変化するかを比較解析した。自由生活条件では他の光合成生物と同様に、光合成に関連する遺伝子群が明期に発現上昇するパターンを見せる。共生クリプト藻では自由生活条件で発現変動していた遺伝子群のほとんどが明暗の切り替えに応じたパターンを見せず、変動の幅が小さくなることが明らかとなった。特に、光合成に関連する遺伝子群は、共生条件では発現量が多くなるばかりでなく、暗期でも明期でも常に発現し続けるパターンに変化することが示された[17]。このようなパターンの変化がなぜ引き起こされるのかは不明であるが、渦鞭毛虫の細胞内ではクリプト藻の細胞外皮がなくなり、クリプト藻の細胞質は 1 枚の膜で渦鞭毛藻の細胞質と隔てられる。また、取り込まれる前に持っていた鞭毛や光走性に関わる眼点が取り込み後には消失する。このよう

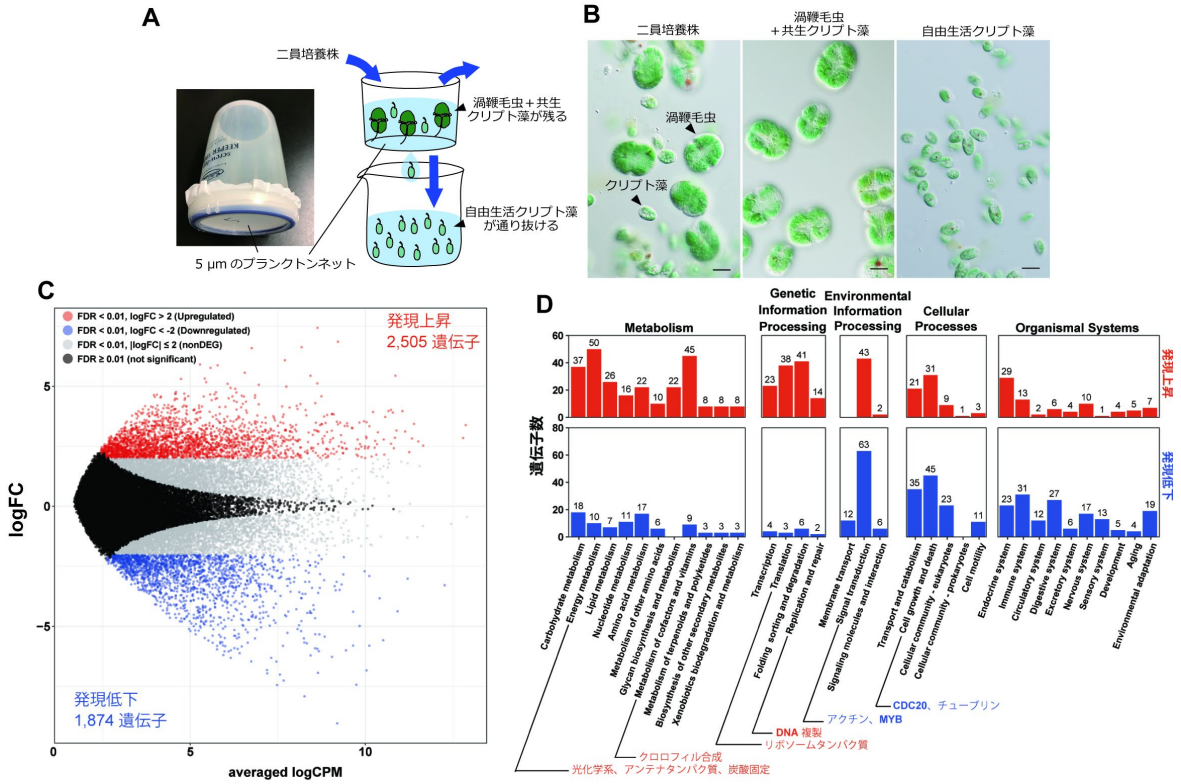


図4 自由生活クリプト藻と*Nusuttodinium aeruginosum*に取り込まれたクリプト藻のトランスクリプトーム変動解析

(A) 渦鞭毛虫＋共生クリプト藻と自由生活クリプト藻を分けるために用いた「ふるい」。(B) 二員培養株（左）、ふるいで自由生活クリプト藻を除いた培養株（中央）、及び自由生活クリプト藻株（右）の光学顕微鏡写真。スケールバーは10 µmを示す。(C) 自由生活クリプト藻の遺伝子発現を基準とした共生クリプト藻のM-Aプロット。赤と青はそれぞれ共生クリプト藻で発現上昇、発現低下した遺伝子を示す。(D) KEGGのアノテーションに基づく発現上昇（赤、上段）と発現低下（青、下段）遺伝子の機能別の遺伝子数。バーの上の数字は遺伝子の数を表す。図はOnuma *et al.* (2020)を改変[17]。

な細胞構造の変化が外界の刺激に応答する機構を喪失する要因の一つであると考えられる。

次に我々は共生条件で発現上昇した遺伝子群に DNA 合成に関連する遺伝子群があったことに着目し、クリプト藻核の DNA が渦鞭毛虫の細胞内で複製されているか否かを検証した。クリプト藻核は渦鞭毛虫に取り込まれると、決まってカップ状に配置した葉緑体に包みこまれるように位置し、葉緑体とともに徐々に拡大していく。このクリプト藻の核を蛍光色素で染色し、渦鞭毛虫に取り込まれてから経時的にクリプト藻核の輝度を定量すると、12 日後のクリプト藻核の輝度は取り込まれた直後から 10 倍以上になることがわかった。qPCR による定量でもやはり取り込まれた直後よりも核の DNA 量が増加していることが確かめられた。クリプト藻核は渦鞭毛虫に取り込まれると分裂をしなくなるため、核の DNA が複製されていることはすなわちクリプト藻核が多倍体になっていることを示す。このように、*N. aeruginosum* に取り込まれたクリプト藻は核の転写活性が維持されており、葉緑体が拡大されるだけでなく、DNA が複製され多倍体になることが明らかとなった [17]。

5. クリプト藻核は渦鞭毛虫を救う？

上記の結果から、クリプト藻核が盗葉緑体維持の長期化に重要なことが明らかとなったが、渦鞭毛虫はクリプト藻核を失ってもある程度の期間、生存可能である。しかしながら、我々の培養実験によって、クリプト藻核の有無が強光下での生存を左右することを見出した。自由生活条件のクリプト藻を 10、50、100、200、500 μmol photons m^{-2} s^{-1} で培養すると、すべての光強度で細胞が増殖することが示された。この実験では 50 μmol photons m^{-2} s^{-1} が最も高い増殖率を示し、500 μmol photons m^{-2} s^{-1} でやや増殖率が低下する（図 5A）。同様の実験を渦鞭毛虫＋共生クリプト藻で行うと、10 μmol photons m^{-2} s^{-1} で最も増殖率が高く、200 μmol photons m^{-2} s^{-1} の増殖率は負の値をとることがわかった（図 5A）。渦鞭毛虫の至適光強度が弱光側にシフトし、強光では細胞が徐々に減少するため、渦鞭毛虫は強光に弱いことが明らかとなった。次に至適光強度の 10 μmol photons m^{-2} s^{-1} と 200 μmol photons m^{-2} s^{-1} で細胞を観察しながら培養実験を行った結果、10 μmol photons m^{-2} s^{-1} ではクリプト藻核の有無に関わらず細胞が生き残っているのに対し、200 μmol photons m^{-2} s^{-1} ではクリプト藻核がある細胞のみは生存しており、クリプト藻核を失った細胞が速やかに死滅することが明らかとなった（図 5B-D）。トランスクリプトーム解析では活性酸素消去に関わる遺伝子群の発現上昇が認められたが、この結果と合わせて考えると、クリプト藻核が強光下での光合成酸化ストレスへの対処に寄与している可能性が考えられた。すなわち、渦鞭毛虫は強光下でクリプト藻核に生存を支えられていると考えられる [17]。論文中では触れていないが、我々は渦鞭毛虫側のトランスクリプトームの解析も行っている。前述のとおり、*Nusuttodinium* 属渦鞭毛虫類はペリディニン型葉緑体を保持する種と姉妹群で、*Nusuttodinium* 属の祖先でペリディニン型葉緑体による光合成能を喪失したと考えられる。宿主のトランスクリプトームを探索すると、光合成に直接的に関連する遺伝子は見つからないため、このことからも盗葉緑体の維持にはクリプト藻核の寄与が大きいと考えられる。細胞分裂を繰り返してクリプト藻核を失った渦鞭毛虫は、葉緑体を完全に消化する前にクリプト藻を捕食する遊泳パターンに切り替わる。これは保持している葉緑体の光合成活性の低下から引き起こされているのか、それともクリプト藻核が無くなったことを感知して引き起こされるものなのかは定かではないが、盗葉緑体維持にクリプト藻核が寄与しているため、クリプト藻核を求めて捕食を行っているとも考えることができる。

6. 他の盗葉緑体生物との比較と細胞内共生の進化シナリオ

以上のように、*N. aeruginosum* 細胞内のクリプト藻核では転写活性が保持されているが、明暗の切り替えに応答した転写制御がなくなること、多倍体化が起こっていることを明らかにした。興味深いことに、同じくクリプト藻を盗葉緑体として用いる *Mesodinium rubrum* でもよく似た現象が報

告されている。*Mesodinium rubrum* は汽水から海水に生息する繊毛虫で、クリプト藻類 *Teleaulax* spp.を取り込んでその葉緑体を盗葉緑体として用いる[19]。*Nusuttodinium aeruginosum* とは異なり、細胞内に葉緑体が多数個保持されており、葉緑体とピレノイド、ミトコンドリアがセットになったコンパートメント構造をとる[20]。また、細胞中央にもとのクリプト藻よりもサイズが大きいクリプト藻核が配置し、サイズの増大は取り込み後に拡大されることによるものと明らかになっている[21]。加えて、*Nusuttodinium aeruginosum* と同様に、このクリプト藻核には転写活性があり、光合成に関連する遺伝子群（カルビンサイクルなど）が発現上昇することが報告されている[22]。さらに、*M. rubrum* でも宿主繊毛虫の細胞分裂時にクリプト藻核が分裂せず、片方の娘細胞に分配される[21]という *N. aeruginosum* と非常に類似した分裂パターンが観察されている。葉緑体とミトコンドリ

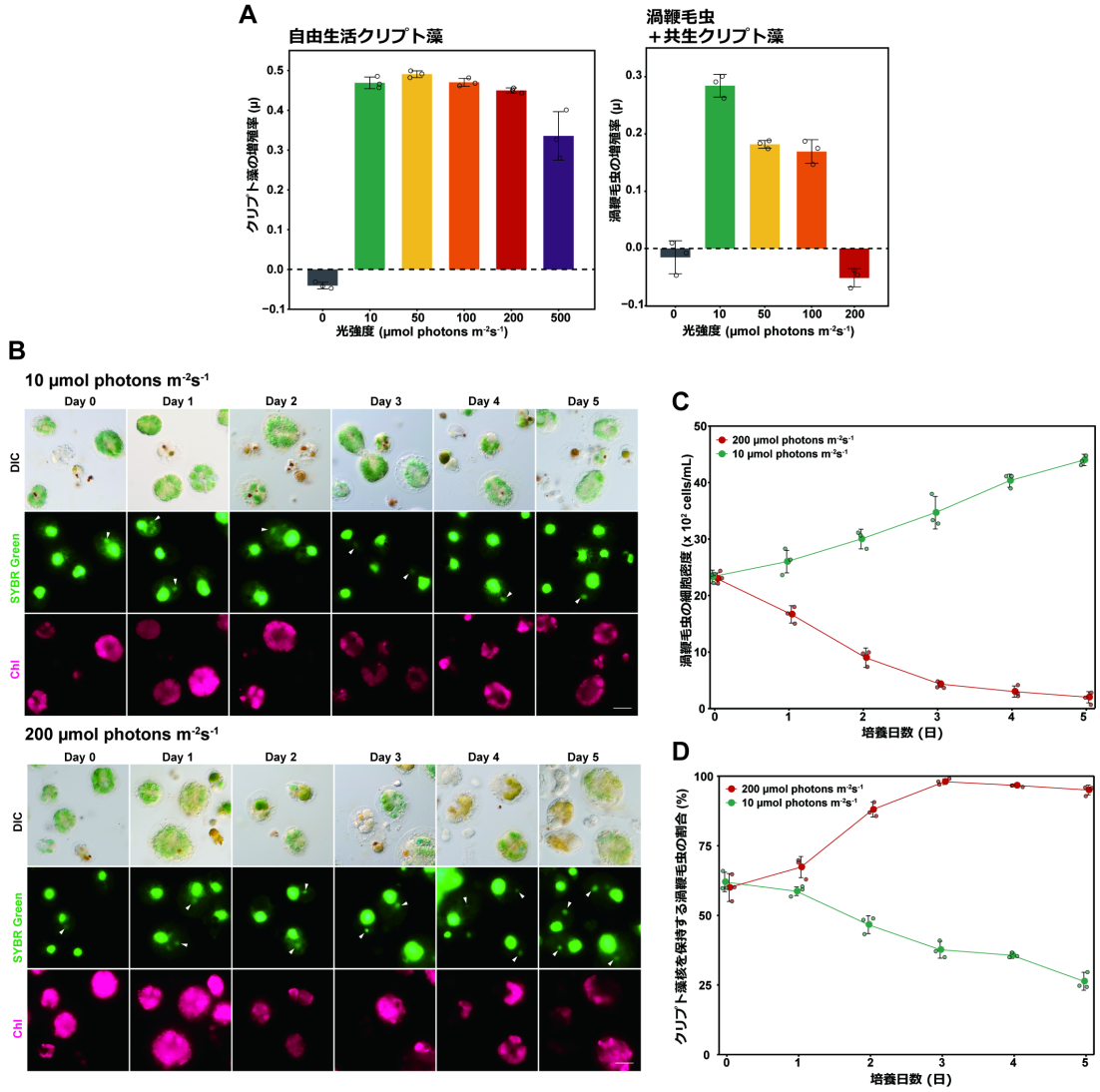


図5　様々な光強度での培養実験

(A) 様々な光強度での自由生活クリプト藻（左）と渦鞭毛虫＋共生クリプト藻（右）の増殖率。縦軸は増殖率(μ)を示す。(B) 10 μmol photons m^{-2} s^{-1}（弱光）と200 μmol photons m^{-2} s^{-1}（強光）で培養した渦鞭毛虫＋共生クリプト藻の光学顕微鏡写真（上）、SYBR Green染色による核の蛍光画像（中）、葉緑体の蛍光画像（下）。矢尻はクリプト藻核を示す。200 μmol photons m^{-2} s^{-1}では葉緑体が黄色に変色する。スケールバーは10 μmを示す。(C) 弱光と強光で培養した渦鞭毛虫＋共生クリプト藻の増殖曲線。(D) 弱光と強光で培養した際のクリプト藻核を持つ渦鞭毛虫の割合の変化。CとDから強光ではクリプト藻核を持たない細胞が速やかに死滅することがわかる。エラーバーは標準偏差を示す。図はOnuma *et al.* (2020)を改変[17]。

アのコンパートメント構造は*M. rubrum*細胞内で分裂して複製されるが、クリプト藻核が細胞内にない状態では分裂頻度が顕著に低下し、光合成活性も下がる[18]。ごく最近に発表された報告では、*M. rubrum*細胞内のクリプト藻核のトランスクリプトームでも明暗の切り替えに応答した発現変動を示さなくなることが明らかとなった[23]。*Nusuttodinium aeruginosum* と *Mesodinium rubrum* はそれぞれ渦鞭毛虫と繊毛虫であるため、明らかに盗葉緑体の進化的起源は異なっているが、盗核現象の中身は共通点が非常に多い。*M. rubrum*は盗葉緑体性の生物でありながら赤潮を引き起こすほど大増殖をする繊毛虫で、その海域では「藻類」のように一次生産者的な振る舞いをすることが知られている[24]。この繊毛虫の研究例と併せて考えると、盗葉緑体現象に核を盗む現象が付加されることが「藻類化」を進める一因になると考えられる。

また、既に「藻類化」した生物にも上記と共通した現象が観察される。渦鞭毛藻類 *Durinskia* spp. や *Kryptoperidinium* spp.は珪藻の細胞内共生体を永続的に保持する藻類である。珪藻共生体の細胞質は渦鞭毛藻の細胞質と 1 枚の膜で仕切られ、葉緑体の他に、ミトコンドリア、珪藻の核も保持する[7]。*Kryptoperidinium foliaceum* のトランスクリプトーム解析では、珪藻共生体の核には転写活性があることが示されている[25]。興味深いことに、*Durinskia bultica* では宿主の細胞分裂と同調して珪藻の核も無糸分裂によって分裂し、両方の娘細胞に受け継ぐことが知られており[26]、このような分裂によって永続的な共生関係が保たれていると考えられる。

クリプト藻とクロララクニオン藻はそれぞれ紅藻と緑藻を細胞内共生させることによって藻類化した生物であるが、両者とも矯正した藻類の核を名残として保持し続けている。この名残はヌクレオモルフと呼ばれ、ゲノムサイズが数百 kbp まで縮退している[27]。このヌクレオモルフの存在により、クリプト藻とクロララクニオン藻は直接、紅藻または緑藻を細胞内共生させて葉緑体を獲得した藻類であると考えられている。このヌクレオモルフの核相を qPCR で定量した研究によると、クリプト藻 *Guillardia theta* とクロララクニオン藻 *Bigelowiella natans* の宿主核は単相で、ヌクレオモルフはそれぞれ 2 倍体と 4 倍体である[28]。また、クリプト藻 *Guillardia theta* のヌクレオモルフには細胞周期に関連すると考えられる遺伝子群が残っているが、細胞周期に関わらず常に発現している[29]。クロララクニオン藻 *Bigelowiella natans* のヌクレオモルフでも、ほとんどの遺伝子で明暗周期依存的な発現調節がされていない[30]。以上より、永続的な共生関係を確立した藻類の共生体核でも多倍体化と転写制御の喪失が起こっており、これらの現象は永続的な共生関係を確立する前から起こりうる現象であると示唆される。

7. おわりに

本稿では *Nusuttodinium* 属渦鞭毛類を中心に、共生体の核を残す方向に進化したと思われる進化のシナリオを解説した。しかしながら、盗葉緑体現象を行う生物には他の生物由来の核を持たずに葉緑体のみを長期間保持できる種も報告されており[31]、必ずしも共生体核を残す方向に進化しているとも限らない。盗葉緑体現象は、宿主、及び共生体の系統、細胞内の構造、維持期間の点から見ると実にバリエーションに富んでおり、画一的な進化をしているとは考えにくい。しかし、そのそれぞれの現象を比較することで、真核生物と真核生物の細胞内共生の原動力、共生のプロセスの共通原理の解明に繋がる可能性があると期待している。

謝辞

本稿で紹介した研究は、科研費（15H06834、17K15168、18J01089、20K15853）、笹川科学研究助成の助成によって行われました。本研究は筆者が大学院在籍時の指導教員である堀口健雄教授、博士研究員時の受入研究室の宮城島進也教授のご指導、ご協力によって行われました。加えて誌面では紹介しきれませんが、これまで筆者の研究にご協力いただいた皆さまにこの場を借りて厚くお礼申し上げます。また、本解説執筆の機会を与えてくださった北海道大学の高林厚史博士に深く感謝申し上げます。

Received Feb 28, 2022; Accepted Mar 17, 2022; Published Apr 30 2022

参考文献

1. Keeling, P. J. The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.* **64,** 583–607 (2013).
2. Strassert, J. F. H., Irisarri, I., Williams, T. A. & Burki, F. A molecular timescale for eukaryote evolution with implications for the origin of red algal-derived plastids. *Nat. Commun.* **12,** (2021).
3. 神川龍馬. 非光合成性藻類の色素体進化. 光合成研究 **31,** 37–49 (2021).
4. Bodył, A. Did some red alga-derived plastids evolve via kleptoplastidy? A hypothesis. *Biol. Rev.* **93,** 201–222 (2018).
5. Mansour, J. S. & Anestis, K. Eco-evolutionary perspectives on mixoplankton. *Front. Mar. Sci.* **8,** (2021).
6. Schnepf, E. Nutritional strategies in dinoflagellates. A review with emphasis on cell biological aspects. **24,** 3–24 (1992).
7. Horiguchi, T. Algae and their chloroplasts with particular reference to the dinoflagellates. *Paleontol. Res.* **10,** 299–309 (2006).
8. Takano, Y., Yamaguchi, H., Inouye, I., Moestrup, O. & Horiguchi, T. Phylogeny of five species of *Nusuttodinium* gen. nov. (Dinophyceae), a genus of unarmoured kleptoplastidic dinoflagellates. *Protist* **165,** 759–778 (2014).
9. Onuma, R., Watanabe, K. & Horiguchi, T. *Pellucidodinium psammophilum* gen. & sp. nov. and *Nusuttodinium desymbiontum* sp. nov. (Dinophyceae), two novel heterotrophs closely related to kleptochloroplastidic dinoflagellates. *Phycologia* **54,** 192–209 (2015).
10. Larsen, J. An ultrastructural study of *Amphidinium poecilochroum* (Dinophyceae), a phagotrophic dinoflagellate feeding on small species of cryptophytes. *Phycologia* **27,** 366–377 (1988).
11. Fields, S. D., Rhodes, R. G. Ingestion and retention of *Chroomonas* spp. (Cryptophyceae) by *Gymnodinium acidotum* (Dinophyceae). *J. Phycol.* **27,** 525–529 (1991).
12. Onuma, R. & Horiguchi, T. Specificity of *Chroomonas* (Cryptophyceae) as a source of kleptochloroplast for *Nusuttodinium aeruginosum* (Dinophyceae). *Phycol. Res.* **64,** 35–43 (2016).
13. Schnepf, E., Winter, S. & Mollenhauer, D. *Gymnodinium aeruginosum* (Dinophyta): A blue-green dinoflagellate with a vestigial, anucleate, cryptophycean endosymbiont. *Plant Syst. Evol.* **164,** 75–91 (1989).
14. Farmer, M. A. & Roberts, K. R. Organelle loss in the endosymbiont of *Gymnodinium acidotum* (Dinophyceae). *Protoplasma* **153,** 178–185 (1990).
15. Onuma, R. & Horiguchi, T. Morphological transition in kleptochloroplasts after ingestion in the dinoflagellates *Amphidinium poecilochroum* and *Gymnodinium aeruginosum* (Dinophyceae). *Protist* **164,** 622–642 (2013).
16. Onuma, R. & Horiguchi, T. Kleptochloroplast enlargement, karyoklepty and the distribution of the cryptomonad nucleus in *Nusuttodinium* (= *Gymnodinium*) *aeruginosum* (Dinophyceae). *Protist* **166,** 177–195 (2015).
17. Onuma, R., Hirooka, S., Kanesaki, Y., Fujiwara, T., Yoshikawa, H., *et al.* Changes in the transcriptome, ploidy, and optimal light intensity of a cryptomonad upon integration into a kleptoplastic dinoflagellate. *ISME J.* **14,** 2407–2423 (2020).
18. Johnson, M. D., Oldach, D., Delwiche, C. F. & Stoecker, D. K. Retention of transcriptionally active cryptophyte nuclei by the ciliate *Myrionecta rubra*. *Nature* **445,** 426–428 (2007).
19. Johnson, M. D., Beaudoin, D. J., Laza-Martinez, A., Dyhrman, S. T., Fensin, E., *et al.* The genetic diversity of *Mesodinium* and associated cryptophytes. *Front. Microbiol.* **7,** 1–16 (2016).
20. Johnson, M. D., Tengs, T., Oldach, D. & Stoecker, D. K. Sequestration, performance, and functional control of cryptophyte plastids in the ciliate *Myrionecta rubra* (ciliophora). *J. Phycol.* **42,** 1235–1246 (2006).
21. Kim, M., Drumm, K., Daugbjerg, N. & Hansen, P. J. Dynamics of sequestered cryptophyte nuclei in *Mesodinium rubrum* during starvation and refeeding. *Front. Microbiol.* **8,** 1–14 (2017).
22. Kim, G. H., Han, J. H., Kim, B., Han, J. W., Nam, S. W., *et al.* Cryptophyte gene regulation in the kleptoplastidic, karyokleptic ciliate *Mesodinium rubrum*. *Harmful Algae* **52,** 23–33 (2016).
23. Altenburger, A., Cai, H., Li, Q., Drumm, K., Kim, M., *et al.* Limits to the cellular control of sequestered cryptophyte prey in the marine ciliate *Mesodinium rubrum*. *ISME J.* **15,** 1056–1072 (2021).

24. Stoecker, D. K., Johnson, M. D., De Vargas, C. & Not, F. Acquired phototrophy in aquatic protists. *Aquat. Microb. Ecol.* **57,** 279–310 (2009).
25. Hehenberger, E., Burki, F., Kolisko, M. & Keeling, P. J. Functional relationship between a dinoflagellate host and Its diatom endosymbiont. *Mol. Biol. Evol.* **33,** 2376–2390 (2016).
26. Tippit, D. H. & Pickett Heaps, J. D. Apparent amitosis in the binucleate dinoflagellate *Peridinium balticum*. *J. Cell Sci.* **21,** 273–289 (1976).
27. Curtis, B. A., Tanifuji, G., Maruyama, S., Gile, G. H., Hopkins, J. F., *et al.* Algal genomes reveal evolutionary mosaicism and the fate of nucleomorphs. *Nature* **492,** 59–65 (2012).
28. Hirakawa, Y. & Ishida, K. I. Polyploidy of endosymbiotically derived genomes in complex algae. *Genome Biol. Evol.* **6,** 974–980 (2014).
29. Onuma, R., Mishra, N. & Miyagishima, S. Y. Regulation of chloroplast and nucleomorph replication by the cell cycle in the cryptophyte *Guillardia theta*. *Sci. Rep.* **7,** 1–12 (2017).
30. Suzuki, S., Ishida, K. I. & Hirakawa, Y. Diurnal transcriptional regulation of endosymbiotically derived genes in the chlorarachniophyte *Bigelowiella natans*. *Genome Biol. Evol.* **8,** 2672–2682 (2016).
31. Kim, M., Nam, S. W., Shin, W., Coats, D. W. & Park, M. G. *Dinophysis caudata* (dinophyceae) sequesters and retains plastids from the mixotrophic ciliate prey *Mesodinium rubrum*. *J. Phycol.* **48,** 569–579 (2012).

Kleptoplasty in dinofalgellates Nusuttodinium spp. and insight into evolution of endosymbiosis.

Ryo Onuma

Kobe University Research Center for Inland Seas

解説

ウミウシは遺伝子水平伝播無しで、餌由来の葉緑体を利用し光合成をする‡

慶應義塾大学 先端生命科学研究所
前田 太郎*

軟体動物、腹足綱、嚢舌目 (Sacoglossa) に属する生物の一部は、餌となる藻類の葉緑体を細胞内に取り込み光合成を行う。これは盗葉緑体現象 (Kleptoplasty) と呼ばれる。通常、光合成に必要な遺伝子の大半は藻類の核にコードされている。光合成酵素の中には失活しやすい物も多く、また、藻類から実験的に単離した葉緑体は数時間から数日で光合成活性を失う。一方、盗葉緑体現象では、動物細胞は葉緑体以外の細胞内小器官は取り込まず、藻類の細胞核が無い状態で葉緑体の光合成活性を数日～10 ヶ月維持する。著者らを含むグループは近年、本現象を示す嚢舌目 2 種のゲノムを解読し、この現象では、藻類からの遺伝子水平伝播無しで光合成能力を維持している事を明らかにした。本稿では、本論文を含め、盗葉緑体現象研究の概要を紹介する。

1. はじめ に－嚢舌目とは？

嚢舌（のうぜつ）目が属する腹足綱は、いわゆる巻貝のグループで、貝殻を持つのが普通である。しかし、嚢舌目では貝殻を持つ種は少数派で、多くの種が、プランクトン幼生期を終えると貝殻を脱ぎ、ナメクジ状の形態となる。海棲の種が多く、他の目の、貝殻が退化的なものと合わせてウミウシと呼ばれる [1]。

嚢舌目は、400 種ほどが含まれる単系統のグループで、特殊な摂食器官で定義される。腹足綱のなかでも有肺類等に近縁で、約 2 億年前に分岐したとされる [2]。腹足綱の多くは、歯舌という使い捨ての歯を使い、複数列の歯で餌の表面をこすり取る。一方、嚢舌目の歯舌は 1 列しかなく、使い終わった歯舌を格納する器官「舌嚢」をもつ。嚢舌目は歯舌を使って、藻類の細胞壁に孔を開け原形質を吸引摂食する。使用後の歯舌は、この穿孔の際に前の歯を支える役割があると考えられている（図 1）。

嚢舌目の餌は種毎に異なり、1 つの種が、1−10 種ほどの藻類種を摂食する。その大半は緑藻類のアオサ藻綱に属するが、例外的に紅藻や黄緑藻、アマモ等の海棲維管束植物を食べる種もいる。餌藻類の多くは、体が水管状につながった巨大細胞から構成されており、嚢舌目は吸引摂食によって効率的に細胞質を摂食できる。葉緑体の取り込みは腸壁細胞での葉緑体選択的な食作用によって行われ、生殖細胞を含む他の細胞中からは葉緑体は全く見つからない。葉緑体は次世代には受け継がれず、各世代で餌となる藻類（餌藻類）の摂食が必要である [3]。

2. 種間での盗葉緑体現象の違い

Ascobulla 属を除く全ての嚢舌目が葉緑体の細胞内への取り込みを行うが、光合成活性の有無やその維持期間は種間で異なる。取り込み能力は嚢舌目の共通祖先で 1 回だけ獲得され [4]、光合成維持能力は 2 回生じたとされる [5]。光合成能力を維

‡解説特集「盗葉緑体現象」

*連絡先 E-mail: taromaedaj@gmail.com

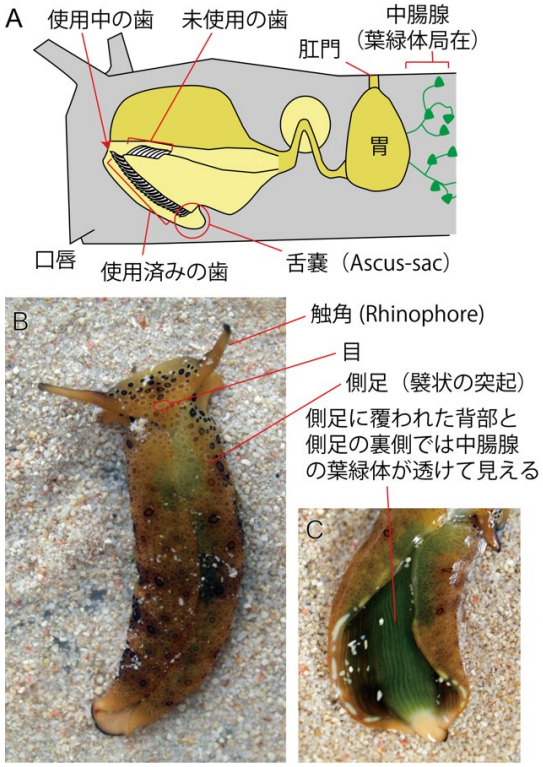


図1. 嚢舌目ウミウシの概観
A. 嚢舌目ウミウシの摂食器官と消化管の概観
B. 嚢舌目ウミウシの例、チドリミドリガイ。体長は3 cmほど。C. 側足を少し開いた状態

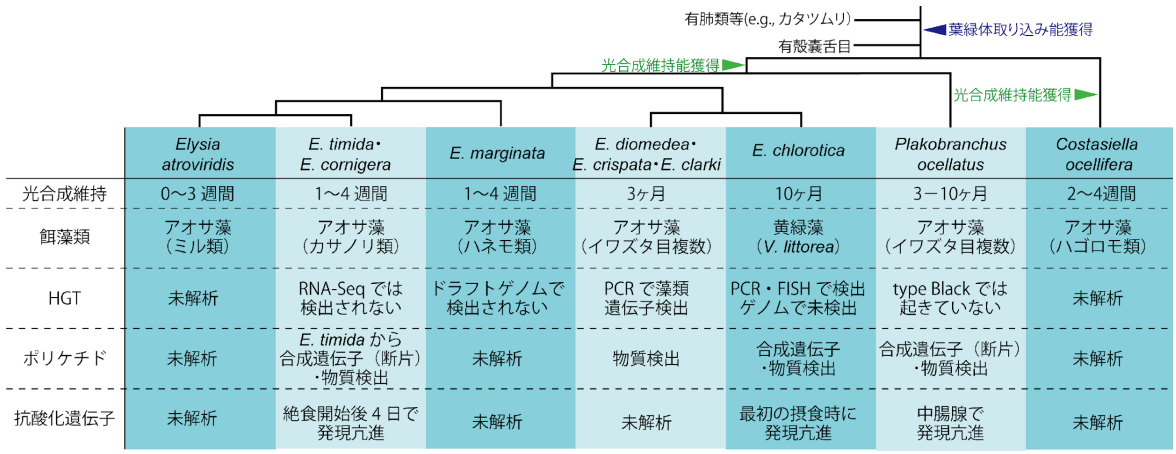
持しない種では、葉緑体は海藻への隠蔽色と考えられている[6]。

2 週間を超えるような長期間の光合成活性維持は嚢舌目内で 6 回以上進化したと考えられている。維持期間の議論では、研究間で計測手法や「長期間」の定義が異なり、若干混乱が見られるが、大まかな傾向は一致している。長期間の光合成活性示す種として、大西洋産の *Elysia chlorotica*, *E. cripsta, E. timida, Costasiella ocellifera* 太平洋産のチドリミドリガイ *Plakobranchus ocellatus* クロミドリガイ *E. atrovirids* が知られる。分子系統解析からは、上記の 6 種はそれぞれ独自に長期間の光合成維持能力を獲得し、その維持機構も異なる可能性が指摘されている[5,7](図 2)。

3. 発見と命名

盗葉緑体現象の発見と命名の経緯は複雑で、本現象の定義や理解を難しくしている。De Negri and De Negri (1876) がクロロフィルを検出した後、嚢舌目はシアノバクテリア、もしくは渦鞭毛藻類の共生藻をもつと考えられていた。しかし、Kawaguti & Yamasu (1965)は、電子顕微鏡によりクロミドリガイと、その餌のミル(*Codium fragile*)を比較し、形態の類似性から、この「共生者」は餌藻類の葉緑体そのものであることを示した。また形態の健全性から、ウミウシ体内でも光合成活性を維持していると予測した[8]。

実際の光合成活性の検証は Trench (1969) によってなされた。彼は *E. crispata* を用いて、このウミウシの「共生者」も葉緑体であることを確認し、さらに光依存的な無機炭素の組織への取り込みが生じる事を ^{14}C を用いて示した。この後の複数のウミウシ種の放射性同位体実験から、アミノ



	Elysia atroviridis	*E. timida*・*E. cornigera*	*E. marginata*	*E. diomedea*・*E. crispata*・*E. clarki*	*E. chlorotica*	*Plakobranchus ocellatus*	*Costasiella ocellifera*
光合成維持	0〜3 週間	1〜4 週間	1〜4 週間	3ヶ月	10ヶ月	3−10ヶ月	2〜4週間
餌藻類	アオサ藻（ミル類）	アオサ藻（カサノリ類）	アオサ藻（ハネモ類）	アオサ藻（イワズタ目複数）	黄緑藻（*V. littorea*）	アオサ藻（イワズタ目複数）	アオサ藻（ハゴロモ類）
HGT	未解析	RNA-Seq では検出されない	ドラフトゲノムで検出されない	PCR で藻類遺伝子検出	PCR・FISH で検出 ゲノムで未検出	type Black では起きていない	未解析
ポリケチド	未解析	*E. timida* から合成遺伝子（断片）・物質検出	未解析	物質検出	合成遺伝子・物質検出	合成遺伝子（断片）・物質検出	未解析
抗酸化遺伝子	未解析	絶食開始後 4 日で発現亢進	未解析	未解析	最初の摂食時に発現亢進	中腸腺で発現亢進	未解析

図2 代表的な盗葉緑体現象を示すウミウシの系統関係と、各種の研究段階のまとめ
実際には各種の間に短期間しか光合成能を維持しない種類や維持期間が調べられていない種が多数存在する。

酸、単糖類、オリゴ糖、そして一部の二次代謝産物が、葉緑体によって固定された炭素や同化された窒素から産生されることがわかった[9-11]。

この現象に初めて kleptoplasty（klepto-= 盗む）という語を当てたのは、Gilyarov *et al.* (1983)と Waugh and Clark (1986)である[12]。それ以前は Chloroplast symbiosis などが使われていた。しかし、葉緑体が分裂せず、次世代にも受け継がれないことから、相利共生ではない本現象に共生の語は不適切として、この語が提案された。以前から、別のウミウシ類（裸鰓目のミノウミウシ類）では、餌として食べた刺胞動物の刺胞を体内に取り込み、自らの防御に使う Kleptocnidae という現象が知られていた。Gilyarov は、これを元に клепторганоидах (Klepto-organelle)という語を充て、これが英語化される際に kleptoplasty に修正された。

当初は、光合成能力の維持が、本現象の要件に含まれていたが、「光合成活性が維持されない葉緑体取り込み」が発見されたことで、これも Kleptoplasty に含める用法が生まれた[6]。光合成をしない場合は特に Non-functional kleptopalsty と呼ばれる。

日本語では、Kleptoplasty の訳語として「盗葉緑体現象」が用いられる。これは平野 (2000)[1] の中で、Kleptoplasty ＝ 盗葉緑体として用いたのが初出であり、Kleptocnidae ＝ 盗刺胞と合わせた形である。この前には、葉緑体共生と呼ぶ場合が多かった。また、後に、Kleptoplast（取り込まれた葉緑体）と Kleptoplasty（取り込み現象）を区別するため、前者を盗葉緑体、後者を盗葉緑体現象と呼ぶ形が一般的になった。

Klepotplasty と類似した餌葉緑体の利用はその後、1973 年の繊毛虫を皮切り[13] に複数の原生生物で報告され、Kleptoplastid や Kleptochloroplast[14] など若干異なった名前で呼ばれる。原生生物では、藻類核も取り込むなど多様な利用法が報告され、ウミウシでの盗葉緑体現象との違いもあるが、これらも邦文では盗葉緑体現象と呼ばれる[15]。また近年では、扁形動物 *Baicalellia solaris* と *Pogaina paranygulgus* において、ウミウシ以外の後生動物として初めて盗葉緑体現象 (Kleptoplasty) が報告されている。この海産生物は珪藻由来の葉緑体を 1 週間ほど保持し光合成を行うが、ウミウシと同様に餌藻類の核は細胞内に取り込まれない[16]。

4. 盗葉緑体現象の分子機構

その発見当初から、ウミウシの盗葉緑体現象の分子機構は注目されてきた。現在、葉緑体側と、ウミウシ側それぞれに本現象を可能にする要素が想定されている。

4.1. 仮説 1・葉緑体の高度な自立性

葉緑体自体に原因を求める考えは、盗葉緑体現象の発見時からあり、現在でも原理は不明ながら、藻類種間で本現象への適不適があると考えられている。

盗葉緑体現象の発見時にすでに、単離した陸上植物の葉緑体が活性を速やかに失うことは知られていた。一方で、当時は、Mereschkowski の細胞内共生説が再注目された時期でもあった[17,18]。そのため、ウミウシ餌藻類の葉緑体は、宿主である藻類の細胞核が無くても光合成活性を維持出来る、原始真核生物への共生前の形質を維持した物なのではないかと期待された。そこで、餌藻類に近縁なアオサ藻類 *Caulerpa sedoides* を用いて、単離葉緑体のニワトリ卵白中での寿命が調べられた。結果、この葉緑体が、明暗条件で 10 日培養しても電子顕微鏡レベルで形態が無傷であり、ヒル反応が 108 時間程、単離直後と同程度に維持された[19]。このことからアオサ藻綱の葉緑体は陸上植物よりも頑健であるとされた。一方で、これ以上の光合成能保持を示す単離葉緑体は現在まで見つかっておらず、葉緑体の完全な代謝独立性を想定した議論は現在では見られない。

しかし、特定の藻類種が盗葉緑体現象に適しているという議論や報告は現在でも存在する。代表的なものは、*E. chlorotica* の葉緑体源、黄緑藻類 *Voucheria littore* である。顕微鏡と酵素活性から求めた無傷葉緑体の割合は、ホウレンソウで単離後 24 時間で 30%以下に低下したが、*V. littore* の葉緑体では同程度に達するのに 74 時間かかった[20]。また、緑藻の葉緑体と比較して、葉緑体 DNA 上にコードされる遺伝子が、50 以上多く、またその

いくつかは、ウミウシ細胞中でも発現していた[3]。この *V. littorea* 葉緑体の頑健性と光合成関連タンパク質の「自給率」の高さが *E. chlorotica* の長い光合成維持期間に寄与するとされている。

多くのウミウシが摂食する緑藻類でも、種間で適不適が報告され、その原理について仮説が示されている。*E. viridis* は 8 種のアオサ藻類を食べるが、比較実験の結果、ミル葉緑体を取り込んだ場合が最も長期間光合成活性を維持し、イワズタ類の *C. rupestris* の葉緑体の維持は非常に短時間であることが示された[21]。この結果が光合成装置の安定性に由来するのか、もしくはウミウシとの相性によるのかは判然とせず今後の研究が待たれる。一時期、アオサ藻綱の特定の種の葉緑体 DNA には、光化学系の代謝に必要な *ftsH* 遺伝子が例外的に存在し、この遺伝子が葉緑体の代謝独立性を高めていると主張されたが[22]、この遺伝子はすべてのアオサ藻綱の葉緑体 DNA から報告されており、我々の包括的な葉緑体 DNA の比較解析からは、長期間の光合成活性を維持するウミウシの餌藻類から、特異的な葉緑体コード遺伝子は見つかっていない[23]。また、*E. timida* が利用するカサノリ類 *Acetabularia acetabulum* はキサントフィルサイクルの活性が高く、これによる余剰エネルギー発散能の高さが、活性維持に関与するとの仮説がある[24]。

少なくとも、単離葉緑体の研究からは、盗葉緑体現象に関わる藻類の葉緑体は、代表的な陸上植物の物より「長持ち」の様に見える。しかし、この効果の実験的評価はなされていない。嚢舌目ウミウシの餌の選択性は厳密であり、近縁な藻類種であっても摂食をせず餓死してしまうため、葉緑体の交換実験などは困難である。今後、人為的な消化管への葉緑体注入などによって葉緑体側の影響が明確になるかもしれない。

一方、盗葉緑体現象の原因に葉緑体の頑健性だけを想定するのは現在一般的ではない。例えば、*E. cornigera* と *E. timida* は両者とも *A. acetabulum* を摂食するが、前者では葉緑体で産生される活性酸素をうまく除去出来ずに、*E. timida* より早く死亡する可能性が指摘されている[25]。このようにウミウシ側の要素も盗葉緑体現象には重要と考えられている。

4.2. 仮説 2・遺伝子水平伝搬説

遺伝子水平伝搬 (Horizontal gene transfer, HGT) 説は、近年の盗葉緑体研究の中でも脚光を浴びた物の一つである。この説は、進化的な過程で、藻類からウミウシ側に水平伝播した光合成遺伝子から、光合成タンパク質が新規に合成され、外来葉緑体に輸送され、光合成能を維持するとの考えである。この仮説は複数のウミウシ種を用いて検証され、種によって異なった研究段階にある。

4.2.1. *E. chlorotica*

HGT 説は、*E. chlorotica* から、内在性のレトロウイルスが検出されたことに端を発するが[26] 本種での HGT の有無は決着していない。

HGT 説は、このウイルスが水平伝播を媒介しているという着想のもと、一般的な藻類核コードタンパク質が盗葉緑体から長期間検出されること[27]、それらのタンパク質の量が、葉緑体でのタンパク質合成阻害剤に影響されないこと[28]、そして藻類核コード遺伝子がウミウシの成体や発生中の胚から検出されること[29]等が示され、補強されてきた。これらの解析では光アンテナに関わる *fcp* , *Lhc1*, *2* を水平伝播した遺伝子としていた。

その後、餌藻類 *V. littorea* の葉緑体 DNA 全長を解読し、葉緑体が独自に産生可能なタンパク質を明確にした上で、その中に含まれない光化学系 II 複合体のサブユニットである *psbO* が PCR によって DNA 及び RNA レベルでウミウシ卵から検出され、これが HGT の証拠とされた[30]。その後もクロロフィル合成酵素（*ChlD, ChlH, ChlG*）などいくつかの遺伝子が qRT-PCR やトランスクリプトーム解析によって報告された[31,32]。しかし、これらの断片配列の報告には、餌海藻などのコンタミネーションである可能性が根強く指摘されてきた。

これを受けて、*E. chlorotica* のゲノム解読が実施されたが、現在までに明確な結論は出ていない。最初のゲノム解読では、解読された断片長の基準である N50 は最大で 824 塩基と非常に短く、水

平伝播の明確な証拠（軟体動物の遺伝子と藻類由来の遺伝子の両方を持つゲノム断片等）は得られなかった。この論文の著者らは、水平伝播の否定には、より高精度なゲノムが必要とする一方で、PCR 解析からは特定の藻類由来遺伝子が安定して検出されることから、先天的な DNA 伝搬ではなく、藻類由来の DNA や RNA 断片が後天的に獲得されている可能性を主張した[33]。

一方、他チームはゲノム解読で見逃された藻類由来の遺伝子があるとし、染色体 FISH 解析によって炭酸固定に関わるホスホリブロキナーゼ遺伝子(*prk*)のシグナルが再現性をもって検出されることを示した[34]。私を含む国際チームは、再度 *E. chlorotica* のゲノム解読を試みたが高精度なゲノムの基準の一つである N50 = 1 Mbp には及ばなかったため（442 kb）、水平伝播の議論は行わず、配列を報告するに留めた[35]。いくつかのレビューでは、*E. chlorotica* での HGT は否定されたとしているが、十分なデータが無く、議論中の段階と言える。

4.2.2. チドリミドリガイ *P. ocellatus*

E. chlorotica は採集や DNA 抽出が難しいため、私たちは、本邦産 *P. ocellatus* を用いてゲノム解読を試みた。本種はインド太平洋地域の熱帯～亜熱帯域に広く分布し、日本では種子島以南で採集できる。本種が隠蔽種群とする議論が古くからあったが、近年、分子系統学解析と形態解析の両面から 9 種以上に分けられた[36]。本研究ではそのうちの *P. ocellatus* type Black (以下 PoB) を、ターゲットとした。結果として、網羅的な探索にもかかわらず、藻類由来の遺伝子は発見されず、本種が、HGT 無しで光合成活性を 3−10 ヶ月維持することが示された。

本種の餌海藻は不明だったが、事前の盗葉緑体 *rbcL* のクローンシーケンシングと tRFLP 解析から、最大 8 種のアオサ藻類種から葉緑体を得ており、主要なものはハゴロモ類の *Poropsis* sp. と *Rhipidosiphon lewmanomontiae* であることがわかった。また個体の栄養段階を反映するアミノ酸中の窒素安定同位体比（Glu/Phe）から、野外の PoB は、光合成だけに依存せず、積極的に新しい藻類を摂食するが、餌が少ない環境では光合成に強く依存する事が示された[37]。また、絶食飼育実験から、明条件下で生存率が改善し、体重減少が軽減された[23,38]。*P. ocellatus* の光合成は適応的な意義がないとする研究もあるが[39]、旧 *P. ocellatus* 内の複数種を区別せず、少ない試験数（n=2）で検定がされており、少なくとも PoB には当てはまらない。

核ゲノム解読の結果、葉緑体とミトコンドリアの全長配列とともに、N50 = 1.45 Mbp の比較的高精度の配列が得られた。このゲノムの遺伝子領域を予測し、RefSeq 上の遺伝子情報との相同性から機能アノテーションを行ったが、光合成関連遺伝子は見つからなかった[23]。

しかし、これだけでは、水平伝播遺伝子を見逃す以下のシナリオが考えられる。① RefSeq 上の藻類遺伝子情報が不十分で、伝搬している藻類遺伝子をそれと認識できていない、②遺伝子領域の予測が不十分で、遺伝子とされていないゲノム領域に藻類由来の遺伝子が存在する、③ゲノム構築の際に連結されなかった部分に藻類由来配列が存在する。

これを解決するために以下の対策をした。①PoB の餌藻類の 1 種 (*Halimeda borneensis*) とその近縁種オバナハネモの RNA-Seq から、藻類遺伝子の情報を補完する、②tBlastn と Exonerate により、PoB のゲノム配列全てを 3×2 (コドン×表裏) の全ての組み合わせでアミノ酸に変換し、藻類タンパク質との類似部位を探索する。③アセンブル前の生シーケンス中から、藻類遺伝子と類似した配列を mmseq2 を用いた高速相同性検索で探索する。

①の結果、それぞれ、26,652、24,127 個の転写産物情報を獲得した。これに、クラミドモナス、シゾン、アオサ藻綱クビレズタ（*C. lentillifera*）のゲノム情報を組み合わせ、光合成関連遺伝子 614 個を選抜し、水平伝播遺伝子探索用のクエリとした。

②の解析は、PoB と同時に、クビレズタのゲノムに対しても実施し、陽性対照とした。結果、探索した 614 遺伝子のうち、クビレズタから 450-455 遺伝子（74%）が検出されたのに対し、PoB

からは 3 座位が得られたのみだった。この 3 座位にあった遺伝子について、オーソログ解析と系統解析を行った結果、全て軟体動物に由来する遺伝子であった。

③では、生シーケンス数は 11 億本に及び、塩基数では PoB の予測ゲノムサイズの 150 倍であった。陽性対照として PoB ゲノム上に含まれるシングルコピー(SC)遺伝子 911 個を用いた結果、905 遺伝子について対応する生シーケンスが得られた。一方、光合成遺伝子 614 個では、261 遺伝子について対応するシーケンスが得られた。しかし、各遺伝子にヒットした生シーケンス数は、SC 遺伝子の 1/100 ほどであった。シーケンス数は、DNA 量を大まかに反映していることから、光合成遺伝子にヒットした生シーケンスは PoB のゲノム以外（おそらく混入した藻類）の DNA に由来すると考えられる。例外的に、1 つの光合成遺伝子が SC 遺伝子と同程度のシーケンス数を得ていたが、この遺伝子は藻類と PoB のホモログ間で配列が類似しており、PoB ゲノム由来のシーケンスが藻類由来のクエリにもヒットしていた [23]。

以上の結果を補強するため、既知の全ての藻類遺伝子を用いて、水平伝搬遺伝子の探索で使われる h-index を算出した。これは、水平伝播が疑われる生物の遺伝子を、A-[近縁種の遺伝子配列 DB]と B-[伝播源とされる生物の配列 DB]にそれぞれ Blast 検索した時の最大の類似性スコア（Tophit の Bit スコア）を比較することで、A より B に近い遺伝子（＝水平伝播遺伝子）を探索する。本研究ではシアノバクテリアを含む藻類由来の 49 万遺伝子と、軟体動物が含まれる冠輪動物の 32 万遺伝子等を用いて算出した。水平伝播の基準である 100 を超えるスコアが 3 つの PoB 遺伝子から見つかったが、トランスポゼースや、アンキリンであり真核生物全体で保存性が高い遺伝子が偶然ヒットした物と考えられ、機能からも光合成との関連は想定出来なかった [23]。

さらに、*E. chlorotica* の初期のゲノム解読で議論された、「藻類の RNA 断片が各世代で伝搬している」という説 [33] を、組織間の比較 RNA-Seq で検証した。これを藻類のコンタミネーションと区別するのは困難だが、我々は「盗葉緑体現象に関わるならば、それを行う組織で高頻度に藻類 RNA が得られる」と考え、葉緑体を含む腸（中腸腺）組織を切り出し、他の葉緑体を含まない組織（頭部、胸部、側足、卵）との比較 RNA-Seq(各組織 300 万−1500 万リード)を行った。

MMseq2 によって 19 個の光合成関連遺伝子に対応するリードが得られたが、各組織 1−10 リードで、その多くは卵から検出され、腸組織に局在する傾向はなかった。卵はゼリー状の分泌物に保護されており、検出されたリードは、積極的な藻類からの取り込みよりも夾雑物に由来すると考えるのが妥当である。

以上の結果から、PoB において、藻類由来の遺伝子が伝播している可能性は非常に低い。しかし、光合成は明確に生じていた。PoB の Fv/Fm は 3 ヶ月間の絶食後でも 0.6 以上であり、1 ヶ月間絶食した PoB に光 (50 μmol photons m^{-2} s^{-1}) を照射すると、呼吸で消費する以上の酸素を発生した。このことは、PoB は遺伝子の伝搬がなくても光合成活性を十分維持することを示し、遺伝子水平伝播は盗葉緑体現象に必須ではないことを示している [23]。

4.2.3. コノハミドリガイ *E. marginata*

E. marginata は、日本の温帯〜熱帯域に産する。私達は、PoB と比較するため、本種のゲノムも解読した。得られたゲノムから HGT の証拠は見つからなかったが、PoB に比較して低品質で（N50 = 225 kbp）PoB のような徹底的な藻類遺伝子の探索は行っていない [23]。本種は、心臓が含まれる体部から頭部を自切し、頭部側から心臓を含む体を再生することで有名である [40]。また、光合成能の維持期間は 1 週間ほどとされていたが、より長期間光合成能を維持する隠蔽種が存在する可能性が示されており [5]、今後の研究の発展が期待される。

4.2.4. 他の嚢舌目ウミウシ

上記以外のウミウシ種ではゲノムは解読されておらず、水平伝播の有無は検証されていない。間接的なデータとして、*E. chlorotica* の近縁種で

ある *E. clarki* では藻類核由来と思われる *fcp* の配列がサザンプロットで検出され、またクロロフィル合成能力の 2 週間以上の維持が報告されている[41]。*E. timida* とその近縁種 *E. cornigera* では、トランスクリプトーム解析とミトコンドリア DNA の全長が解読されているが、HGT の証拠は得られていない[42]。

4.3. タンパク質維持説

水平伝播以外の仮説として、葉緑体中のタンパク質の失活を防ぎ、藻類由来の物を使い続けるという説がある。近年、他生物のタンパク質を流用する生物が、ウミウシ以外でも複数報告され、一部の現象は盗タンパク質 (Kleptoprotein) と名付けられた[43]。

ウミウシが、盗葉緑体中の光合成タンパク質の失活を低減するという発想は、1978 年のウミウシからのポリケチドの発見に遡る。ポリケチドは脂肪酸と類似した物質で、嚢舌目からは、特異的なポリケチドが複数種発見されている。そのうちいくつかは、光化学的な反応性が確認されており、これが光ダメージを肩代わりすることで、盗葉緑体のダメージを緩和する可能性が考えられた。なかでもよく研究が進んでいるのが、トリダチオン (Tridachione)である。これは *E. diomedea* から発見された物質で、名称はこの種の旧属名である *Tridachiella* に由来する[44]。この物質は、前駆体である 9,10-deoxytridachione の太陽光暴露で生じ、この過程で盗葉緑体の光ダメージを緩和するサンスクリーンの効果があると考えられている。トリダチオンとその関連物質は、現在までに、*E. crispata, P. ocellatus, E. timida, E. chlorotica, E. viridis, E. patagonica* から見つかっている[45]。
一方、ポリケチド類の *de novo* 合成酵素は後生動物での報告例が少なく、ウミウシのポリケチドが、共生細菌や環境中からの流用である可能性があった。しかし、*P. ocellatus* の同位体ラベル実験からは、これらの物質は光合成で固定された炭素から産生されており、生体内で光依存的な 9,10-deoxytridachione → トリダチオンの反応が起きる事が確認された。さらに、*E. chlorotica* のゲノム情報の再解析から、既知のポリケチドシンターゼとは基質などが異なる新しいポリケチド合成酵素(EcPKS1, 2)が報告され、ポリケチドが盗葉緑体で作られた炭化水素から、ウミウシ自身の酵素によって新規に合成される可能性が高まっている[45]。今後、トリダチオンの全合成系の解明と、ポリケチドが実際に盗葉緑体の活性を延長するかの検証が待たれる。

ポリケチド以外の、光ダメージを軽減する機構として、抗酸化酵素やプロテアーゼが候補に上がっている。我々は、PoB につながる系統で顕著に遺伝子重複をし、かつ中腸腺組織で有意に発現が亢進している遺伝子を盗葉緑体現象に関与する遺伝子の候補と考え、88 の該当遺伝子を見つけた。これらは、活性酸素処理に関与する Apolipoprotein D 様タンパク質、アスパラギン酸プロテアーゼの Cathepsin D 様タンパク質、糖鎖認識に関わるレクチンの遺伝子が含まれていた[23]。

活性酸素への耐性や除去が盗葉緑体現象に関わるという説は、*E. chlorotica* や *E. timida* の解析からも提案されている。*E. chlorotica* では RNA-Seq 解析により、プランクトン幼生から変態後の最初の摂食時（＝葉緑体取り込み時）において、酸化ストレス応答に関わる遺伝子の亢進が報告された[46]。*E. timida* の RNA-Seq でもカタラーゼの一つが、絶食開始後 4 日目に亢進する傾向が見られる[25]。一方、PoB からのアスパラギン酸プロテアーゼの検出は予想外であった。これは、変性した光合成タンパク質からの活性酸素の産生を、変性タンパク質の速やかな完全な分解によって防ぐ役割があるのかもしれない。

5. 今後の課題と展望

ゲノムデータが得られたことで、今後、実験的な遺伝子機能解析による、分子機構の解明が期待される。一方、これに必要な嚢舌目の安定飼育や、遺伝子組み換え、サイレンシング技術の開発が急務である。また表現型の評価に先立ち、光合成活性の維持能力の指標や、それに影響を与える環境要因も明確にする必要がある。すでに、温度[47]やウミウシ側の移動による光量調整[48]の影響が知られている。

一方、光合成能維持の前段階である、葉緑体の認識と取り込みの機構はほとんどわかっていない。PoB で見つかったレクチンは自然免疫に関わる分子であり、これが、葉緑体や外来タンパク質の認識に関与する可能性がある。取り込み過程での食胞膜や葉緑体膜の挙動も議論がある。ウミウシ細胞中の葉緑体について、1 重から 4 重膜まで様々な報告がなされているが、葉緑体とウミウシ細胞質の間に大きな空間は存在せず、電子顕微鏡像の解釈を難しくしている [49,50]。

PoB での遺伝子水平伝播の否定は、盗葉緑体研究の生物学的重要性を大きく広げる可能性がある。一般的に、DNA の水平移動が種を超えた表現型伝搬の原因とされてきたが、PoB の結果は、遺伝子の水平伝搬が無くても光合成の様な複雑な表現型の獲得が起き得る事を示唆している。いくつかの生物は複数の HGT 由来の機能遺伝子を持つが、外来遺伝子の適切な発現制御系の獲得機構には不明点も多く、複数の外来遺伝子の獲得過程には、適応度の谷があるように見える。PoB の様なドナー種からの遺伝子伝搬を必要としない適応的表現型の伝搬は、遺伝子伝搬に先行する、適応度の谷を越えるブリッジの一つかもしれない。盗葉緑体研究は、異種間の進化的相互作用に新たな視点を提供する可能性がある [23]。

Received Mar 1, 2022; Accepted Mar 23 2022; Published Apr 30, 2022.

参考文献

1. 平野 義明. ウミウシ学. (東海大学出版会, 2000).
2. Jörger, K. M. *et al.* On the origin of Acochlidia and other enigmatic euthyneuran gastropods, with implications for the systematics of Heterobranchia. *BMC Evol. Biol.* 10, 323 (2010).
3. Pelletreau, K. N. *et al.* Sea slug kleptoplasty and plastid maintenance in a metazoan. *Plant Physiol.* 155, 1561–1565 (2011).
4. Maeda, T., Kajita, T., Maruyama, T. & Hirano, Y. Molecular phylogeny of the Sacoglossa, with a discussion of gain and loss of kleptoplasty in the evolution of the group. *Biol. Bull.* 219, 17–26 (2010).
5. Hirokane, Y. *et al.* Phylogeny and evolution of functional chloroplast retention in sacoglossan sea slugs (Gastropoda: Heterobranchia). *Org. Divers. Evol.* (2021) doi:10.1007/s13127-021-00532-w.
6. Clark, K. B., Jensen, K. R. & Stirts, H. M. Survey for functional kleptoplasty among west Atlantic Ascoglossa (= Sacoglossa)(Mollusca: Opisthobranchia). *Veliger* 33, 339–345 (1990).
7. Pierce, S. K., Curtis, N. E. & Middlebrooks, M. L. Sacoglossan sea slugs make routine use of photosynthesis by a variety of species-specific adaptations. *Invertebr. Biol.* 134, 103–115 (2015).
8. Kawaguti, S & Yamasu, T. Electron microscopy on the symbiosis between an elysioid gastropod and chloroplasts of a green alga. *Biol. J. Okuyama Univ.* 11, 57–65 (1965).
9. Ireland, C. & Scheuer, P. J. Photosynthetic marine mollusks: In vivo 14C incorporation into metabolites of the sacoglossan *Placobranchus ocellatus*. *Science* 205, 922–923 (1979).
10. Trench, R. K. Chloroplasts as functional endosymbionts in the mollusc *Tridachia crispata* (Bërgh), (Opisthobranchia, Sacoglossa). *Nature* 222, 1071 (1969).
11. Teugels, B., Bouillon, S., Veuger, B., Middelburg, J. J. & Koedam, N. Kleptoplasts mediate nitrogen acquisition in the sea slug *Elysia viridis*. *Aquat. Biol.* 4, 15–21 (2008).
12. Waugh, G. R. & Clark, K. B. Seasonal and geographic variation in chlorophyll level of *Elysia tuca* (Ascoglossa: Opisthobranchia). *Mar. Biol.* 92, 483–487 (1986).
13. Blackbourn, D. J., Taylor, F. J. R. & Blackbourn, J. Foreign organelle retention by ciliates. *J. Protozool.* 20, 286–288 (1973).
14. Schnepf, E. From prey via endosymbiont to plastid: Comparative studies in dinoflagellates. in *Origins of plastids: symbiogenesis, prochlorophytes and the origins of chloroplasts* (ed. Lewin, R. A.) 53–76 (Springer US, 1993).
15. 大沼 亮. 盗葉緑体性渦鞭毛藻 *Nusuttodinium aeruginosum* の共生クリプト藻から探る細胞内共生の進化. 藻類 68, 48 (2020).
16. Van Steenkiste, N. W. L. *et al.* A new case of kleptoplasty in animals: Marine flatworms steal functional plastids from diatoms. *Sci Adv* 5, eaaw4337 (2019).

17. Giles, K. L. & Sarafis, V. Implications of rigescent integuments as a new structural feature of some algal chloroplasts. *Nature* 248, 512–513 (1974).
18. 佐藤 直樹. 細胞内共生説の謎. (東京大学出版会, 2018).
19. Giles, K. L. & Sarafis, V. Chloroplast survival and division in vitro. *Nat. New Biol.* 236, 56–58 (1972).
20. Green, B. J., Fox, T. & Rumpho, M. Stability of isolated algal chloroplasts that participate in a unique mollusc/kleptoplast association. *Symbiosis* 40, 31–40 (2005).
21. Baumgartner, F. A., Pavia, H. & Toth, G. B. Acquired phototrophy through retention of functional chloroplasts increases growth efficiency of the sea slug *Elysia viridis*. *PLoS One* 10, e0120874 (2015).
22. de Vries, J. *et al.* Is *ftsH* the key to plastid longevity in sacoglossan slugs? *Genome Biol. Evol.* 5, 2540–2548 (2013).
23. Maeda, T. *et al.* Chloroplast acquisition without the gene transfer in kleptoplastic sea slugs, *Plakobranchus ocellatus*. *Elife* 10, (2021).
24. Jesus, B., Ventura, P. & Calado, G. Behaviour and a functional xanthophyll cycle enhance photo-regulation mechanisms in the solar-powered sea slug *Elysia timida* (Risso, 1818). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 395, 98–105 (2010).
25. de Vries, J. *et al.* Comparison of sister species identifies factors underpinning plastid compatibility in green sea slugs. *Proc. Biol. Sci.* 282, (2015).
26. Pierce, S. K., Maugel, T. K., Rumpho, M. E., Hanten, J. J. & Mondy, W. L. Annual viral expression in a sea slug population: Life cycle control and symbiotic chloroplast maintenance. *Biol. Bull.* 197, 1–6 (1999).
27. Green, B. J. *et al.* Mollusc-algal chloroplast endosymbiosis. Photosynthesis, thylakoid protein maintenance, and chloroplast gene expression continue for many months in the absence of the algal nucleus. *Plant Physiol.* 124, 331–342 (2000).
28. Hanten, J. J. & Pierce, S. K. Synthesis of several light-harvesting complex I polypeptides is blocked by cycloheximide in symbiotic chloroplasts in the sea slug, *Elysia chlorotica* (Gould): a case for horizontal gene transfer between alga and animal? *Biol. Bull.* 201, 34–44 (2001).
29. Pierce, S. K., Curtis, N. E., Hanten, J. J., Boerner, S. L. & Schwartz, J. A. Transfer, integration and expression of functional nuclear genes between multicellular species. *Symbiosis* (2007).
30. Rumpho, M. E. *et al.* Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene *psbO* to the photosynthetic sea slug *Elysia chlorotica*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 17867–17871 (2008).
31. Pierce, S. K. *et al.* Transcriptomic evidence for the expression of horizontally transferred algal nuclear genes in the photosynthetic sea slug, *Elysia chlorotica*. *Mol. Biol. Evol.* 29, 1545–1556 (2012).
32. Rumpho, M. E. *et al.* Molecular characterization of the Calvin cycle enzyme phosphoribulokinase in the stramenopile alga *Vaucheria litorea* and the plastid hosting mollusc *Elysia chlorotica*. *Mol. Plant* 2, 1384–1396 (2009).
33. Bhattacharya, D., Pelletreau, K. N., Price, D. C., Sarver, K. E. & Rumpho, M. E. Genome analysis of *Elysia chlorotica* egg DNA provides no evidence for horizontal gene transfer into the germ line of this kleptoplastic mollusc. *Mol. Biol. Evol.* 30, 1843–1852 (2013).
34. Schwartz, J. A., Curtis, N. E. & Pierce, S. K. FISH labeling reveals a horizontally transferred algal (*Vaucheria litorea*) nuclear gene on a sea slug (*Elysia chlorotica*) chromosome. *Biol. Bull.* 227, 300–312 (2014).
35. Cai, H. *et al.* A draft genome assembly of the solar-powered sea slug *Elysia chlorotica*. *Sci Data* 6, 190022 (2019).
36. Krug, P. J. *et al.* Integrative species delimitation in photosynthetic sea slugs reveals twenty candidate species in three nominal taxa studied for drug discovery, plastid symbiosis or biological control. *Mol. Phylogenet. Evol.* 69, 1101–1119 (2013).
37. Maeda, T. *et al.* Algivore or phototroph? *Plakobranchus ocellatus* (Gastropoda) continuously acquires kleptoplasts and nutrition from multiple algal species in nature. *PLoS One* 7, e42024 (2012).
38. Yamamoto, S. *et al.* Effects of photosynthesis on the survival and weight retention of two kleptoplastic sacoglossan opisthobranchs. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 93, 209–215 (2013).
39. Christa, G. *et al.* Plastid-bearing sea slugs fix CO2 in the light but do not require photosynthesis to survive. *Proc. Biol. Sci.* 281, 20132493 (2014).
40. Mitoh, S. & Yusa, Y. Extreme autotomy and whole-body regeneration in photosynthetic sea slugs. *Curr. Biol.* 31, R233–R234 (2021).
41. Middlebrooks, M. L., Pierce, S. K. & Bell, S. S. Foraging behavior under starvation conditions is

altered via photosynthesis by the marine gastropod, *Elysia clarki*. *PLoS One* 6, e22162 (2011).
42. Rauch, C., Christa, G., de Vries, J., Woehle, C. & Gould, S. B. Mitochondrial genome assemblies of *Elysia timida* and *Elysia cornigera* and the response of mitochondrion-associated metabolism during starvation. *Genome Biol. Evol.* 9, 1873–1879 (2017).
43. Bessho-Uehara, M. *et al.* Kleptoprotein bioluminescence: Parapriacanthus fish obtain luciferase from ostracod prey. *Sci Adv* 6, eaax4942 (2020).
44. Ireland, C., Faulkner, D. J., Solheim, B. A. & Clardy, J. Tridachione, a propionate-derived metabolite of the opisthobranch mollusc *Tridachiella diomedea*. *J. Am. Chem. Soc.* 100, 1002–1003 (1978).
45. Torres, J. P., Lin, Z., Winter, J. M., Krug, P. J. & Schmidt, E. W. Animal biosynthesis of complex polyketides in a photosynthetic partnership. *Nat. Commun.* 11, 2882 (2020).
46. Chan, C. X. *et al.* Active host response to algal symbionts in the sea slug *Elysia chlorotica*. *Mol. Biol. Evol.* 35, 1706–1711 (2018).
47. Laetz, E. M. J. & Wägele, H. How does temperature affect functional kleptoplasty? Comparing populations of the solar-powered sister-species *Elysia timida* Risso, 1818 and *Elysia cornigera* Nuttall, 1989 (Gastropoda: Sacoglossa). *Front. Zool.* 15, 17 (2018).
48. Donohoo, S. A., Wade, R. M. & Sherwood, A. R. Finding the sweet spot: sub-ambient light increases fitness and kleptoplast survival in the sea slug *Plakobranchus* cf. *ianthobaptus* Gould, 1852. *Biol. Bull.* vol. 238 154–166 (2020).
49. McLean, N. Phagocytosis of chloroplasts in *Placida dendritica* (Gastropoda: Sacoglossa). *J. Exp. Zool.* 197, 321–329 (1976).
50. Martin, R., Walther, P. & Tomaschko, K.-H. Phagocytosis of algal chloroplasts by digestive gland cells in the photosynthesis-capable slug *Elysia timida* (Mollusca, Opisthobranchia, Sacoglossa). *Zoomorphology* 132, 253–259 (2013).

A sea slug, *Plakobranchus ocellatus*, can do photosynthesis with food algal chloroplast without algae-derived horizontal gene transfer

Taro Maeda

Institute for Advanced Biosciences, Keio University

表紙の紹介

チラコイド膜の維持に関わるVIPP1タンパク質のオリゴマー構造

岡山大学資源植物科学研究所
坂本 亘

VIPP1 (Vesicle Inducing Protein in Plastid 1)は、最初、膜貫通領域を持たないが葉緑体の包膜とチラコイド膜に局在する分子量約 30 kDa のタンパク質として同定された[1]。21 世紀になって、シロイヌナズナとシアノバクテリアを用いた分子遺伝学的な解析から、vesicle を介したチラコイド膜形成に必須の因子として提唱された[2]。その後、光化学系タンパク質複合体の形成や包膜の維持など多様な膜機能への役割も報告され、その重要性とは裏腹に詳細な機能には理解が進んでいなかった[3]。

VIPP1 は 1 MDa 以上の大きなホモオリゴマーを形成することが in vivo および in vitro の解析で報告され、特にシアノバクテリアの VIPP1 タンパク質は大腸菌で発現させ精製するとリング状の構造がネガティブ染色でも観察されていた。今回、ドイツの４つの研究グループが共同して解明を進めたシアノバクテリア (*Synechocistis* sp. PCC6803)の VIPP1 オリゴマーの構造解明に私のグループも参加し、表紙に示すリング構造が明らかになった[4]。解明された構造では、14 から 18 分子のモノマーがリングを作り、さらに６層に重なって中央部が膨らんだ「鳥の巣」に似た構造が明らかになった（表紙には 16 分子のリング構造が示されている）。

注目すべきは、VIPP1 が持つ 5 つのαヘリックス (N 末端から H1, H2, H3, H4/5), H6)のうち、H2 と H3 がヘアピン構造を取り、H1 が垂直方向に位置するとともに H1 の疎水性残基をリングの内腔側に配向させて脂質を結合していることと、私たちの提唱した VIPP1 の持つ GTP 加水分解活性を担う新たなヌクレオチド結合部位が構造に見出されたことであった。興味深いことに、今回明らかとなった VIPP1 モノマーの折りたたみ構造は、細胞質で多胞体形成やオートファジーなど膜融合の実行因子である ESCRT-III とよく類似しており、膜の変形や維持に関わるリモデリング分子としての普遍性が示唆された[5]。VIPP1 が担うチラコイド膜の形成や維持の分子機構を今後明らかにする糸口になりそうである。

私のグループではシロイヌナズナを中心に、VIPP1-GFP 融合タンパク質の発現が *vipp1* 欠損変異を相補すること[6]、VIPP1-GFP のダイナミックな会合・脱会合がストレスに応答して生じること、VIPP1 がヌクレオチド加水分解活性を持つこと[7]、などを明らかにしてきた。今回解明されたリング構造と in vivo で観察される VIPP1-GFP（裏表紙の写真）の構造との関連性を調べ、チラコイド膜リモデリングの理解が進むことを期待したい。

文献

1. Li, H.M., Kaneko, Y. & Keegstra, K. Molecular cloning of a chloroplastic protein associated with both the envelope and thylakoid membranes. *Plant Mol. Biol.* **25**, 619–632(1994).
2. Kroll, D., Meierhoff, K., Bechtold, N., Kinoshita, M., Westphal, S., Vothknecht, U.C., Soll, J. & Westhoff, P. VIPP1, a nuclear gene of Arabidopsis thaliana essential for thylakoid membrane formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 4238–4242 (2001).
3. Vothknecht, U.C., Otters, S., Hennig, R. & Schneider, D. Vipp1: a very important protein in plastids?!. *J. Exp. Bot.* **63**, 1699–1712 (2012).
4. Gupta, T.K., Klumpe, S., Gries, K., Heinz, S., Wietrzynski, W., Ohnishi, N., Niemeyer, J., Spaniol, B., Schaffer, M., Rast, A., Ostermeier, M., Strauss, M., Plitzko, J.M., Baumeister, W., Rudack, T., Sakamoto,

W., Nickelsen, J., Schuller, J.M., Schroda, M. & Engel, B.D. Structural basis for VIPP1 oligomerization and maintenance of thylakoid membrane integrity. *Cell*, **184**, 3643-3659 (2021).
5. Liu, J., Tassinari, M., Souza, D.P., Naskar, S., Noel, J.K., Bohuszewicz, O., Buck, M., Williams, T.A., Baum, B. & Low, H.H. Bacterial Vipp1 and PspA are members of the ancient ESCRT-III membrane-remodelling superfamily. *Cell* **184**, 3660-3673 (2021).
6. Zhang, L., Kato, Y., Otters, S., Vothknecht, U.C. & Sakamoto, W. Essential role of VIPP1 in chloroplast envelope maintenance in Arabidopsis. *Plant Cell* **24**, 3695–3707 (2012).
7. Ohnishi, N., Zhang, L. & Sakamoto, W. VIPP1 involved in chloroplast membrane integrity has GTPase activity in vitro. *Plant Physiol*. 177, 328–338 (2018).

若手の会特別企画：
渡る世間（キャリアパス）に鬼はない！（キャリアパスレポート！）

第 1 回
「3 足のわらじで、Academia, Industry, Society を繋ぐ！」

広島大学 統合生命科学研究科 特任助教
Venture Café Tokyo Program Manager
CIC Tokyo Project Lead
株式会社イノカ 主任研究員
藤瀬 里紗（Lisa Fujise）

＜寄稿への想い＞

現在私は、Academia（広島大学）、Industry（株式会社イノカ）、Society（Venture Café Tokyo & CIC Tokyo）と、3 足のわらじを履いてそれぞれの世界の懸け橋になりたいと想い活動をしています。根源にあるのは、私の研究対象であるサンゴ礁を救うこと。そのためには、研究者の力だけではなく、産業や社会と手を取り合って取り組んでいくことが必要不可欠だと感じ、自らがそれぞれの世界に身を置くことで力を合わせて取り組んでいくためのしかけ作りをしています。私の歩んでいる道をシェアさせていただくことで、皆さんに研究と産業、社会の接点を少しでも感じて頂き、それぞれの世界が融合するきっかけになればと思います。

＜Academic Background～オーストラリアで博士号を取るまでの道のり＞

学部と修士は地元の広島大学で学びました。小さい頃から理科が好きで、特に顕微鏡を使った実験が好きだったのですが、自分の目には見えない世界にこんなにも綺麗な世界が広がっているんだと感動したことをよく覚えています。広島は瀬戸内海に面しており海が身近だったこともあり、海の研究がしたいなと漠然と思っていました。海 × 小さいもの = プランクトンだ！と思い、プランクトンの研究をしている研究室を訪ねた際にサンゴには植物プランクトン（褐虫藻）が共生していることを知り、なんと面白いんだと思いすぐにサンゴの研究をしようと決めました。

研究をすれば研究するほど、研究の面白さやサンゴ、そして褐虫藻の関係性の面白さを知り、博士課程ではサンゴ礁研究の最先端であるオーストラリアで学びたいという思いが強くなりました。海外の研究室を調べて先生にメールを送っていると、1 人の先生から返信があり、シドニーの大学で新しい研究室を持つから是非おいでと声をかけてもらい、迷うことなく留学の準備を始めました。シドニー工科大学の Climate Change Cluster[1)]というところで研究をしていたのですが、先生が 5 人いてそれぞれの先生に 10 人ぐらいの学生やポスドクがおり、けっこう大きな研究グループでした。グループで同じ研究室と実験室を使っていたので、グループ間の交流や共同研究もあってとてもいい環境で研究ができました。いろいろな国の人がいて、私のチームもオーストラリアだけでなく、イギリス、アメリカ、フランス、ニュージーランドと多様なメンバーの中でチーム一丸となり研究に取り組めたことは私の財産です。

オーストラリアで研究をしている際に、近年稀に見るサンゴの大規模な白化現象（水温上昇の影響でサンゴが白くなり死滅する現象）が起こり、グレートバリアリーフのかなりの範囲でサンゴが死滅してしまいました。それを目の当たりにし、研究者の力だけでは世界中のサンゴを救うことは難しいと痛感し、産業や社会の力が必要だと思ったことをきっかけに、繋ぎ手になるためにはビジネスの世界をまずは知らなければと思い、研究の世界から一歩踏み出したのです。

＜Professional Background～イノベーションエコシステム構築に向けた道のり＞

博士課程修了後に、大学のプログラムを利用して EnergyLab[2)]というクリーンエネルギー系のアクセラレーター（スタートアップ企業を支援する組織）でインターンシップをしました。その後そこで働くことになるのですが、その際に日本の環境エネルギー分野のスタートアップってどうなっているんだろう？と思い調べてみると、日本にはまだその分野のスタートアップが少なく、スタートアップを支援する環境も整っていないことが分かりました。その時の社長が、ないなら一緒にその環境を作ろう！と私の背中を押してくれ、日本に帰るきっかけとなりました。

その後、今働いているグローバルなイノベーションコミュニティである Venture Café Tokyo[3)]と出会い、また、その姉妹組織である日本最大級のイノベーションセンターである CIC Tokyo[4)]と出会ったことをきっかけに、ついに念願であった環境エネルギー分野のイノベーションコミュニティ[5)]を昨年立ち上げることができました。そこでは、スタートアップを創るところから集積、成長までをサポートするためにあらゆるリソースを集約する活動を行っています。立ち上げから半年が立ち、400 名近いメンバーが参加してくれ、大企業やスタートアップを中心に新しいプロジェクトがどんどん発足して、イノベーションの種がたくさん生まれています。このコミュニティを軸に、Academia, Industry, Society が交差し融合する場を作りたいと思い、素晴らしい技術シーズや研究成果を持っている研究者のみなさんにも参加していただきたいと思い、研究者コミュニティとタッグを組んだ企画（研究者大喜利）を行ったりもしています。

それに加えてサンゴの研究を続けたいと思い、私の母校である広島大学にお声をかけていただき特任助教を務めているとともに、サンゴスタートアップであるイノカ[6)]で主任研究員として目下研究継続中です。先日は、なんと世界初となるサンゴの人工産卵（閉鎖系環境下で産卵の時期をずらして）に成功[7)]することができ、研究と技術の融合による結果を生み出すことができました。

＜これからキャリアパスを描く皆さまへ＞

このように、自らが Academia, Industry, Society の世界に属することで、それぞれの世界を知り、懸け橋となれるように様々な活動を行っております。これからキャリアパスを描く皆さまには 3 つメッセージを送りたいと思います。

①いろいろなコミュニティに所属しよう！

私もそうでしたが、大学にいるとなかなか産業や社会との接点が少なく、研究をしていること（特に基礎研究であればなおさら）が産業や社会とどう繋がっているのかが見えづらくなってしまうことがあります。様々な目線で物事をとらえるためにはやはり自分が様々な視点を持てるようになることが大事だと思うので、今いる環境とはちょっと違ったコミュニティに属することをおすすめします！一歩外に足を踏み出してみると、思っても見ない世界が広がっており、思ってもみない人に出会えます。その世界で自分のやっていることを大きく活かせるかもしれません。ちょっと違った組み合わせこそが新しい世界を作っていくのです。

②Specialist であり、Generalist になろう！

研究者は Specialist だと思われがちですが、私は Generalist でもあると思っています。自分で研究テーマを見つけて、研究計画を立て、研究資金を獲得し、研究を随行し、そしてそれを論文や学会で発表する、それだけでも非常に多くのスキルを必要としているわけです。そのため、Specialist と Generalist の両面を活かす場を自らどんどん広げて行っていただければ研究者の可能性も大きく広がるのではないかと思っています。私も最初はコミュニティ構築をする上で自分が博士号を取ったことがどれだけ活きているのかなと疑問に感じたこともありました。でも、今は博士課程を持っているからこそ作れるコミュニティがあると実感しています。自分の Speciality をいろいろな場に活かすために Generalist としての素質も意識しブラッシュアップできると自分の可能性も大きく広がります。

③自分のやりたいことを発信し続けよう！

私が日本に帰ってきて、自分の作りたかった環境エネルギー分野のコミュニティを作るまでに 3 年かかりました。ただ、この 3 年間やりたいことを周囲に発信し続けたからこそ、一緒にやりたいと言ってくれる仲間がどんどん増えていき、やれる環境も整っていき実現したと思っています。自分のやりたいことは口に出さないと伝わらないし、行動に移さなければ次に進めません。やりたいなと思うことは周りにどんどん発信してみてください。必ず仲間になってくれる人が現れますし、その輪が

広がればできる範囲も大きく広がっていきます。私もみなさんが発信できる場をどんどん作って行きますので、ぜひそういう場を活用して発信していってくれると嬉しいです！

GBRの研究フィールド

GBRでサンゴ研究

VCTで毎週木曜日イベント

E&Eコミュニティ活動

イノカの水槽

参考 URL

1)　シドニー工科大学 Climate Change Cluster
https://www.uts.edu.au/climate-change-cluster
2)　EnergyLab
https://energylab.org.au/
3)　Venture Café Tokyo
https://venturecafetokyo.org/
4)　CIC Tokyo
https://jp.cic.com/
5)　環境エネルギー分野のイノベーションコミュニティ
https://jp.cic.com/news/announce/ee_community/
6)　イノカ
https://corp.innoqua.jp/
7)　世界初となるサンゴの人工産卵（閉鎖系環境下で産卵の時期をずらして）に成功
https://prtimes.jp/main/html/rd/p/000000026.000047217.html

集会案内

第 29 回「光合成セミナー2022：反応中心と色素系の多様性」の開催案内

期日：2022 年 6 月 25 日（土）午前 10 時から午後 6 時まで（予定）
場所：ZOOM での開催
開催の目的：光合成に関して、物理学、化学、生物学を融合した討論を行う。光合成の進化、物質変換、人工光合成などについても討論する。第一線の研究者に専門分野の解説をしていただくとともに、参加者の口頭・ポスター発表を行う。
協賛：日本光合成学会
内容：１．講演会　（詳細は未定）
　　２．口頭発表　（詳細は未定）
　　３．ポスター発表　（詳細は未定）
申込：発表申し込み締め切り　2022 年 6 月 6 日（月）
　　参加申し込み締め切り　2022 年 6 月 6 日（月）
参加費：無料
世話人：秋本誠志（神戸大学）、大岡宏造（大阪大学）、大友征宇（茨城大学）、出羽毅久（名古屋工業大学）、永島賢治（神奈川大学）、宮武智弘（龍谷大学）
申し込み・問い合わせ先：名古屋工業大学大学院 工学研究科 出羽毅久
(E-mail: takedewa@nitech.ac.jp, Tel: 052-735-5144)
プログラムおよび今後の案内などの情報は、下記ホームページに随時、掲載します。
http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~ohoka/photosyn_seminar/index.html
その他：光合成生物の進化も含めた光反応・色素系の基礎から応用までを幅広く議論し、異分野の学生・研究者が楽しく交流できる場を提供していきたいと考えています。また新しい研究テーマや方向性のヒントが得られることも期待しています。４月末頃までに口頭発表・ポスター発表の形式を決めたいと考えています。運営・内容等に関してご意見等がありましたら、遠慮無くメール（上記メールアドレス宛）をいただければ幸いです。

事務局からのお知らせ

★入会案内

本会へ入会を希望される方は、会費（個人会員年会費：￥1,500、賛助法人会員年会費：￥50,000）を郵便振替（加入者名：日本光合成学会、口座番号：00140-3-730290）あるいは銀行振込（ゆうちょ銀行、０１９店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290　名前：ニホンコウゴウセイガッカイ）にて送金の上、次ページの申し込み用紙、または電子メールにて、氏名、所属、住所、電話番号、ファックス番号、電子メールアドレス、入会希望年を事務局までお知らせください。

★会費納入のお願い

学会の運営は、皆様に納めていただいております年会費によりまかなわれております。当該年度の会費が未納の場合、光合成研究が送られてくる封筒に、会費未納が印字されています。ご都合のつくときに、会費を納入ください。１年間会費を滞納された場合、次年度よりお名前が会員名簿から削除され、光合成研究は届かなくなります。再入会される場合は、未納の分もあわせてお支払いいただきます。会費納入状況などにつきましては、ご遠慮なく事務局（sonoike@waseda.jp）までお問い合わせください。会員の皆様のご理解とご協力をお願い申し上げます。

日本光合成学会会員入会申込書

年　　月　　日

日本光合成学会御中

私は日本光合成学会の趣旨に賛同し、＿＿＿年より会員として入会を申し込みます。

[　] 内に会員名簿上での公開**非承諾**項目に×印をつけてください

振り仮名
氏名（**必須**）　漢字表記
ローマ字表記

[　] 所属

[　] 所属住所（学生の方は、なるべく研究室名までお願いします）
〒

会誌送付先住所（**必須**）
☐ 所属先住所と同じ　☐ 以下の住所に送付
[　] 〒

[　] 連絡先電話番号

[　] E-mail（**必須**）

☐ 会費納入済み（振り込み年月日）　年　　月　　日
☐ 会費振り込み予定（振り込み予定年月日）　年　　月　　日

個人会員年会費　1,500 円（会誌、研究会、ワークショップなどの案内を含む）
賛助法人会員年会費　50,000 円（上記と会誌への広告料を含む）
（会員資格は１月１日～１２月３１日を単位とします）
＊　複数年分の会費を先払いで振り込むことも可能です。その場合、通信欄に（何年度～何年度分）とお書き下さい。

連絡先
〒226-8503　横浜市緑区長津田町 4259 番地 R1-8
東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所　久堀徹 研究室内
日本光合成学会
TEL : 045-924-5234, FAX : 045-924-5268, ホームページ: http://photosyn.jp/
郵便振替口座　加入者名：日本光合成学会　口座番号：00140-3-730290
銀行振込の場合　ゆうちょ銀行、０１９店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290
名前：ニホンコウゴウセイガッカイ

日本光合成学会会則

第１条　名称及び所在地
本会は日本光合成学会（The Japanese Society of Photosynthesis Research）と称する。会の住所を会長の所属所在地とする。
第２条　目的
本会は光合成の基礎および応用分野の研究発展を促進し、研究者相互の交流を深めることを目的とする。
第３条　事業
本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催、学術誌の発行などの事業を行う。
第４条　会員
１．定義
本会の目的に賛同する個人は、登録手続を経て会員になることができる。また、団体、機関は、賛助会員になることができる。
２．権利
会員および賛助会員は、本会の通信および刊行物の配布を受けること、本会の主催する行事に参加することができる。会員は、会長を選挙すること、役員に選出されることができる。
３．会費
会員および賛助会員は本会の定めた年会費を納めなければならない。
第５条　組織および運営
１．役員
本会の運営のため、役員として会長１名、事務局長１名、会計監査１名、常任幹事若干名をおく。役員の任期は２年とする。会長、常任幹事は連続して二期を越えて再任されない。事務局長は五期を越えて再任されない。会計監査は再任されない。
２．幹事
本会の運営のため、幹事をおく。幹事の任期は４年とする。幹事の再任は妨げない。
３．編集委員会
本会の発行する学術誌の編集のため編集委員会を置く。編集委員会については別に定める。
４．常任幹事会
常任幹事会は会長と常任幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。常任幹事会は本会の運営に係わる事項を審議し、これを幹事会に提案する。事務局長と会計監査は、オブザーバーとして常任幹事会に出席することができる。
５．幹事会
幹事会は役員と幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。幹事会は、常任幹事会が提案した本会の運営に係わる事項等を審議し、これを決定する。
６．事務局
事務局をおき、本会の会計事務、サーバー管理および名簿管理を行う。
７．役員および幹事の選出
会長は会員の直接選挙により会員から選出される。事務局長、会計監査、常任幹事は会長が幹事の中から指名し、委嘱する。幹事は常任幹事会によって推薦され、幹事会で決定される。会員は幹事を常任幹事会に推薦することができる。
８．選挙管理委員会
本会の選挙を公正に実施するため、選挙管理委員会を置く。選挙管理委員会については別に定める。
９．関連組織
学会に、光合成に密接にかかわる関連組織を置くことができる。関連組織については別に定める。
第６条　総会
１．招集・構成・議長
総会は会長が招集し、出席会員をもって構成する。議長は出席会員から選出される。
２．報告事項
幹事会は総会において次の事項を報告する。
１）前回の総会以後に幹事会で議決した事項
２）前年度の事業経過

３）当年度および来年度の事業計画
３．承認事項
幹事会は総会において次の事項を報告あるいは提案し、承認を受ける。
１）会計に係わる事項
２）会則の変更
３）その他の重要事項
第７条　会計
本会の会計年度は 1 月 1 日から 12 月 31 日までとする。当該年度の経理状況は、総会に報告され、その承認を受ける。経理は、会計監査によって監査される。本会の経費は、会費および寄付金による。
付則
第１　年会費は個人会員 1,500 円、賛助会員一口 50,000 円とする。
第２　本会則は、平成 14 年 6 月 1 日から施行する。
第３　本会則施行後第一期の会長、事務局長、常任幹事にはそれぞれ、第５条に定める規定にかかわらず、平成 14 年 5 月 31 日現在の会長、事務局担当幹事、幹事が再任する。本会則施行後第一期の役員および幹事の任期は、平成 14 年 12 月 31 日までとする。
第４　本会則の改正を平成 21 年 6 月 1 日から施行する。
第５　本会則の改正を平成 30 年 5 月 27 日から施行する。
第６　本会則の改正を令和 3 年 5 月 29 日から施行する。

日本光合成学会の運営に関する申し合わせ
１．幹事会：
幹事は光合成及びその関連分野の研究を行うグループの主宰者である等、日本の光合成研究の発展に顕著な貢献をしている研究者とする。任期は 4 年とするが、原則として再任されるものとする。
２．事務局：
事務局長の任期は 2 年とするが、本会の運営を円滑に行うため、約 5 期（10 年）を目途に再任されることが望ましい。
３．次期会長：
会長の引き継ぎを円滑に行うため、次期会長の選挙は任期の 1 年前に行う。
４．常任幹事会：
常任幹事会の運営を円滑におこなうため、次期会長は常任幹事となる。

日本光合成学会役員選出に関する申し合わせ
平成 27 年 5 月 27 日　幹事会
平成 30 年 5 月 26 日　幹事会
１．選挙管理委員会
　本会の選挙を公正に実施するため、選挙管理委員会を置く。選挙管理委員 2 名は常任幹事会が幹事会に推薦し、決定する。選挙管理委員の任期は 2 年とし、再任を妨げない。選挙管理委員の互選により委員長を選出する。
２．会長　［会則第 5 条第 6 項］
（１）幹事および常任幹事による若干名の候補者の推薦方法
　幹事は、会長選挙に推薦する候補者としてふさわしい会員を 3 名連記で投票する。投票結果が上位の会員について、常任幹事会は、本人の意向を確認した上で、若干名を推薦候補者として決定する。選挙事務は事務局長が執り行う。
（２）会長選挙
　会長選挙の実施に当たっては、会員に推薦候補者を提示し、全会員による単記無記名投票を実施する。最高得票者を、次期会長とする。得票数が同数の場合は、抽選により決定する。選挙事務は選挙管理委員会が執り行う。

「光合成研究」　投稿規定

総則

1. 「光合成研究」（本報）は光合成に関連する諸分野における記事を掲載する。投稿論文として下記の 3 つのタイプを受け付ける。
「解説」：国際学術誌などに発表された該当分野の研究に関して近年の動向をより網羅的に広い視点で紹介する総説
「トピックス」：国際学術誌などに発表された研究内容で「解説」より狭い範囲の研究に焦点を当て紹介する総説
「研究紹介」：国際学術誌などの専門誌に掲載された原著論文の研究内容を原著論文の筆者が紹介する記事
2. 1 年に 3 回（4 月、8 月、12 月号）冊子体として発行し、電子版を光合成学会のホームページ上に公開する。
3. 原稿が E-mail において受付処理をされた日を以て受付日とし、編集委員が掲載可と判断した日を採択日とする。ただし原稿が本規定に合わない場合受け付けないことがある。
4. 投稿された原稿について、編集委員会は査読の可否を判断する。査読可と判断された原稿については、編集委員が適切な査読者を選んで査読を依頼し、査読結果に基づいて編集委員が掲載の可否を判断する。編集委員会が不適切と判断した場合には、査読なしで投稿された原稿を却下することがある。
5. 過去に査読を受けて掲載不可と判断された原稿を改訂して再投稿する場合には、編集委員と査読者宛に、各査読コメントを改訂稿にどのように反映したか、また反映しなかった場合はその理由を明確に記載し、投稿する原稿に添付する必要がある。
6. 掲載論文の著作権（冊子体および電子版）は日本光合成学会に属する。
7. 図やそこで使われる写真が過去論文として発表したものもしくは発表されたものであった場合は、それらの著作権問題を著者ら自身でクリアする必要がある。
8. 投稿に当たっては、全ての著者が投稿に同意し、かつ原稿の内容について責任を持たなければならない。また、全ての著者は代表著者が全著者を代表して原稿の掲載に関する事項を執り行うことに同意するものとする。

一般的事項

(1) Microsoft Word ファイルを基本とする。字数制限は設けないが、「解説」は A4 サイズ 6〜8 ページ、「トピックス」、「研究紹介」は 4 ページ程度を目安にする。1 ページ当りの文字数は、図表を含めて 1800 字程度。日本語は MS 明朝、英数字は Times New Roman とする。
(2) 本文の最初に、日本語および英語での論文題名、著者所属機関名、氏名を記載する。
(3) 句読点は「　、　」「　。　」に統一する。
(4) 300 字程度の日本語要旨を作成すること。
(5) 参考文献、表、図のキャプションは、本文の後ろにつける。
(6) 本文中に図の大体の位置を指示する。（図を貼り付けてもよい。）

参考文献

(1) 参考文献は、本文中の該当箇所に、右上付きで、1、1,2、1–3 のように示す。
(2) 参考文献の表記は下記のとおりとする。著者が 5 名を超える際は、筆頭著者を記載しそれ以降の著者は et al.とすること。

雑誌例

1. Berthold, D. A., Babcock, G. T. & Yocum, C. F. A highly resolved, oxygen-evolving photosystem II preparation from spinach thylakoid membranes. EPR and electron-transport properties. *FEBS Lett*. **134**, 231-234 (1981).
2. Nanba, O. & Satoh, K. Isolation of a photosystem II reaction center consisting of D-1 and D-2 polypeptides and cytochrome *b*-559. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**, 109-112 (1987).

書籍例

3. Diner, B.A. & Babcock, G.T. In *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions* (eds Ort, D.R. and Yocum, C.F.) 213-247 (Kluwer, 1996)

図／写真

(1) 図、写真はグレースケールでも良い場合には、グレースケールで作成する。カラーの図や写真を希望する場合には、カラーの図や写真を送付すること。図や写真の枚数によっては、編集委員会との相談により、PDF 版ではカラーになるが、冊子体ではグレーになる場合がある。
(2) jpg あるいは tiff 形式等で本文とは別ファイルとして送付すること。解像度は 300 dpi 程度とする。

日本光合成学会「光合成研究」編集委員会
2021 年 7 月 22 日改訂

幹事会名簿

秋本 誠志	神戸大学大学院理学研究科
粟井 光一郎	静岡大学学術院理学領域
池内 昌彦	東京大学大学院総合文化研究科
石北 央	東京大学大学院工学研究科
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科
伊藤 繁	名古屋大学
井上 和仁	神奈川大学理学部
伊福 健太郎	京都大学大学院農学研究科
梅名 泰史	名古屋大学シンクロトロン光研究センター
得平 茂樹	東京都立大学院理工学研究科
大岡 宏造	大阪大学大学院理学研究科
太田 啓之	東京工業大学生命理工学院
大友 征宇	茨城大学理学部
大政 謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科
小川 健一	岡山県農林水産総合センター生物科学研究所
小俣 達男	名古屋大学大学院生命農学研究科
垣谷 俊昭	名古屋大学
菓子野 康浩	兵庫県立大学理工学部
柏山 祐一郎	福井工業大学環境情報学部
金井 龍二	埼玉大学
神谷 信夫	大阪市立大学複合先端研究機構
木下 俊則	名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所
熊崎 茂一	京都大学大学院理学研究科
栗栖 源嗣	大阪大学蛋白質研究所
小池 裕幸	中央大学理工学部
小林 康一	大阪府立大学高等教育推進機構
小林 正美	筑波大学大学院数理物質科学研究科
坂本 亘	岡山大学資源生物科学研究所
佐賀 佳央	近畿大学理工学理学科
櫻井 英博	早稲田大学
佐藤 公行	岡山大学
佐藤 直樹	東京大学大学院総合文化研究科
鹿内 利治	京都大学大学院理学研究科
篠崎 一雄	理化学研究所植物科学研究センター
嶋田 敬三	東京都立大学
沈 建仁	岡山大学異分野基礎科学研究所
杉浦 美羽	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
杉田 護	名古屋大学遺伝子実験施設
鈴木 祥弘	神奈川大学理学部
園池 公毅	早稲田大学教育学部
高市 真一	東京農業大学生命科学部
高橋 俊一	琉球大学熱帯生物圏研究センター
高橋 裕一郎	岡山大学異分野基礎科学研究所
高林 厚史	北海道大学低温科学研究所
田中 歩	北海道大学低温科学研究所
田中 寛	東京工業大学化学生命科学研究所
田中 亮一	北海道大学低温科学研究所
谷口 光隆	名古屋大学大学院生命農学研究科
民秋 均	立命館大学総合理工学院
田茂井 政宏	近畿大学農学部生物機能科学科
都筑 幹夫	東京薬科大学生命科学部
出羽 毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
寺内 一姫	立命館大学生命科学部
寺島 一郎	東京大学大学院理学系研究科
鞆 達也	東京理科大学理学部
仲本 準	埼玉大学大学院理工学研究科
永島 賢治	神奈川大学
成川 礼	東京都立大学大学院理学研究科
南後 守	大阪市立大学大学院理学研究科
西田 生郎	埼玉大学大学院理工学研究科
西山 佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
野口 航	東京薬科大学生命科学部
野口 巧	名古屋大学理学研究科
長谷 俊治	大阪大学蛋白質研究所
林 秀則	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
華岡 光正	千葉大学大学院園芸学研究科
原 登志彦	北海道大学低温科学研究所
彦坂 幸毅	東北大学大学院生命科学研究科
久堀 徹	東京工業大学研究院化学生命科学研究所
日原 由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
福澤 秀哉	京都大学大学院生命科学研究科
藤田 祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
古本 強	龍谷大学農学部
牧野 周	東北大学大学院農学研究科
増田 真二	東京工業大学生命理工学院
増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
松浦 克美	東京都立大学都市教養学部
松田 祐介	関西学院大学理工学部
真野 純一	山口大学農学部
皆川 純	基礎生物学研究所
宮尾 光恵	東北大学大学院農学研究科
宮下 英明	京都大学大学院地球環境学堂
宗景 (中島) ゆり	関西学院大学生命環境学部
村田 紀夫	基礎生物学研究所
本橋 健	京都産業大学総合生命科学部
本橋 令子	静岡大学学術院農学領域
山本 善治	岐阜大学応用生物科学部
矢守 航	東京大学大学院農学生命科学研究科
和田 元	東京大学大学院総合文化研究科

編集後記

今号の表紙は「鳥の巣」のような構造をとる”VIPP1 (Vesicle Inducing Protein in Plastid 1)”の立体画像を岡山大学資源植物科学研究所の坂本さんに提供いただきました。次号で、詳しく解説していただきます。本編では、前号の表紙を飾った神戸大学の末次さんの光合成をやめた不思議な植物「菌従属栄養植物」についてのトピックス記事、第 11 回日本光合成学会年会学会賞受賞論文を 2 報、そして解説特集「盗葉緑体現象」2 報を掲載しています。

「光合成研究」では、研究紹介や解説記事を随時受け付けておりますので、奮ってご投稿ください。また表紙の写真や絵も募集していますので是非ご投稿ください。みなさまに様々な話題をお届けできるよう努めてまいります。本誌に関するご意見やご要望がございましたらご連絡ください。

編集長・宗景 ゆり（関西学院大学）

記事募集

日本光合成学会では、会誌に掲載する記事を会員の皆様より募集しています。募集する記事の項目は以下の通りです。

- トピックス：光合成及び関連分野での纏まりのよいトピックス的な記事。
- 解説：光合成に関連するテーマでの解説記事。
- 研究紹介：最近の研究結果の紹介。特に、若手、博士研究員の方からの投稿を期待しています。
- 集会案内：研究会、セミナー等の案内。
- 求人：博士研究員、専門技術員等の募集記事。
- 新刊図書：光合成関係、または会員が執筆・編集した新刊図書の紹介。書評も歓迎します。

記事の掲載を希望される方は、編集長の宗景（munekage@kwansei.ac.jp）までご連絡ください。

「光合成研究」編集委員会

編集長　　宗景 ゆり（関西学院大学）
編集委員　　高林 厚史（北海道大学）
編集委員　　古本 強（龍谷大学）
編集委員　　高橋 俊一（琉球大学）

日本光合成学会　2022年度役員

会長　　久堀 徹（東京工業大学）
事務局長　　園池 公毅（早稲田大学）
事務局　　高林 厚史（北海道大学）　　IT担当
常任幹事　　菓子野 康浩（兵庫県立大学）
常任幹事　　矢守 航（東京大学）
常任幹事　　藤田 祐一（名古屋大学）
常任幹事　　沈 建仁（岡山大学）
常任幹事　　彦坂 幸毅（東北大学）
常任幹事　　野口 航（東京薬科大学）
常任幹事　　増田 真二（東京工業大学）　年会 2022年, 光生物学協会
常任幹事　　粟井 光一郎（静岡大学）　年会 2021年, WEB担当
常任幹事　　成川 礼（東京都立大学）　年会 2021年, 前編集長
常任幹事　　宗景 ゆり（関西学院大学）　編集長

会計監査　　小俣達男（名古屋大学）
選挙管理委員　和田 元（東京大学）・増田 建（東京大学）

光合成研究　第 32 巻　第 1 号　（通巻 93 号）　2022 年 4 月 30 日発行

日　本　光　合　成　学　会
〒226-8503　横浜市緑区長津田町 4259 番地 R1-8
東京工業大学 科学技術創成研究院 化学生命科学研究所　久堀徹 研究室内
TEL : 045-924-5234
FAX : 045-924-5268
e-mail : jspr@photosyn.jp
ホームページ : http://photosyn.jp/
郵便振替口座　加入者名：日本光合成学会　口座番号：00140-3-730290
銀行振込の場合　ゆうちょ銀行、０１９店 (ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290
　　名前：ニホンコウゴウセイガッカイ