葉緑体のタンパク質 輸送機構について

・シアノバクテリアの内共生から始まったユニークな進化

中井 正人 Masato Nakai

大阪大学 蛋白質研究所 准教授

植物や真核藻類に特有の葉緑体は、光合成などさまざまな代謝を担うオルガネラである。多様な代謝を支える3,000 種類にもおよぶ葉緑体タンパク質の大部分は核ゲノムにコードされ、細胞質ゾルで合成された後、葉緑体へ運ばれる。 葉緑体へのタンパク質輸送装置は、シアノバクテリアの内共生成立後、緑藻や陸上植物の出現に伴ってユニークに進 化してきた事が明らかになりつつある。

1 葉緑体が担う多様な役割

葉緑体。その名前は、真核細胞を形 成するオルガネラの中でも、ミトコン ドリアと並んで良く知られている方で はなかろうか。 葉緑体といえば光合成, 光合成といえば炭素固定。多くの一般 読者の皆さんも、これらのキーワード は連鎖的にすぐ頭の中に浮かんでくる であろう。それぐらい葉緑体が光合成 をおこない二酸化炭素を固定している ことは、学校でも習うポピュラーな事 柄である。だが実際は、葉緑体が担う のは光合成機能だけではない。光合成 で得たエネルギーを利用して, 脂質代 謝や窒素代謝, 硫黄代謝, アミノ酸の合

成など,多様な役割を果たしている1)。 ヒトを含めて動物は、自分では合成で きない必須アミノ酸を摂食によって得 ているが、その大元をたどっていけば、 植物の葉緑体が合成したアミノ酸に端 を発する部分も多い。葉緑体は、文字 どおり, 植物では緑葉組織で目立つオ ルガネラであるが、根など非光合成組 織にも光合成機能を持たないが葉緑体 に相当するオルガネラが存在し、重要 で多様な代謝活動をおこなっている1)。 根の白色体=ロイコプラストやイモな ど貯蔵組織でデンプンを蓄積するアミ ロプラスト, 花弁の有色体=クロモプ ラストなどがこれにあたる。総称して 色素体=プラスチドとよばれ、植物に

とって必要不可欠なオルガネラである。

2 葉緑体の進化的起源

よく教科書には、図1のような、お なじみの円盤状の葉緑体の構造の模式 図が書かれている。光学顕微鏡でも, 緑葉をのぞいてみると葉肉細胞中に顆 粒状に存在する葉緑体を比較的容易く 観察することができる。一つの細胞に 多数の葉緑体がひしめき合っているさ まは、まるで、細胞に入り込んで増殖 中のバクテリアのようである。ある意 味で、まさに、そのとおりである。葉 緑体の起源は、酸素発生型の光合成を

【関連する領域】

組 織:大学および研究所(生物学系/農学系)

業 界:園芸、農業、バイオテクノロジー

学 科:生物,化学

学 問:生物学、農学、植物学、バイオテクノロジー

情報源:緑藻および植物のゲノムデータベース (http://pgdbj.jp/ index.html?ln=ja, https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/

portal.html)

営んでいたシアノバクテリアが、内共 生したものが進化を遂げたものである (図2)。地球の誕生がおよそ46億年前。 最初の原核生物-バクテリアの誕生が 40億年ほど前。そしてその後の地球環 境を大きく変えた酸素発生をおこなう シアノバクテリアが誕生したのが32億 年ほど前。αプロテオバクテリアを内 共生によりミトコンドリアとして獲得 した最初の真核生物の誕生が20億年 ほど前。そしてこのミトコンドリアを

獲得した真核生物の1種に、シアノバ クテリアの内共生が成立したのが10数 億年前と推定されている。細胞の中で、 葉緑体は分裂によってのみ増えて娘細 胞に受け継がれ、まったく新たに作り 出されることはない (葉緑体の連続 性)。気が遠くなるような時間の流れ の中で、非常に稀に1度だけ成立しえ たシアノバクテリアの内共生が、実は その後のほぼすべての真核藻類や植物 の葉緑体の起源なのである。上で述べ

た酸素発生型光合成をはじめとして葉 緑体や他の色素体が担っている機能の 多くは、この内共生したシアノバクテ リアが有していた機能に由来するとこ ろが大きい。

3 葉緑体の多様な機能を担う タンパク質

では, 葉緑体の多様な機能を支えて いるタンパク質は何種類ぐらいあるの であろうか? さまざまな植物のゲノ ム情報やプロテオームの解析から、お よそ3.000種類程度はあるであろうと 見積もられている1)。一般的な植物の 全遺伝子数が2~3万であることを考 えると、細胞内で作られるタンパク質 のおよそ1割程度が葉緑体で機能して いることになる。では、これらのタン パク質自身はどこで作られるのであろ うか? 実は、葉緑体には内共生した シアノバクテリアがもともと持ってい たゲノムに由来する環状ゲノムが残っ ている(図2)。しかし、この葉緑体ゲ ノムには、植物の場合およそ100程度

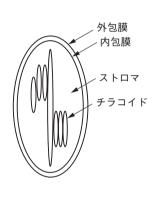




図1 葉緑体の模式図(左)と光学顕微鏡で観察したシロイヌナズナの葉肉細胞(右)

一つひとつの葉肉細胞に多数の顆粒状の葉緑体が詰まっている。バーは50ミクロン。

宿主となった直核生物 酸素発生型光合成を営む直核藻類 核への遺伝子の転移" シアノバクテリア 葉緑体 葉緑体ゲノム シアノバクテリアの チラコイド ゲノム 内包膜 チラコイド 外包膜 宿主の核ゲノム 細胞質ゾルで合成される タンパク質膜透過装置 細胞内共生の成立 葉緑体タンパク質前駆体 トランジット・ ペプチド 葉緑体タンパク質を特異的に 運び入れる分子機構の確立 ミトコンドリア

図2 シアノバクテリアの内共生を起源とする葉緑体の誕生

内共生体ゲノムの遺伝子の核への転移に伴い、細胞質ゾルで合成される葉緑体タンパク質を葉緑体へと運び込む輸送装置が葉緑体の外包膜と内包膜に進化してきた。 「科研費 NEWS (2014) Vol.1, p.14 より改変]

のタンパク質をコードする遺伝子が残 されているにすぎない。内共生が成立 した後,数千種類あった内共生体ゲノ ム上の遺伝子のかなりのものが宿主細 胞の核ゲノムへと移行した。核ゲノム には、進化の過程で、さらに新たに葉 緑体タンパク質の遺伝子が加わって, 現在の植物の核ゲノムにコードされる 葉緑体タンパク質が3,000種類程度に なったということである。これにより, 細胞がおこなう他の代謝活動と葉緑体 タンパク質の発現とを同じ核内で協調 的に制御可能になり、また、核ゲノム 情報とともに次世代に安定に受け継ぐ ことができるようになった。一方で、 いまだ葉緑体ゲノムを保持し、葉緑体 内でタンパク質合成をおこなっている 理由は、外から運ばれにくい疎水性膜 タンパク質や、光合成や炭素固定のた めに大量に必要とされるタンパク質を 葉緑体内部で合成したほうが、トータ ルの収支でいえば有利ということなの かもしれない。

4 核ゲノムにコードされる 葉緑体タンパク質の 葉緑体への輸送

核ゲノムにコードされる3,000種類の葉緑体タンパク質はどのように最終的に葉緑体の中で機能できるのであろうか? 核ゲノムにコードされるタンパク質は、局在場所がどこであれ、まず核内でmRNAに転写され、それが細胞質ゾルに運ばれ、そこに存在するリボソームによりタンパク質に翻訳される。つまり、核ゲノムにコードされる3,000種類の葉緑体タンパク質も合成されるのは葉緑体の外、細胞質ゾルである。ここに、細胞生物学者が長年解明に取り組んでいる「細胞内タンパク質輸送」の問題が生じてくる2。それ

は大きく三つの問題に分けられる。「細胞質で合成される雑多なタンパク質の中で,葉緑体タンパク質だけが,どうやって葉緑体を見分けて(ミトコンドリアなど他のオルガネラと区別して),葉緑体へと標的化(ターゲティング,あるいは局在化)されるのか?」、「葉緑体に標的化されたタンパク質は,どうやって葉緑体を包んでいる生体膜(葉緑体の場合は外包膜と内包膜とよばれる二重膜)を通過して内部に運ばれるのか?」、そして、「葉緑体に運ばれたタンパク質が,葉緑体内でそれぞれが機能すべき場所にどうやって配置決めされるのか?」という疑問である。

5 葉緑体タンパク質の 局在化シグナル

歴史的には,「細胞内タンパク質局在 化」の解明は、分泌されていくタンパ ク質のアミノ末端に「シグナル配列」と 名づけられた局在化のための情報がア ミノ酸配列として書き込まれ、これを 認識し分泌をおこなう分子装置が細胞 側には存在するという1975年の「シグ ナル仮説」の提唱を契機として爆発的 に進展した。この説を唱えた Günter Blobel は、1999年にノーベル医学生理 学賞を受賞し、 さらにこれから発展す る形で生まれた、分泌されるタンパク 質が膜小胞を経由して輸送されていく 分子装置の発見で、Randy Schekman やJames Rothmanらが2013年にノー ベル医学生理学賞を受賞している。「シ グナル仮説」は、分泌されるタンパク 質だけでなく、ミトコンドリアやペル オキシソームなど, 真核細胞内のさま ざまなオルガネラに輸送されるタンパ ク質にも適用される2)。つまり、各オ ルガネラに局在するタンパク質には, それぞれ固有の行き先がアミノ酸配列

上に「局在化シグナル(配列)」として 書き込まれており、それを認識するリ セプター分子が、オルガネラの表面に は存在する。さまざまなオルガネラへ の「局在化シグナル」の決定が、1980 年代には盛んにおこなわれた。葉緑体 の場合も多くの研究がなされた結果, 細胞質ゾルで合成される葉緑体タンパ ク質のアミノ末端には、セリンやスレ オニンに富み、酸性アミノ酸をあまり 含まない(したがって全体としては塩 基性の)数十から100アミノ酸残基程 度の配列が存在し、これが、葉緑体へ の「局在化シグナル」として機能する ことが示された1)3)。多くの場合、「局在 化シグナル」は、葉緑体内へと輸送さ れた後, プロテアーゼにより切断除去 されるため、トランジット配列(ある いはプレ配列)とよばれ、最終的に葉 緑体内で機能する成熟体タンパク質分 子には残らない。合成後のトランジッ ト配列を付加されたものは前駆体とよ ばれる。上述したように、内共生した シアノバクテリアに由来する葉緑体遺 伝子のコピーが核ゲノムに転移した後, 偶然に、アミノ末端に「局在化シグナ ル」様の配列が遺伝子レベルで付加さ れ、その発現産物が葉緑体へと運ばれ 機能できるようになると, 葉緑体ゲノ ムからその遺伝子が失われ得た、とい う進化の図式が見えてくる。「局在化シ グナル」の獲得は、個々の遺伝子が転 移した後、独立に起きたため、まった く同じ「局在化シグナル」が付加され ていることはなく、アミノ酸配列の性 質に共通点があるのみである。

6 葉緑体内に運ばれた タンパク質の配置を決める メカニズム

「局在化シグナル」を認識するリセプ

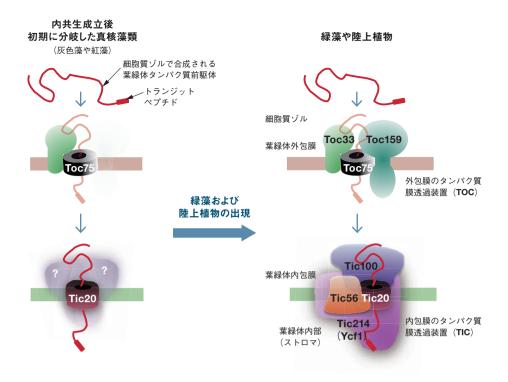


図3 葉緑体内包膜と外包膜のタンパク質膜透過装置の模式図

シロイヌナズナで見いだされる TOC および TIC のコンポーネントは,中心となる Toc75 や Tic20 を除いて,緑藻の出現に伴い大きく進化したと考えられる 「科研費 NFWS(2014)Vol.1 p.14より改変]。

ターに認識された葉緑体タンパク質が. どうやって葉緑体を外包膜および内包 膜とよばれる二重の生体膜を通過して, 内部に運ばれるかは次節に記すが、葉 緑体の中まで運ばれたタンパク質は、ど うなるのだろう。たとえば、光合成で 光エネルギーを捕らえる分子装置、光 化学系は葉緑体内の内膜系であるチラ コイド膜まで運ばれる必要がある。葉 緑体内でのタンパク質の輸送メカニズ ムは、シアノバクテリア時代の輸送メ カニズムが、ほぼそのまま残って使わ れていることが明らかにされている¹⁾。 それは, 他のバクテリアにも広く存在 する, SEC輸送装置, TAT輸送装置, SRP依存性輸送装置であり、基本的に 原核生物型の輸送装置である。チラコ イドに運ばれるタンパク質には、アミ ノ末端のトランジット配列に引き続い て, これら原核生物型の輸送装置に認 識されるシグナル配列が存在し、最終

的に機能する場所へと運ばれることに なる。

7 葉緑体包膜における タンパク質膜透過の 分子メカニズム

では、葉緑体を包む二重の包膜を、細胞質ゾル側から、葉緑体タンパク質の前駆体はどうやって通過して運ばれるのだろうか? 葉緑体の包膜も、他の生体膜と同じく脂質二重層からなり、基本的には低分子や高分子に対するバリアーとなる。細胞は、バリアーとしての機能を保ちつつ、タンパク質のような高分子を、しかも、アミノ酸配列も長さも千差万別の分子を特異的に透過させるタンパク質膜透過装置(トランスロコンとよぶ)を進化させてきた。進化的由来が異なるオルガネラ膜には、

それぞれ特有のトランスロコンが進化 してきている。トランスロコンには、基 本的には運ぶべきタンパク質を認識す るリセプター、実際にタンパク質が膜 を透過していくチャネル、そして膜透 過を駆動するエネルギーを与えるモー ター, の各成分が必要である。葉緑体 を囲む包膜の場合も、上に述べてきた ような進化的背景から、シアノバクテ リアの内共生成立後に、ユニークなト ランスロコンを進化させてきたことが わかってきた (図2, 図3)。 実は, 1990 年代後半から始まった葉緑体トランス ロコンの構成タンパク質の同定の試み は、2000年代後半にかけて多数の候補 タンパク質が報告され、いったん完了 したかに見えた¹⁾³⁾。しかし、筆者ら のグループは、これらの歴史的な報告 データを見直し, 生化学的証拠を積み 重ねることで、モデルを大幅に書き換 えることに成功した3)~5)。詳しい経緯

は省くが、単離葉緑体に前駆体タンパク質を試験管内で輸送させ輸送中間体を作成し、これを高度に精製することで、外包膜、内包膜それぞれにおいて前駆体タンパク質が通るトランスロコンの構成因子を一括同定したわけである。その結果、外包膜のトランスロコンTOCは、これまで報告されていたものとよく一致していたが、内包膜のTICは中心因子以外はすべて新奇なタンパク質で構成されていることがわかった。さらにこの精製により、ATPのエネルギー依存的に膜透過を駆動するモータータンパク質の同定にも成功している(未発表)。

8 葉緑体包膜のタンパク質膜 透過装置の進化

外包膜のTOCは、Toc159とToc33 という二つのリセプターと, 膜透過チャ ネルのβバレル型膜タンパク質のToc75 からなる(図3)。リセプタータンパク 質の進化的由来は不明だが、Toc75は シアノバクテリア含め多くのバクテリ アの外膜にあり細胞内部で合成された タンパク質の分泌や外膜へのアセンブ リーに関与する Omp85 タンパク質のホ モログである。このことは、シアノバ クテリアの内共生成立後に、葉緑体が、 原核細胞内部で合成されたタンパク質 の分泌や外膜へのアセンブリーに使わ れていたOmp85を、タンパク質の通る 向きは逆向きに、葉緑体内部へのタン パク質の通り道として利用したことを 示している。内包膜のTICの場合はど うであろう。チャネルの中心因子であ るTic20もまた、そのホモログがシアノ バクテリアに見いだされており、おそ

らく低分子か何かの輸送に関わってい たであろうこの分子を、葉緑体タンパ ク質の運び込みに利用したことがわか る⁴⁾。この他のTIC構成因子のうち、二 つは、シアノバクテリアに明確なホモ ログを見いだすことができず、緑藻や 陸上植物の進化に伴って新たに加わっ た因子と考えられる。残り一つのTIC構 成因子Tic214は、葉緑体ゲノムのycf1 という長い間機能未知であった必須遺 伝子にコードされたタンパク質である ことがわかった⁴⁾⁶⁾。内共生したシアノ バクテリアのゲノム由来の遺伝子であ ると考えられるが、藻類や葉緑体の進 化に伴って、非常に大きく変化してき たことがわかりつつあり興味深い。

や陸上植物の出現や、植物の多様化に伴って、大きく変化してきたことが明らかにされつつある(図3)。逆にいえば、輸送装置の変化が、藻類や植物の多様化の原動力の一つとなってきた可能性も大いに考えられる。今後は、このことを検証するため、より多様な藻類や植物で葉緑体タンパク質輸送の分子機構が、ゲノム情報による配列比較だけではなく、生化学的手法を用いて決定される必要があるだろう。そうすることで、地球上生命にとって必要不可欠のオルガネラである葉緑体の進化の不思議の解明に、また一歩近づくことができると期待できる。

9 藻類や植物の進化と 結びついた葉緑体タンパク質 輸送機構の変化

---今後の展望

私たちのグループでは、主としてモデル植物シロイヌナズナを用いて、葉緑体のタンパク質輸送機構の研究をしてきた。同定された輸送装置のコンポーネントを、近年急ピッチで進むモデル生物以外の多くの藻類、植物のゲノム情報と照らし合わせることにより、特に、葉緑体包膜の輸送装置が、緑藻類

「文献]

- Jarvis, P. & López-Juez, E. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 14, 787–802, doi:10.1038/nrm 3702 (2013).
- Wickner, W. & Schekman, R. Science. 310, 1452–1456 doi:10.1126/science. 1113752 (2005).
- Nakai, M. Biochim. Biophys. Acta. 1847, 957–967, doi:10.1016/j.bbabio.2015.02.011 (2015).
- Kikuchi, S., Bédard, J., Hirano, M., Hirayabashi, Y., Oishi, M. et al. Science, 339, 571–574, doi:10.1126/science.1229262 (2013).
- 5) 菊地真吾, 平野美奈子, 井出徹, 中井正人.細胞工学, 32(8), 882-883 (学研メディカル秀潤社, 2013).
- 6) Nakai, M. *Plant Cell*, **27**, 1834–1838, doi:10. 1105/tpc.15.00363 (2015).



中井 正人 Masato Nakai

大阪大学 蛋白質研究所 准教授

略 歴:理学博士。大阪大学理学研究科にて学位取得後, 1996年より現職。

専門:植物の分子細胞生物学および生化学・タンパク質化学。

受賞歴:1990年に井上学術奨励賞,2013年にアメリカRebeiz財団による年間最優秀論文賞

受賞.