

## 脂質代謝が印す葉緑体の進化と多様性

小林 康一<sup>1</sup>, 吉原 晶子<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大阪府立大学・高等教育推進機構

<sup>2</sup>大阪府立大学・自然科学類・生物科学課程

〒599-8531 大阪府堺市中区学園町 1-1

### Evolution and diversity of chloroplasts from the viewpoint of lipid metabolism

Koichi Kobayashi<sup>1</sup>, Akiko Yoshihara<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Liberal Arts and Sciences, Osaka Prefecture University,

1-1 Gakuen-cho, Naka-ku, Sakai, Osaka 599-8531, Japan

<sup>2</sup>Department of Biological Sciences, School of Science, Osaka Prefecture University,

1-1 Gakuen-cho, Naka-ku, Sakai, Osaka 599-8531, Japan

Keywords: Chloroplast, Cyanobacteria, Endosymbiosis, Glycolipid

DOI: 10.24480/bsj-review.12a4.00197

#### 1. はじめに

細菌から原生生物, 植物, 動物に至るまで, 全ての生物の細胞は膜で覆われており, 真核生物では, 細胞の中にも, 核や小胞体, ミトコンドリアなど, 膜で区画化されたオルガネラが数多く存在している。生物が生物として成り立つためには, 自己が膜によって外界と区切られている必要があり, オルガネラがオルガネラとして存在するためには, (液滴は例外として) 固有の区画が「境界」である膜によって他の区画と隔てられている必要がある。生体膜を構成する主成分は, 両親媒性の極性脂質である。極性脂質は水溶液中で脂質二重層を形成し, その層にタンパク質などが結合することで, 機能的な生体膜が作り上げられる。このことから, 脂質二重層を主とした生体膜による境界作りが, 生物やオルガネラの発生と維持の要であると言え, それらを構成する脂質分子もまた, 生命やオルガネラの起源と密接に関わっているのは間違いない。さらに, 生物種を問わず, 脂質二重層は単に境界として働くだけでなく, さまざまな反応の場として機能することもよく知られており, 生命の根源を成す要素の一つであると言える。

シアノバクテリアと植物の葉緑体は, 片や自律的に生存する原核生物であり, 片や真核細胞のオルガネラということで, 本来であれば異なる階層に位置するが, 細胞内共生説の立場からみれば, これらは親戚関係にあり, 光合成の研究面からみれば, 同じ酸素発生型光合成を行う反応系ということで, 同列で語られることも多い。それでは, 生物やオルガネラの境界を作る, 膜脂質の視点からみるとどうであろうか。本稿では, 膜を作る脂質の合成系や役割, 進化といった視点から, 生物であるシアノバクテリアとオルガネラである葉緑体の「間」に

何が存在するのかをみていきたい。

## 2. 葉緑体脂質の特殊性

生物はさまざまな脂質分子種を合成し利用するが、多くの生物に共通するのは、リン脂質を生体膜の主要構成成分として用いる点である。植物細胞も、古くさかのぼれば動物細胞と同一の祖先に由来し、植物細胞の細胞膜やミトコンドリア膜は、動物細胞と同様にリン脂質を主成分とする(図1)。しかし、植物独自のオルガネラである葉緑体(色素体)は例外であり、膜脂質のほとんどを糖脂質が占める(図1)。

色素体は外包膜と内包膜の二重の膜で包まれており、葉緑体はさらに、光合成反応の場であるチラコイド膜を内部に形成する。チラコイド膜の脂質の約50%は、ジアシルグリセロール(DAG)にガラクトースが1分子結合した、モノガラクトシルジアシルグリセロール(MGDG)である(図2)。また、ガラクトースを2分子もつジガラクトシルジアシルグリセロール(DGDG)も多く、チラコイド膜の脂質の約80%はこれらの2種のガラクト脂質で作られている。それらに加え、スルホキノボシルジアシルグリセロール(SQDG)という硫黄を含む糖脂質が約10%あり、リン脂質は、残りの10%を占める程度である。そのリン脂質の大部分はホスファチジルグリセロール(PG)であり、この脂質も他の生体膜ではマイナーな存在である。このように、チラコイド膜は非常にユニークな脂質で構成されており、植物細胞の他の生体膜と大きく異なる。また、葉緑体の包膜も、チラコイド膜にはないホスファチジルコリンが多く存在する以外は、チラコイド膜と似たような脂質組成となっており、非光合成組織の色素体の膜脂質組成も同様である(図1)。

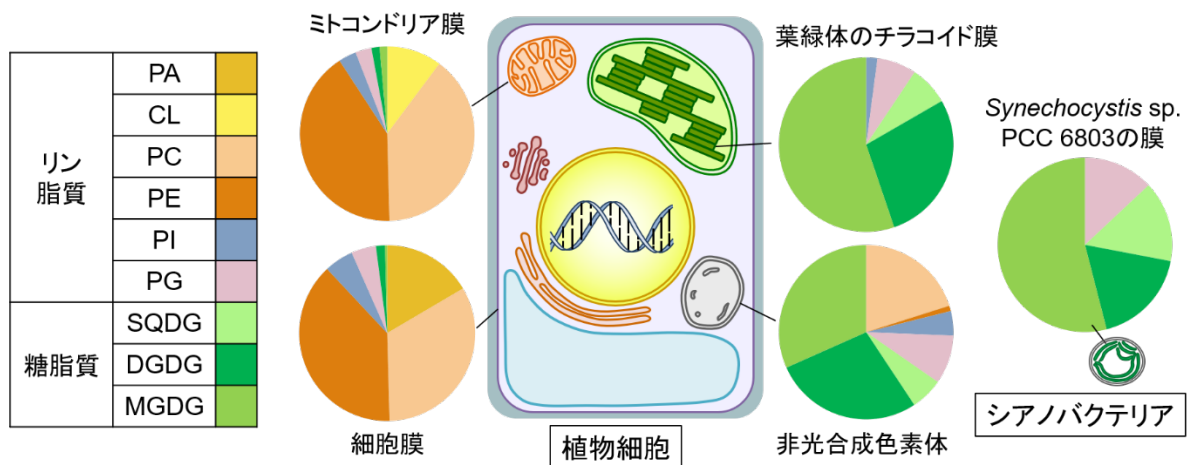


図1. 植物のオルガネラとシアノバクテリアの膜の脂質組成の比較

ホウレンソウから単離された葉緑体のチラコイド膜 (Dorne *et al.*, 1990), カリフラワー花芽の色素体包膜 (Alban *et al.*, 1998), シロイヌナズナのミトコンドリア膜 (Jouhet *et al.*, 2004) およびリュウトウの細胞膜 (Yoshida & Uemura, 1986), シアノバクテリアの *Synechocystis sp. PCC 6803* (Wada & Murata, 1989) の脂質組成を示す。PA; ホスファチジン酸, CL; カルジオリピン, PC; ホスファチジルコリン, PE; ホスファチジリエタノールアミン, PI; ホスファチジルイノシトール, PG; ホスファチジルグリセロール, SQDG; スルホキノボシルジアシルグリセロール, DGDG; ジガラクトシルジアシルグリセロール, MGDG; モノガラクトシルジアシルグリセロール。

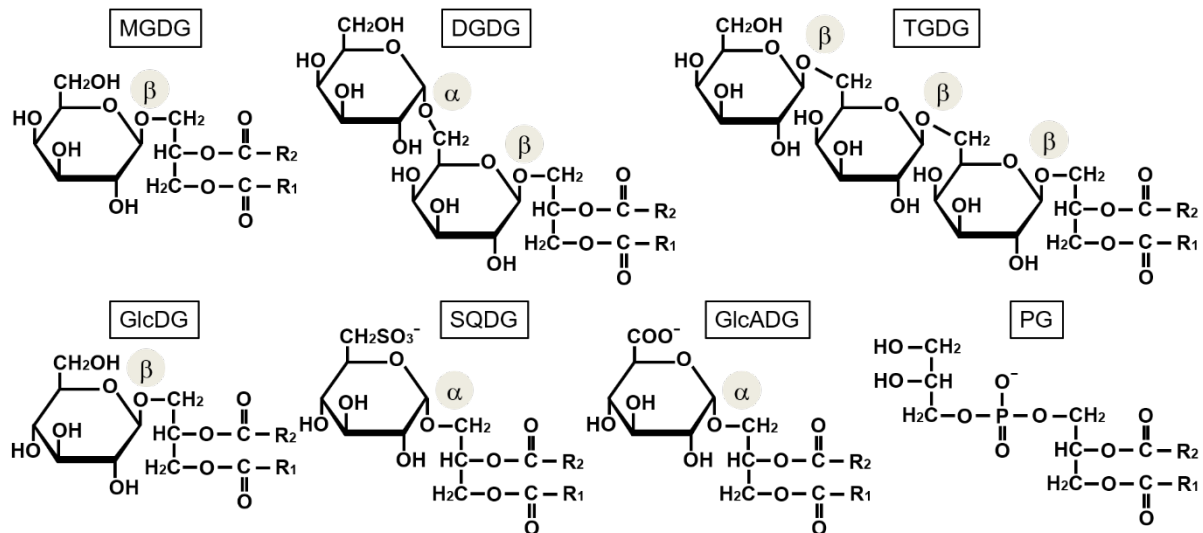


図 2. 葉緑体に特徴的な脂質の構造

R1, R2; 炭素長 15 もしくは 17 のアルキル鎖。α; α配位, β; β配位。

このように、色素体は非常にユニークな脂質で構成されており、植物細胞の他の生体膜と大きく異なる。なぜ、植物細胞内で、色素体だけがこのような特殊な脂質組成をもつのだろうか。その疑問に対する答えを葉緑体の細胞内共生起源に求める向きも多いが、次章でみるように、そのような単純な話ではないことが分かってきている。

### 3. 葉緑体とシアノバクテリアの糖脂質合成における共通点と相違点

シアノバクテリアのチラコイド膜は、MGDG, DGDG, SQDG, PG の 4 つの脂質で構成されており、その割合は植物のチラコイド膜に近い (図 1)。葉緑体の起源は細胞内共生したシアノバクテリアであるとする考えが広く浸透しており、同様に、葉緑体特有の脂質組成も、シアノバクテリアに由来すると考えるのが自然であろう。もし、葉緑体脂質の合成を担う植物の酵素遺伝子がシアノバクテリアの一次共生由来であれば、それを強く裏付けることとなり話は簡単なのだが、実際は、かなり異なることが明らかになっている。

まず、MGDG の合成経路が、植物とシアノバクテリアで違う。シアノバクテリアは、UDP-グルコースと DAG からモノグルコシルジアシルグリセロール (GlcDG, 図 2) を最初に作り、その極性頭部のグルコースをガラクトースに異性化することで、MGDG を合成する (図 3)。この糖転移反応と異性化反応は、それぞれ MgdA と MgdE という二つの酵素により行われる (Awai *et al.*, 2014, 2006)。一方で、植物は、糖の供与体として UDP-ガラクトースを用いることで、一段階の反応で MGDG を合成する (図 3)。そのため、植物は、シアノバクテリアの MgdA とは起源のまったく異なる酵素 (MGD1) を糖転移反応に用いる (Shimajima *et al.*, 1997)。また、植物は MgdA も MgdE も持たない。分子系統樹解析によると、植物の MGD1 遺伝子は緑色光合成細菌の持つ遺伝子に由来し、進化距離の推定から、一次共生のおこる以前に、植物はすでにこの遺伝子を獲得していたと推測されている (Sato, 2020)。藻類や植物は、緑色光合成細菌のものと同様した遺伝子を MGD1 の他にも数多く持っているが、それらの遺伝子をどのように獲得したのか、植物の進化を考えるうえで興味深い点である。

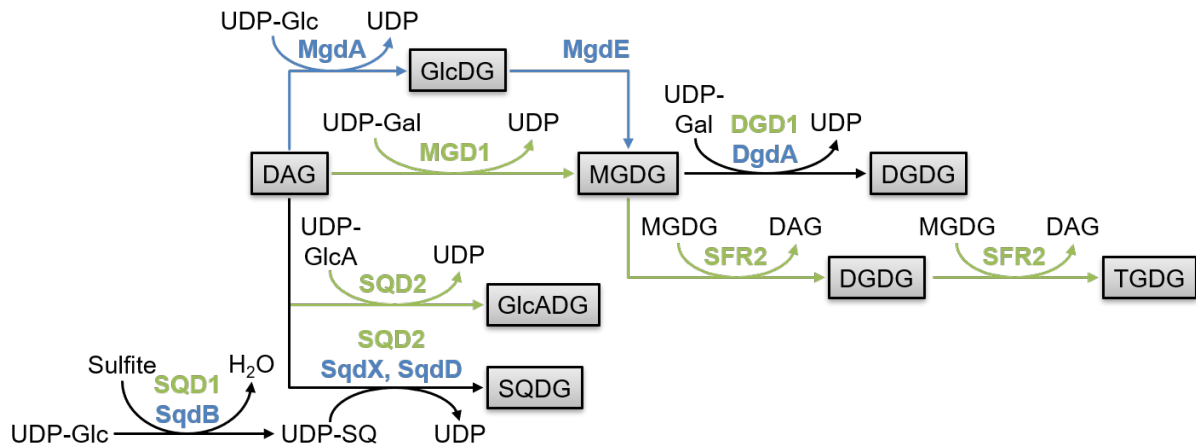


図 3. 植物とシアノバクテリアの糖脂質合成経路とそれに関わる酵素

植物に固有の経路を緑矢印で、シアノバクテリア固有の経路を青矢印で、両者に共通する経路を黒矢印で示す。また、植物の酵素を緑文字で、シアノバクテリアの酵素を青文字で表す。脂質の中間体や最終産物は灰色のボックスで示す。Glc; グルコース, Gal; ガラクトース, SQ; スルホキノボース, GlcA; グルクロン酸。

DGDG の合成に関しては、植物でもシアノバクテリアでも、MGDG の極性頭部にガラクトースをもう 1 分子転移することで行われる (図 3)。つまり、どちらの生物も同じ反応により DGDG を合成するが、それを触媒する DGDG 合成酵素遺伝子の起源はシアノバクテリア (*dgdA*) と陸上植物 (*DGD1*) とで異なる (Awai *et al.*, 2007; Dörmann *et al.*, 1999; Sakurai *et al.*, 2007)。シアノバクテリアは植物タイプの *DGD1* を持っておらず、陸上植物や緑藻はシアノバクテリアタイプの *dgdA* を持っていない。植物の用いる *DGD1* の起源は他のバクテリア由来である可能性が高い (Sato, 2020) (図 4)。興味深いことに、陸上植物と同じアーケプラスチダに属する原始紅藻と灰色藻はどちらも、植物タイプの *DGD1* を持たない。原始紅藻はシアノバクテリア由来の *dgdA* を葉緑体ゲノムにコードし、灰色藻は核ゲノムにコードする (粟井, 2015)。一方、海産の紅藻類は緑藻や陸上植物と同様に植物タイプの *DGD1* のみを核に持つことから、紅藻の祖先、もしくはもっと以前の藻類共通の祖先は、シアノバクテリア由来の *dgdA* と他のバクテリア由来の *DGD1* を重複して持っていた可能性が考えられる (Sato, 2020)。

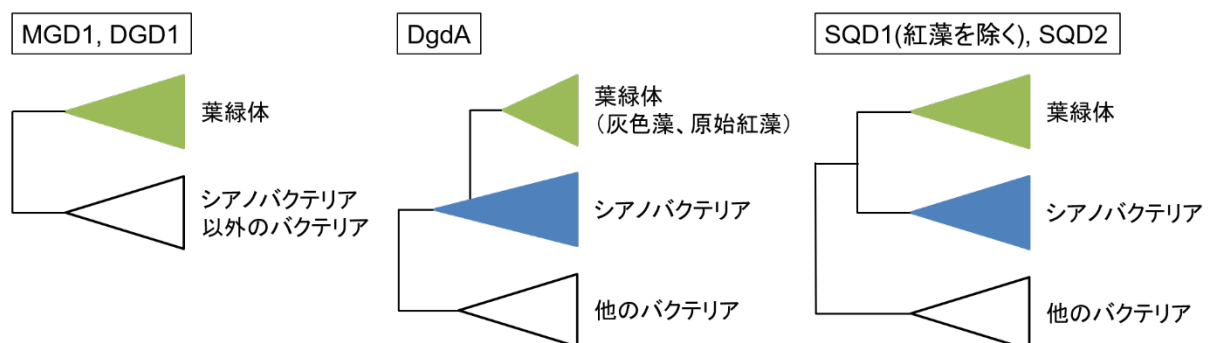


図 4. 植物とシアノバクテリアの糖脂質合成酵素の系統関係

シアノバクテリアの SQD1 と SQD2 のホモログはそれぞれ SqdB と SqdX である。紅藻の SQD1 は、緑藻や植物の SQD1 とは遠く離れた枝に位置する (Sato, 2020)。シアノバクテリアの一部は、SqdX とは別の SqdD という酵素を SQDG 合成に用いるが、SqdD のホモログは植物には存在しない。

最後に, SQDG の合成においては, UDP-スルホキノボースの合成を行う酵素 (SQD1/SqdB) と, そこからスルホキノボースを DAG に転移する酵素 (SQD2/SqdX, SqdD) が関与する。植物の用いる SQD1 や SQD2 はそれぞれシアノバクテリアの SqdB や SqdX と共通の起源をもつが, シアノバクテリアのクレードとは姉妹群を形成するため (図 4), 一次共生由来ではないと思われる (Sato, 2020)。実際, 進化距離の計算から, SQD1 遺伝子は微妙であるが, SQD2 遺伝子は一次共生より以前に獲得された可能性が指摘されている。

以上のように, シアノバクテリアと植物では, チラコイド膜脂質の組成は非常によく似るが, MGDG の合成経路は両者で異なり, また, 植物が DGDG や SQDG の合成に用いる酵素遺伝子は, シアノバクテリアの一次共生由来ではないと推測される。さらに, 同様のことが PG の合成経路においても示唆されている (Sato, 2020)。遺伝子が発現することにより脂質が合成されるという順序を考えると, 果たして葉緑体に特徴的な脂質組成は, 一次共生に由来すると言えるのだろうか。特に考慮すべきは, 植物の祖先細胞が, シアノバクテリアの一次共生より前に MGD1 や SQD2 を獲得していた可能性である。つまり, シアノバクテリアとの一次共生は, あらかじめ別のバクテリアからこれらの糖脂質合成酵素遺伝子を獲得していた真核細胞との間で起こった, という道筋も十分あり得るのである。もしそうであるなら, 共生以前からすでに糖脂質を利用していた真核細胞だからこそ, シアノバクテリアとの共生に成功した, という考え方も可能であろう。現時点では一つの大胆な仮説に過ぎないが, 今後の研究の進展により, 新たな知見が得られることを期待したい。

#### 4. チラコイド膜において各脂質が担う役割

前章では, 葉緑体の脂質合成に関わる遺伝子が一次共生起源では無い可能性について議論した。しかし, たとえそうだったとしても, 現存する藻類や植物の葉緑体は, シアノバクテリアと同様の脂質によりチラコイド膜を構築し, シアノバクテリアと同様の酸素発生型の光合成を行う。そして, 各脂質が光合成において担う役割も, 両者でおおよそ共通しているようにみえる。

葉緑体においてもシアノバクテリアにおいても, チラコイド膜脂質で最も多いのは, MGDG である。他のチラコイド膜脂質と異なる MGDG の重要な特徴として, 極性頭部がガラクトース 1 分子と小さいため, 単独ではラメラ構造を形成できず, 代わりに逆ヘキサゴナル相とよばれる非ラメラ構造を形成する点が挙げられる (Shipley *et al.*, 1973)。MGDG が局所的に作る非ラメラ構造がチラコイド膜の機能に重要であると示唆されており (Garab, 2014; Murphy, 1982), 葉緑体とシアノバクテリアに共通して MGDG が多いのは, そのような非ラメラ脂質としての必要性が共通しているからかもしれない。実際, MGDG の合成が部分的に阻害された植物では光合成の機能が低下し (Aronsson *et al.*, 2008; Fujii *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2013), さらに MGDG 合成のほとんどを欠損したシロイヌナズナ変異体では, 光合成電子伝達の活性が完全に消失することが分かっている (Kobayashi *et al.*, 2013, 2007)。しかし, ここで注意すべき点は, MGDG は DGDG 合成の基質でもあるため, MGDG 合成の欠損は同時に DGDG の合成にも影響を与えることである。また, 葉緑体の膜脂質の大部分を欠くことになるため, チラコイド膜や葉緑体, さらに植物体そのものの発達が大きな阻害を受けることとなり

(Kobayashi *et al.*, 2007), 光合成における MGDG の直接的な役割を明らかにするのは容易ではない。同じことがシアノバクテリアでも言え、MGDG 合成を欠損したシアノバクテリアはおそらく致命的なため、そのような変異体は得られていない。以上のことから、現時点において、光合成における MGDG 分子の詳細な機能はほとんど分かっていない。一方で、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の GlcDG 異性化酵素 (MgdE) の欠損変異体の解析から、興味深い結果が報告されている (Awai *et al.*, 2014)。この *mgdE* 変異体は、GlcDG を MGDG に変換できないため MGDG と DGDG を共に欠くが、代わりに、野生株にはほとんど見られない GlcDG を高蓄積する。この変異体は、光合成活性や増殖にある程度の阻害を示すが、チラコイド膜を形成し光独立的に生育できることから、ガラクト脂質が無くても、GlcDG を合成できれば光合成や生育を行えることが明らかである。GlcDG も極性頭部がグルコース 1 分子のみと小さいため、非ラメラ脂質としての MGDG の役割を代替できるのかもしれない。

DGDG に関しては、植物でもシアノバクテリアの *Synechocystis* sp. PCC 6803 でも、その合成を失うと光合成の活性や光化学系への障害に対する耐性が低下するが (Dörmann *et al.*, 1995; Hölzl *et al.*, 2009; Mizusawa *et al.*, 2009; Sakurai *et al.*, 2007), 生育自体は可能である。ただし、*Synechococcus elongatus* PCC 7942 では DGDG が生育に必須であることが示されており (Maida & Awai, 2016), その要求性は種によって異なる。シロイヌナズナの DGDG 欠損変異体は、野生株と同様に発達したグラナを含むチラコイド膜を形成することができるが、チラコイド膜の著しい湾曲がおこるため、この脂質がチラコイド膜の正常な形態維持に必須であるのは間違いない (Dörmann *et al.*, 1995; Hölzl *et al.*, 2009)。一方、SQDG 合成の欠損は、シロイヌナズナのチラコイド膜の形成に明らかな影響を与えない (Yu & Benning, 2003)。しかし、緑藻のクラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) では、SQDG の欠損によりチラコイド膜の異常な湾曲が起こることが報告されている (Sato *et al.*, 1995)。また、DGDG と同様、シアノバクテリアにおいては SQDG を必須とする種 (*Synechocystis* sp. PCC 6803) (Aoki *et al.*, 2004) と、しない種 (*S. elongatus* PCC 7942 や *Thermosynechococcus elongatus* BP-1) (Endo *et al.*, 2016; Güler *et al.*, 1996) がおり、さらに原始的なシアノバクテリアに近いとされる *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 はそもそも SQDG をもたないことから (Selstam & Campbell, 1996), SQDG がどれほど生育に重要かは種によってさまざまである。

DGDG や SQDG と異なり、PG は、これまで調べられたすべての種において、光合成や生育に必須であることが示されている (Kobayashi, 2016)。葉緑体の PG 合成を欠損したシロイヌナズナ変異体では光合成電子伝達活性が大幅に低下するが、それと同時に、チラコイド膜の形成自体が著しく損なわれるため、PG が光合成に必須であるのは確かであるが、二次的な影響も大きく、光合成の各反応に直接的にどのように関与するのかは定かでない。一方、シアノバクテリアは培地に与えた PG を細胞内に取り込むことができるため、PG 欠損変異体を PG を含む培地で育てたのちに、培地から PG を取り除くことで、細胞内の PG が減少していく際の光合成活性の変化などが詳細に調べられてきた。その結果、特に光化学系における PG の機能が数多く明らかになった。光化学系の反応機構は植物とシアノバクテリアでかなり共通しているため、PG の機能の多くは、植物においても保存されていると考えられている。光合成における PG の機能の詳細については、遠藤ら (2015) の総説などを参考にされたい。



この章の最後に、植物とシアノバクテリアに共通する、PG と SQDG の相補的な関係について述べたい。リン脂質である PG と糖脂質である SQDG はともに負に帯電した極性頭部を持ち、酸性脂質に分類される。先に述べたように、シロイヌナズナや *S. elongatus* PCC 7942 は SQDG を欠損しても特に生育に明らかな影響をみせず、クラミドモナスや *T. elongatus* BP-1 は光合成活性にある程度の影響を示すものの、生育が大きく阻害されることはない。これらの SQDG 欠損変異体に共通するのは、SQDG が減少している代わりに、PG の割合が増加している点である (Endo *et al.*, 2016; Güler *et al.*, 1996; Sato *et al.*, 1995; Yu *et al.*, 2002)。このことから、同じ酸性脂質である PG が SQDG の減少分を補い、酸性脂質の総量を一定に保っていると考えられる。実際、SQDG 合成の欠損変異に加え、点突然変異により葉緑体の PG 合成活性が低下したシロイヌナズナの二重変異体では、生育が著しく阻害されることが分かっており (Yu & Benning, 2003)、PG と SQDG が相補的に働くことは確かなようだ。また、*T. elongatus* BP-1 を用いた結晶構造解析から、光化学系 II 複合体内の SQDG が占めていた場所を、SQDG 欠損変異体では代わりに PG が占めている可能性が示されている (Nakajima *et al.*, 2018)。このような相補的な関係は、遺伝子改変のような人工的な状況下だけでなく、実際の自然条件でも働くことが分かっており、その代表例が、硫黄欠乏やリン欠乏条件である。硫黄欠乏時には SQDG の分解が促進されるが、それに伴い PG の含量が増加し、結果として酸性脂質の総量は保たれることが、クラミドモナスを用いた研究により報告されている (Sugimoto *et al.*, 2008)。また、それとは逆に、リン欠乏時にはリン脂質である PG の含量が減少するが、その減少分を補うように、SQDG の含量が増加する。この応答は、陸上植物、藻類、シアノバクテリアで広く見られ、SQDG 合成を欠損したクラミドモナスやシアノバクテリアはリン欠乏条件下で野生株よりも生育が悪くなることから、SQDG による PG の相補が、リン欠乏時のこれらの生物の生育に重要であることが確かめられている (Endo *et al.*, 2016; Güler *et al.*, 1996; Riekhof *et al.*, 2003; Yu *et al.*, 2002)。ここで一つ強調したいのは、SQDG が相補できる PG の機能は限られる点である。これは、上述のように、PG 合成を欠損した光合成生物がすべて致命的であることから明らかである。また、チラコイド膜をほとんど形成できないシロイヌナズナの PG 合成欠損変異体をリン欠乏条件下で育てたところ、SQDG やガラクト脂質の含量が増加しチラコイド膜が形成されたことから、これらの糖脂質、特におそらく SQDG が、チラコイド膜形成における PG の役割を相補したと考えられるが、光合成活性は回復するどころか、むしろさらに減少してしまった (Kobayashi *et al.*, 2015)。この結果から、SQDG はチラコイド膜形成における PG の役割は相補できても、光合成反応においてはできないことを示している。

## 5. 植物にみられる多様な糖脂質代謝

ここまで見てきたように、糖脂質を主成分とする葉緑体の脂質組成はシアノバクテリアとよく似ており、また、そのような組成は植物細胞の他の膜系では見られないことから、糖脂質の役割は、葉緑体や光合成の機能と関連付けて考えられることが多かった。しかし以下で紹介するように、近年、糖脂質が葉緑体の内外で光合成以外にも様々な役割を担うことが明らかになってきている。

### 5-1. DGDG によるリン脂質の代替

リン欠乏時には SQDG の合成量を増やし PG の減少を補う仕組みが、シアノバクテリアから藻類、陸上植物に広く共通して存在することを第 4 章で説明した。さらに植物では、リン欠乏時に DGDG の合成量も顕著に増加することが知られている。酸性の SQDG が同じ葉緑体の酸性脂質である PG を相補するのに対し、DGDG は葉緑体（色素体）外で減少したリン脂質を補うと考えられている。実際、シロイヌナズナにおける実験から、リン欠乏時には葉緑体以外の膜における DGDG の含量が大幅に増加することが示され (Härtel *et al.*, 2000), さらに、シロイヌナズナの培養細胞を用いた解析から、通常はほとんどミトコンドリア膜に存在しない DGDG が、リン欠乏後にはその全脂質の約 20%を占めることが報告された (Jouhet *et al.*, 2004)。また、リン欠乏条件下で育てられた 4 週目のオートムギでは、シュートから得られた細胞膜の全グリセロ脂質のうち約 50%が、根の細胞膜では約 70%が DGDG で占められることも明らかになった (Andersson *et al.*, 2003)。類似した結果がインゲンマメの根でも見られていることから (Russo *et al.*, 2007), これらの現象は、少なくとも被子植物に広く共通するものと思われる。これらの種では、DGDG の増加に対してリン脂質は種類を問わず全般的に減少していることから、DGDG は特異的にどれか 1 つのリン脂質を代替するというよりは、脂質二重層の主要な構成要素として膜を全体的に支えているのだろう。

このような DGDG による膜脂質転換の重要性は、シロイヌナズナの MGDG 合成酵素遺伝子の変異体解析から明らかになった。シロイヌナズナの *MGDI* (*AtMGDI*) のホモログである *AtMGD2* と *AtMGD3* はリン欠乏時に特異的に発現上昇するのだが (Kobayashi *et al.*, 2004), これらの遺伝子の二重変異体では、リン欠乏時に見られる根での DGDG 含量の増加がほとんど起こらなかった (Kobayashi *et al.*, 2009)。*AtMGD2* と *AtMGD3* の欠損は MGDG の含量には影響しなかったため、これらのホモログは、MGDG を膜構成要素としてではなく、リン欠乏時の DGDG 合成の基質として供給していると思われる。さらに重要な発見として、*AtMGD2* と *AtMGD3* の二重変異体では、リン欠乏時の植物の成長が野生株よりも悪いことが明らかになった (Kobayashi *et al.*, 2009)。この結果から、リン欠乏時にこれらの酵素を介して合成される DGDG は、おそらくリン脂質を代替することで植物の成長を助けていると考えられる。

### 5-2. 生殖器官におけるガラクト脂質の役割

リン欠乏時の DGDG 合成に寄与することが分かったシロイヌナズナの *AtMGD2* と *AtMGD3* であるが、これらの遺伝子のプロモーター解析を行ったところ、リン欠乏時以外にも、葯や花粉、さらには受粉後に柱頭内を伸びた花粉管の中で強い発現を示すことが明らかになった (Kobayashi *et al.*, 2004)。シロイヌナズナの花粉は小さく脂質分析は困難なため、テッポウユリの花粉管を *in vitro* で伸長させその脂質組成を調べたところ、花粉管伸長後に MGDG や DGDG の含量が増加することが判明した (Nakamura *et al.*, 2009)。さらに、DGDG に対する抗体を用いた免疫蛍光解析から、伸びたシロイヌナズナ花粉管の細胞膜に DGDG が蓄積することも示された (Botté *et al.*, 2011)。上述の *AtMGD2* と *AtMGD3* の二重変異体は花粉管伸長に影響を示さなかったが、主要な MGDG 合成酵素遺伝子である *AtMGDI* も花粉である程度発現するため、*AtMGDI* が *AtMGD2* や *AtMGD3* の花粉での機能を相補したと考えられる。実際、MGDG



合成酵素に対する特異的阻害剤を用いた研究から、MGDG 合成を全体的に阻害するとシロイヌナズナの花粉管伸長も阻害されることが示されており (Botté *et al.*, 2011), 花粉管伸長におけるガラクト脂質合成の重要性が確かめられている。花粉管伸長時には花粉細胞から非常に長い膜を伸ばさなければならないため、ガラクト脂質が細胞膜の伸長に一役買っているのかもしれない。

シロイヌナズナの *AtMGD2* と *AtMGD3* の遺伝子欠損は生殖過程に明らかな負の影響を与えなかったが、イネでは、それらのオルソログである *OsMGD2* 遺伝子の欠損により、植物の成長や葉のクロロフィル含量に軽微な影響を与えることが報告されている (Basnet *et al.*, 2019b)。さらに注目すべき結果として、*OsMGD2* は葯や胚乳で高い発現を示し、その遺伝子の機能欠損変異は結実率の低下を引き起こすことが明らかにされた。イネには、葯で特異的に高発現する DGDG 合成酵素遺伝子のホモログ (*OsDGD2β*) も存在する。ゲノム編集によりその遺伝子を破壊した株では、花粉の発達が阻害され、雄性不稔となることが示された (Basnet *et al.*, 2019a)。ペチュニアの解析からも、雄ずいや雌ずいなどの生殖器官にガラクト脂質が高蓄積するという報告がなされている (Nakamura *et al.*, 2009)。これらの結果は、葉緑体の発達しない生殖器官でもガラクト脂質が盛んに合成され、重要な役割を果たしていることを示している。

### 5-3. オリゴガラクト脂質とストレス応答

MGDG や DGDG に加え、さらに多数のガラクトースが結合したオリゴガラクト脂質がさまざまな植物サンプルから検出されることが、古くから知られていた (Gasulla *et al.*, 2019; Kelly & Dörmann, 2004)。その機能や合成経路は長らく分かっていなかったが、2010 年に、凍結耐性が低下した変異体 *sfr2* (*sensitive to freezing 2*) の原因遺伝子が、オリゴガラクト脂質を合成する酵素 (galactolipid:galactolipid galactosyltransferase, GGGT) をコードすることが明らかになり (Moellering *et al.*, 2010), 理解が急速に進んでいる。

MGDG 合成酵素は、最初のガラクトースを  $\beta$  配位で導入する。DGDG 合成酵素は、そこに 2 つ目のガラクトースを  $\alpha$  配位で結合するが、GGGT は MGDG を基質に、 $\beta$  配位でガラクトースを 2 つ ( $\beta\beta$  配位の DGDG), 3 つ (trigalactosyldiacylglycerol, TGDG), 4 つ (tetragalactosyldiacylglycerol, TeGDG) と付加していくため (図 3), 結合したガラクトースはすべて  $\beta$  アノマーという特徴がみられる (図 2)。至適条件下で育ったシロイヌナズナには、GGGT が合成した  $\beta\beta$  型の DGDG はほとんどなく、TGDG や TeGDG も検出されない。しかし、凍結ストレスにさらされたシロイヌナズナでは DGDG 含量が増え、TGDG や TeGDG の蓄積がみられる (Moellering *et al.*, 2010)。GGGT は MGDG を基質に使うため、オリゴガラクト脂質の蓄積に伴い MGDG 含量は減少する。結果として、ラメラ構造を取りづらい MGDG の割合を減らすとともに、水との親和力が強いオリゴガラクト脂質を増やすことで、GGGT は凍結による葉緑体膜へのダメージを防ぐと推測されている。

シロイヌナズナの凍結感受性変異体の原因遺伝子として見つかった *SFR2* であるが、凍結耐性の有無にかかわらず、陸上植物は普遍的にこの遺伝子のホモログを持つことが知られている (Gasulla *et al.*, 2019)。それでは、そもそも凍結耐性を有しない植物では、*SFR2* はどのような役割を担っているのだろうか。その 1 つの答えがトマトの研究により示された。凍結耐性

を持たないトマトでは、乾燥や塩ストレスを受けたときにオリゴガラクト脂質が蓄積することが分かり、また、トマトの *SFR2* 発現抑制株では、その蓄積がほとんど起こらず、乾燥や塩ストレスに弱くなった (Wang *et al.*, 2016)。シロイヌナズナの凍結時と同じように、トマトでは、おそらく MGDG の減少とオリゴガラクト脂質の増加により、脱水や浸透圧変化による葉緑体膜の不安定化を防止しているのだろう。興味深いことに、シロイヌナズナでは *SFR2* は乾燥や塩ストレス時には働かない (Wang *et al.*, 2016)。どのようなときに *SFR2* が働くかは、その種がどのような環境で進化してきたのかによって異なるのだろう。*SFR2* は、コケ植物から被子植物まで広く保存されており、緑藻と陸上植物の中間に位置する車軸藻植物門の *Klebsormidium nitens* (以前は *K. flaccidum* と同定されていた) のゲノムからも見つかっている (Hori *et al.*, 2016)。陸上で生きるには、乾燥や大幅な温度変化、塩濃度や浸透圧の変化など、様々なストレスに適応する必要がある。こういった背景から、*SFR2* は植物の陸上化に関与する遺伝子の一つであると推測されている。

このように、GGGT 活性を担う酵素とそれをコードする *SFR2* 遺伝子の解析により、 $\beta$  配位で結合したオリゴガラクト脂質については、その合成経路や役割が分かってきている。一方で、ジャガイモの塊茎やイネの種子などの多くの植物組織から、 $\alpha$  配位のガラクトースを含むオリゴガラクト脂質が発見されている (Gasulla *et al.*, 2019; Kelly & Dörmann, 2004)。それらの脂質は GGGT の活性によるものではないと思われ、その合成経路や機能について、今後の研究が待たれるところである。

#### 5-4. グルクロノシルジアシルグリセロールの合成と役割

植物の SQDG 合成は、SQD1 による UDP-スルホキノボースの合成と、SQD2 による DAG へのスルホキノボース転移反応によって行われる (図 3)。シロイヌナズナではどちらの酵素遺伝子もシングルコピーのため、*SQD1* も *SQD2* も、ノックアウト変異体は SQDG をまったく合成できない。にもかかわらず、リン欠乏条件下では、*sqd1* 変異体よりも *sqd2* 変異体の方がより強い生育阻害を示す (Okazaki *et al.*, 2013)。それはなぜか。その疑問を解く鍵は、シロイヌナズナで新たに発見されたグルクロノシルジアシルグリセロール (GlcADG) という酸性の糖脂質にあった。Okazaki *et al.* (2013) は、シロイヌナズナ野生株はリン欠乏時に SQDG のほかに GlcADG を蓄積すること、*sqd1* 変異体も野生株と同様に GlcADG を蓄積するが、*sqd2* はしないことを明らかにした。このことから、*sqd2* 変異体は SQDG だけでなく GlcADG も欠損した結果、リン欠乏下での生育が *sqd1* よりも強く阻害された可能性が指摘された。SQDG と GlcADG は、スルホ基とカルボキシル基という違いはあるものの、どちらも極性頭部のグルコースの 6 位に酸性の官能基を持つことから、SQD2 はスルホキノボース転移に加え、UDP-グルクロン酸を基質に、DAG へのグルクロン酸転移反応も触媒するという仮説が提唱されている。リン欠乏に応答した GlcADG の蓄積は、イネやトマト、ダイズでも確認されているので (Okazaki *et al.*, 2015)、被子植物に広く共通する仕組みだと考えられる。前述のように、分子進化解析から、SQD2 は一次共生以前から植物の祖先細胞に備わっていたと推測されている。そうだとすると、GlcADG を合成する活性はいつ頃獲得したのだろうか。SQD2 による GlcADG 合成活性の直接的な証拠はまだ得られていないことから、GlcADG を合成する種の

分布の解明に加え、それを担う酵素の生化学的な解析も重要となるだろう。

## 6. おわりに

藻類や植物の葉緑体はシアノバクテリアとよく似た特徴的な脂質をもつことから、そのような脂質組成は一次共生に由来するだろうという考えが一般的で、筆者らもそう考えていた。しかし、葉緑体やシアノバクテリアの脂質合成に関わる遺伝子が突き止められ、その分子系統関係が明らかになった今、その考えをもう一度見直す時期に来ているように思う。もし Sato (2020) で提唱されているように、*MGDI* や *SQD2* が一次共生の前、つまり葉緑体を獲得する以前にすでに植物の祖先となる細胞に備わっていたとすれば、それらの遺伝子は葉緑体や光合成とは無関係に働いていたはずである。例えば、リン欠乏時にリン脂質を糖脂質で置き換えられる利点は光合成生物に限った話ではなく、実際、アグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens* / *Rhizobium radiobacter*) はリン欠乏に応答して GlcDG や、DGDG, GlcADG など複数種の糖脂質を合成することが知られている (Semeniuk *et al.*, 2014)。同様に、一次共生以前の植物の祖先細胞においても、*MGDI* や *SQD2* による糖脂質合成系は、リン欠乏応答におけるリン脂質の代替を主な機能としていたかもしれない。また、事前にそのような代謝系を持っていたからこそ、植物の祖先細胞はシアノバクテリアと共生することができたのかもしれない。タイムマシンでもできない限り、これらの想像に対する直接の証拠が得られることはないが、現存するアーキアの解析から真核生物の起源が少しずつ明らかになってきているように、今後多種多様な生物の研究から、新たな情報をもたらされることだろう。

最後に、特に強調したい点は、現在の植物においても、糖脂質の役割を葉緑体の機能に限定する必要は無い、ということである。*MGDG* や *DGDG* は光合成器官だけでなく、生殖過程でも重要な働きをしており、また、リン欠乏時には根でもリン脂質の代替という役割を担う。これまで、このような知見を紹介する際には、「植物はシアノバクテリアの一次共生により獲得した糖脂質合成系を、光合成や葉緑体の機能以外に用いるように進化したのだろう」と説明することもあったが、これも今後再考する必要があるだろう。同様に、*SQDG* や *GlcADG* も、葉緑体以外で重要な役割を担っていても、不思議ではない。さらに、陸上植物は、*MGDG* を材料にオリゴガラクト脂質を合成する代謝経路も獲得している。*SFR2* によるオリゴガラクト脂質合成経路の獲得が凍結や乾燥などへの耐性を高め、植物の陸上進出を可能にしたのかもしれない。*SFR2* が担う  $\beta$  アノマー型のオリゴガラクト脂質以外にも多様なガラクト脂質が植物で見つかっており、それらの合成経路や機能の解明に向けた、さらなる研究の進展にも期待したい。

## 謝辞

本稿を作成するにあたり貴重なご助言を賜った佐藤直樹博士に御礼申し上げます。

## 引用文献

- Alban, C., Joyard, J., & Douce, R. 1988. Preparation and characterization of envelope membranes from nongreen plastids. *Plant Physiol.* 88: 709–717.
- Andersson, M.X., Stridh, M.H., Larsson, K.E., Liljenberg, C., & Sandelius, A.S. 2003. Phosphate-

- deficient oat replaces a major portion of the plasma membrane phospholipids with the galactolipid digalactosyldiacylglycerol. *FEBS Lett.* 537: 128–132.
- Aoki, M., Sato, N., Meguro, A., & Tsuzuki, M. 2004. Differing involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in photosystem II in two species of unicellular cyanobacteria. *Eur J Biochem.* 271: 685–693.
- Aronsson, H., Schöttler, M.A., Kelly, A.A., Sundqvist, C., Dörmann, P., Karim, S., *et al.* 2008. Monogalactosyldiacylglycerol deficiency in *Arabidopsis* affects pigment composition in the prolamellar body and impairs thylakoid membrane energization and photoprotection in leaves. *Plant Physiol.* 148: 580–592.
- Awai, K., Kakimoto, T., Awai, C., Kaneko, T., Nakamura, Y., Takamiya, K., *et al.* 2006. Comparative genomic analysis revealed a gene for monoglucosyldiacylglycerol synthase, an enzyme for photosynthetic membrane lipid synthesis. *Plant Physiol.* 141: 1120–1127.
- Awai, K., Ohta, H., & Sato, N. 2014. Oxygenic photosynthesis without galactolipids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 111: 13571–13575.
- Awai, K., Watanabe, H., Benning, C., & Nishida, I. 2007. Digalactosyldiacylglycerol is required for better photosynthetic growth of *Synechocystis* sp. PCC6803 under phosphate limitation. *Plant Cell Physiol.* 48: 1517–1523.
- 栗井光一郎. 2015. 光合成生物におけるガラクト脂質合成経路の分布と進化. 光合成研究 25: 143-150.
- Basnet, R., Hussain, N., & Shu, Q. 2019a. *OsDGD2β* is the sole digalactosyldiacylglycerol synthase gene highly expressed in anther, and its mutation confers male sterility in rice. *Rice.* 12: 66.
- Basnet, R., Zhang, J., Hussain, N., & Shu, Q. 2019b. Characterization and mutational analysis of a monogalactosyldiacylglycerol synthase gene *OsMGD2* in rice. *Front Plant Sci.* 10: 992.
- Botté, C.Y., Deligny, M., Roccia, A., Bonneau, A.-L., Saïdani, N., Hardré, H., *et al.* 2011. Chemical inhibitors of monogalactosyldiacylglycerol synthases in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Chem Biol.* 7: 834–842.
- Dörmann, P., Balbo, I., & Benning, C. 1999. *Arabidopsis* galactolipid biosynthesis and lipid trafficking mediated by DGD1. *Science* 284: 2181–2184.
- Dörmann, P., Hoffmann-Benning, S., Balbo, I., & Benning, C. 1995. Isolation and characterization of an *Arabidopsis* mutant deficient in the thylakoid lipid digalactosyl diacylglycerol. *Plant Cell.* 7: 1801–1810.
- Dorne, A.J., Joyard, J., & Douce, R. 1990. Do thylakoids really contain phosphatidylcholine? *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87: 71–74.
- Endo, K., Kobayashi, K., & Wada, H. 2016. Sulfoquinovosyldiacylglycerol has an essential role in *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 under phosphate-deficient conditions. *Plant Cell Physiol.* 57: 2461–2471.
- 遠藤嘉一郎, 小林康一, 和田元. 2015. 光合成タンパク質複合体と脂質. 光合成研究 25: 116-125.
- Fujii, S., Kobayashi, K., Nakamura, Y., & Wada, H. 2014. Inducible knockdown of

- MONOGALACTOSYLDIACYLGLYCEROL SYNTHASE1* reveals roles of galactolipids in organelle differentiation in *Arabidopsis* cotyledons. *Plant Physiol.* 166: 1436–1449.
- Garab, G. 2014. Hierarchical organization and structural flexibility of thylakoid membranes. *Biochim Biophys Acta.* 1837: 481–494.
- Gasulla, F., García-Plazaola, J.I., López-Pozo, M., & Fernández-Marín, B. 2019. Evolution, biosynthesis and protective roles of oligogalactolipids: Key molecules for terrestrial photosynthesis? *Environ Exp Bot.* 164: 135–148.
- Güler, S., Seeliger, A., Härtel, H., Renger, G., & Benning, C. 1996. A null mutant of *Synechococcus* sp. PCC7942 deficient in the sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerol. *J Biol Chem.* 271: 7501–7507.
- Härtel, H., Dörmann, P., & Benning, C. 2000. DGD1-independent biosynthesis of extraplastidic galactolipids after phosphate deprivation in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97: 10649–10654.
- Hölzl, G., Witt, S., Gaude, N., Melzer, M., Schöttler, M.A., & Dörmann, P. 2009. The role of diglycosyl lipids in photosynthesis and membrane lipid homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 150: 1147–1159.
- Hori, K., Nobusawa, T., Watanabe, T., Madoka, Y., Suzuki, H., Shibata, D., *et al.* 2016. Tangled evolutionary processes with commonality and diversity in plastidial glycolipid synthesis in photosynthetic organisms. *Biochim Biophys Acta.* 1861: 1294–1308.
- Jouhet, J., Maréchal, E., Baldan, B., Bligny, R., Joyard, J., & Block, M.A. 2004. Phosphate deprivation induces transfer of DGDG galactolipid from chloroplast to mitochondria. *J Cell Biol.* 167: 863–874.
- Kelly, A.A., & Dörmann, P. 2004. Green light for galactolipid trafficking. *Curr Opin Plant Biol.* 7: 262–269.
- Kobayashi, K. 2016. Role of membrane glycerolipids in photosynthesis, thylakoid biogenesis and chloroplast development. *J Plant Res.* 129: 565–580.
- Kobayashi, K., Awai, K., Nakamura, M., Nagatani, A., Masuda, T., & Ohta, H. 2009. Type-B monogalactosyldiacylglycerol synthases are involved in phosphate starvation-induced lipid remodeling, and are crucial for low-phosphate adaptation. *Plant J.* 57: 322–331.
- Kobayashi, K., Awai, K., Takamiya, K., & Ohta, H. 2004. *Arabidopsis* type B monogalactosyldiacylglycerol synthase genes are expressed during pollen tube growth and induced by phosphate starvation. *Plant Physiol.* 134: 640–648.
- Kobayashi, K., Fujii, S., Sato, M., Toyooka, K., & Wada, H. 2015. Specific role of phosphatidylglycerol and functional overlaps with other thylakoid lipids in *Arabidopsis* chloroplast biogenesis. *Plant Cell Rep.* 34: 631–642.
- Kobayashi, K., Kondo, M., Fukuda, H., Nishimura, M., & Ohta, H. 2007. Galactolipid synthesis in chloroplast inner envelope is essential for proper thylakoid biogenesis, photosynthesis, and embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104: 17216–17221.
- Kobayashi, K., Narise, T., Sonoike, K., Hashimoto, H., Sato, N., Kondo, M., *et al.* 2013. Role of galactolipid biosynthesis in coordinated development of photosynthetic complexes and thylakoid membranes during chloroplast biogenesis in *Arabidopsis*. *Plant J.* 73: 250–261.
- Maida, E., & Awai, K. 2016. Digalactosyldiacylglycerol is essential in *Synechococcus elongatus* PCC

- 7942, but its function does not depend on its biosynthetic pathway. *Biochim Biophys Acta*. 1861: 1309–1314.
- Mizusawa, N., Sakurai, I., Sato, N., & Wada, H. 2009. Lack of digalactosyldiacylglycerol increases the sensitivity of *Synechocystis* sp. PCC 6803 to high light stress. *FEBS Lett*. 583: 718–722.
- Moellering, E.R., Muthan, B., & Benning, C. 2010. Freezing tolerance in plants requires lipid remodeling at the outer chloroplast membrane. *Science* 330: 226–228.
- Murphy, D.J. 1982. The importance of non-planar bilayer regions in photosynthetic membranes and their stabilisation by galactolipids. *FEBS Lett*. 150: 19–26.
- Nakajima, Y., Umena, Y., Nagao, R., Endo, K., Kobayashi, K., Akita, F., *et al.* 2018. Thylakoid membrane lipid sulfoquinovosyl-diacylglycerol (SQDG) is required for full functioning of photosystem II in *Thermosynechococcus elongatus*. *J Biol Chem*. 293: 14786–14797.
- Nakamura, Y., Kobayashi, K., & Ohta, H. 2009. Activation of galactolipid biosynthesis in development of pistils and pollen tubes. *Plant Physiol Biochem*. 47: 535–539.
- Okazaki, Y., Nishizawa, T., Takano, K., Ohnishi, M., Mimura, T., & Saito, K. 2015. Induced accumulation of glucuronosyldiacylglycerol in tomato and soybean under phosphorus deprivation. *Physiol Plant*. 155: 33–42.
- Okazaki, Y., Otsuki, H., Narisawa, T., Kobayashi, M., Sawai, S., Kamide, Y., *et al.* 2013. A new class of plant lipid is essential for protection against phosphorus depletion. *Nat Commun*. 4: 1510.
- Riekhof, W.R., Ruckle, M.E., Lydic, T.A., Sears, B.B., & Benning, C. 2003. The sulfolipids 2'-O-Acyl-sulfoquinovosyldiacylglycerol and sulfoquinovosyldiacylglycerol are absent from a *Chlamydomonas reinhardtii* mutant deleted in *SQD1*. *Plant Physiol*. 133: 864–874.
- Russo, M.A., Quartacci, M.F., Izzo, R., Belligno, A., & Navari-Izzo, F. 2007. Long- and short-term phosphate deprivation in bean roots: Plasma membrane lipid alterations and transient stimulation of phospholipases. *Phytochemistry*. 68: 1564–1571.
- Sakurai, I., Mizusawa, N., Wada, H., & Sato, N. 2007. Digalactosyldiacylglycerol is required for stabilization of the oxygen-evolving complex in photosystem II. *Plant Physiol*. 145: 1361–1370.
- Sato, N. 2020. Complex origins of chloroplast membranes with photosynthetic machineries: multiple transfers of genes from divergent organisms at different times or a single endosymbiotic event? *J Plant Res*. 133: 15–33.
- Sato, N., Tsuzuki, M., Matsuda, Y., Ehara, T., Osafune, T., & Kawaguchi, A. 1995. Isolation and characterization of mutants affected in lipid metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eur J Biochem*. 230: 987–993.
- Selstam, E., & Campbell, D. 1996. Membrane lipid composition of the unusual cyanobacterium *Gloeobacter violaceus* sp. PCC 7421, which lacks sulfoquinovosyl diacylglycerol. *Arch Microbiol*. 166: 132–135.
- Semeniuk, A., Sohlenkamp, C., Duda, K., & Hözl, G. 2014. A bifunctional glycosyltransferase from *Agrobacterium tumefaciens* synthesizes monoglucosyl and glucuronosyl diacylglycerol under phosphate deprivation. *J Biol Chem*. 289: 10104–10114.
- Shimajima, M., Ohta, H., Iwamatsu, A., Masuda, T., Shioi, Y., & Takamiya, K. 1997. Cloning of the

- gene for monogalactosyldiacylglycerol synthase and its evolutionary origin. *Proc Natl Acad Sci*. 94: 333–337.
- Shipley, G.G., Green, J.P., & Nichols, B.W. 1973. The phase behavior of monogalactosyl, digalactosyl, and sulphoquinovosyl diglycerides. *Biochim Biophys Acta*. 311: 531–544.
- Sugimoto, K., Midorikawa, T., Tsuzuki, M., & Sato, N. 2008. Upregulation of PG synthesis on sulfur-starvation for PS I in *Chlamydomonas*. *Biochem Biophys Res Commun*. 369: 660–665.
- Wada, H., & Murata, N. 1989. *Synechocystis* PCC6803 mutants defective in desaturation of fatty acids. *Plant Cell Physiol*. 30: 971–978.
- Wang, K., Hersh, H.L., & Benning, C. 2016. SENSITIVE TO FREEZING2 aides in resilience to salt and drought in freezing-sensitive tomato. *Plant Physiol*. 172: 1432–1442.
- Wu, W., Ping, W., Wu, H., Li, M., Gu, D., & Xu, Y. 2013. Monogalactosyldiacylglycerol deficiency in tobacco inhibits the cytochrome  $b_6/f$ -mediated intersystem electron transport process and affects the photostability of the photosystem II apparatus. *Biochim Biophys Acta*. 1827: 709–722.
- Yoshida, S., & Uemura, M. 1986. Lipid composition of plasma membranes and tonoplasts isolated from etiolated seedlings of mung bean (*Vigna radiata* L.). *Plant Physiol*. 82: 807–812.
- Yu, B., & Benning, C. 2003. Anionic lipids are required for chloroplast structure and function in *Arabidopsis*. *Plant J*. 36: 762–770.
- Yu, B., Xu, C., & Benning, C. 2002. *Arabidopsis* disrupted in *SQD2* encoding sulfolipid synthase is impaired in phosphate-limited growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99: 5732–5737.