

---

## Mini Review

---

### 緑藻クラミドモナスが行う葉緑体スルフォ脂質の代謝

杉本 貢一

〒192-0392 東京都八王子市堀之内1432-1 東京薬科大学 生命科学研究科

〒753-8515 山口県山口市吉田1677-1 山口大学 医学系研究科

〒520-2113 滋賀県大津市平野2-509-3 京都大学 生態学研究センター

### Synthesis and Degradation of Chloroplast Sulfolipid in Green Alga, *Chlamydomonas reinhardtii*

Koichi SUGIMOTO

*School of Life Sciences, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, Horinouchi 1432-1, Hachioji, Tokyo 192-0392, Japan*

*School of Medicine, Yamaguchi University, Yoshida 1677-1, Yamaguchi 753-8515, Japan*

*Center for Ecological Research, Kyoto University, Hirano 2-509-3, Otsu, Shiga 520-2113, Japan*

#### SUMMARY

Almost all of oxygenic photosynthetic organisms contain sulfolipid, sulfoquinovosyl diacylglycerol (SQDG) in the photosynthetic membranes. The physiological functions of SQDG in the photosynthetic membranes such as the maintaining of structural and functional integrity of photosystem II are well investigated from cyanobacteria to seed plants. On the other hand, the molecular mechanism of SQDG metabolism is just now emerging. In this paper, the systems of SQDG-synthesis and -degradation were reviewed and the regulation of the system was referred. The system of SQDG degradation required *de novo* synthesis of mRNA(s) and protein(s) and the regulatory proteins for sulfur acclimation under sulfur-starved conditions. Additionally, biodiversity of the capacity of SQDG degradation induced by the sulfur starvation was surveyed among some organisms. From these results, it was implied that the system of SQDG degradation was derived not from the ancestral cyanobacteria, the origin of chloroplasts, but from the host cell of primary symbiosis and was conserved through the evolution of eukaryotic photosynthetic organisms.

---

#### はじめに

\*Corresponding author

Tel/Fax: Tel: +81-83-933-5850

Fax: +81-83-933-5820

e-mail: sugimok@yamaguchi-u.ac.jp

(Received: 21 January 2008)

真核光合成生物の主要な膜系である葉緑体チラコイド膜の機能は、主に光合成初期反応の場を提供することである。ほとんどすべての酸素発生型光合成生物はチラコイド膜にスルフォキノボシルジアシルグリセロール(SQDG)とよばれる脂質分子を持つ。近

年、SQDGの生理機能として、脂質分子と光化学系タンパク質との相互作用による光化学系複合体の構造・活性維持としての働きが明らかになってきている。一方でその代謝・調節機構は未知の点が多い。このミニ・レビューではSQDGの分解に関する過去の報告と最近の知見を紹介し、光合成生物がSQDG分解能力を獲得してきた歴史・進化について考察する。

### スルフォ脂質の機能と代謝経路

これまでSQDGの光合成膜上での機能については、SQDG欠損変異体の解析から様々な知見が得られてきた。緑藻クラミドモナスのSQDG欠損変異体は独立栄養条件での光合成能力や生育の低下が観察され(Sato et al. 1995a,b)、それは光化学系II複合体の電子伝達速度の低下によることが明らかになった(Minoda et al. 2003)。また、強光・熱といった環境ストレスに対する適応やその回復過程に必要であることも明らかになってきている(Sato et al. 2003a)。一方で、陸上植物であるシロイヌナズナのSQDG欠損変異体はわずかな光合成能力の低下が観察されるものの、通常生育条件での生育には大きな影響がないことが示されている(Yu et al. 2002, Yu and Benning 2003)。また、酸素発生型光合成を行う原核生物であるシアノバクテリアは種によってSQDG要求性が異なることが報告されている(Güler et al. 1996, Aoki et al. 2004)。これらの結果からSQDGの機能獲得とその進化に関する考察がなされている(Sato 2004)。

SQDGの代謝経路に関する解析は近年ようやく進められてきており、上記のSQDG欠損変異体の原因

遺伝子を単離することによってその生合成経路がほぼ明らかになってきた。酸素発生型光合成生物におけるSQDG合成は、UDP-グルコースに亜硫酸基を結合させUDP-スルフォキノボース(SQ)を合成する反応、合成されたSQをジアシルグリセロールに転移させてSQDGを合成する反応の2段階反応によって行われる(Benning 1998)。これらSQDG合成に関連する遺伝子がシアノバクテリア(Güler et al. 1996, 2000, Aoki et al. 2004)、クラミドモナス(Sato et al. 2003b, Riekhof et al. 2003)、シロイヌナズナ(Essimann et al. 1998, Yu and Benning 2003)から単離・同定された。加えて、SQDG合成酵素SQD1の活性がグルタミン酸合成酵素との複合体を形成することによって制御されていることが明らかになってきている(Shimajima and Benning 2003, Shimajima et al. 2005)。一方でSQDG分解に関する知見は限られている。

SQDGの発見とともに、いくつかの硫黄化合物が植物組織から検出されている。それはスルフォキノボシルモノアシルグリセロール(SQM/lyso-SQDG)やスルフォキノボシルグリセロール(SQG)、SQであった(Yagi and Benson 1962, Lee and Benson 1972)。当初これらの化合物はSQDG合成の中間体と考えられており、様々なSQDG合成経路が提案された。一方でクロレラの白化現象の研究から、SQGがSQDG分解代謝産物であることが提案された(Shibuya and Hase 1965)。現在証明されているSQDG合成経路から、これらの化合物は合成中間体には当てはまらず、分解産物と考えるのが妥当である。私たちは葉緑体脂質代謝制御機構の解明に向けて、緑藻クラミドモナスを様々なストレス条件に曝し、その脂質代謝変動を

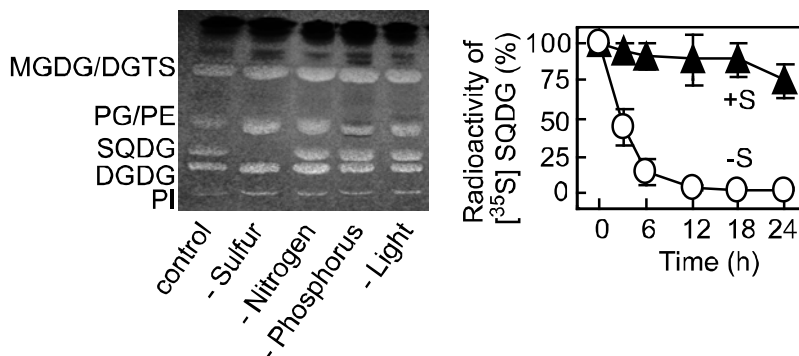


図1. ストレス条件下での脂質変動(左図) 様々な培養条件下に曝されたクラミドモナスの脂質組成。クラミドモナスの主要スルフォ脂質SQDGは硫黄欠乏条件下で特異的に減少する。(右図) 硫黄欠乏条件下におけるラベルされたSQDGの変動。通常培養条件(+S)では安定に存在するSQDGは、硫黄欠乏条件(-S)では急速に分解される。MGDG : monogalactosyl diacylglycerol, DTGS : diacylglycerol trimethylthio-moserine, PG : phosphatidylglycerol, PE : phosphatidylethanolamine, SQDG : sulfoquinovosyl diacylglycerol, DGDG : digalactosyl diacylglycerol, PI : phosphatidylinositol (Sugimoto et al. 2007より引用)

調べた。その結果、硫黄欠乏ストレスによってSQDGの特異的な分解が誘導され(図1)、硫黄を硫黄欠乏応答に必要なタンパク質合成のために再利用することが示された(Sugimoto et al. 2007)。SQDGの分解過程はクロレラを用いた過去の研究結果と一致したため(Miyachi and Miyachi 1966)、SQDG分解は広く保存された能力であると考えられた。

### スルフォ脂質分解制御

硫黄欠乏によるSQDG分解誘導は果たしてどのように誘導制御されているのだろうか。クラミドモナスを硫黄欠乏ストレスに曝すと同時に、タンパク質の新規翻訳を阻害するシクロヘキシミドもしくはクロラムフェニコールを処理したところ、シクロヘキシミド処理によってSQDG分解がおこらなくなったのに対し、クロラムフェニコール処理ではSQDG分解は無処理と同様に誘導された(Sugimoto unpublished data)。シクロヘキシミドはサイトゾルに存在する80Sリボソームの機能を阻害するのに対し、クロラムフェニコールはオルガネラに存在する70Sリボソームの機能を阻害する。この結果からSQDG分解は核にコードされた遺伝子の支配を受けていると考えられた。

硫黄欠乏ストレス応答を制御する因子は、クラミドモナスの硫黄欠乏応答不全変異体の原因遺伝子SAC1及びSAC3が単離されている(Davies et al. 1994)。SAC1タンパク質は硫黄欠乏シグナルのポジティブレギュレーターであり、この遺伝子が変異したクラミドモナスは硫黄欠乏ストレス時においても硫黄欠乏応答遺伝子の一つアシルサルファターゼの誘導ができない(Davies et al.1996)。一方SAC3は硫黄欠乏のネガティブレギュレーターであり、この変異体は非ストレス条件においてもアシルサルファターゼを発現させてしまう(Davies et al. 1999)。硫黄欠乏で誘導されるSQDG分解がこれらの因子の制御下にあるのかどうかを明らかにするために、*sac*変異体でのSQDG代謝を解析した。その結果、非ストレス条件下での*sac3*変異体もSQDGを安定に保持していたことから、SAC3の制御はSQDG分解系と他の硫黄代謝系では一部異なっていることが考えられた。一方、硫黄欠乏条件下では*sac1*変異体、*sac3*変異体ともに分解誘導が抑制されていたことから、硫黄欠乏条件下でのSQDG分解はSACレギュレーターの制御下にあると考えられた(図2 Sugimoto unpublished data)。

### スルフォ脂質分解の生物間比較と進化

硫黄欠乏ストレスによるSQDG分解能力はいつどこで獲得されたのだろうか。この答えを探るために、葉緑体と共通の起源をもつと考えられているシアノバクテリアにおけるSQDG分解誘導を調査し

た。その結果3種のシアノバクテリア*Synechocystis* sp. PCC6803、*Synechococcus* sp. PCC7942、*Anabaena* sp. PCC7120いずれにおいても硫黄欠乏ストレスによるSQDG分解誘導は確認されなかった(Sugimoto and Kamimura unpublished data)。またシロイヌナズナのメタボローム解析から、種子植物においてもSQDG分解能力が保持されている可能性が示唆された(Nikiforova et al. 2005)。これまでの知見を合わせると、SQDG分解は原核光合成生物ではなく、真核光合成生物に保存されている能力であると考えられた。

一方、植物を餌として摂取する動物や落葉などを分解する土壌細菌の中にはSQDGやSQを分解し、硫黄原子を取り出す能力を持つものが存在する(Gupta and Sastry 1987, Roy et al. 2003)。同様にシアノバクテリアの祖先やその死骸を栄養源とする従属栄養生物が、太古の世界にも存在したと想像するのは難くな

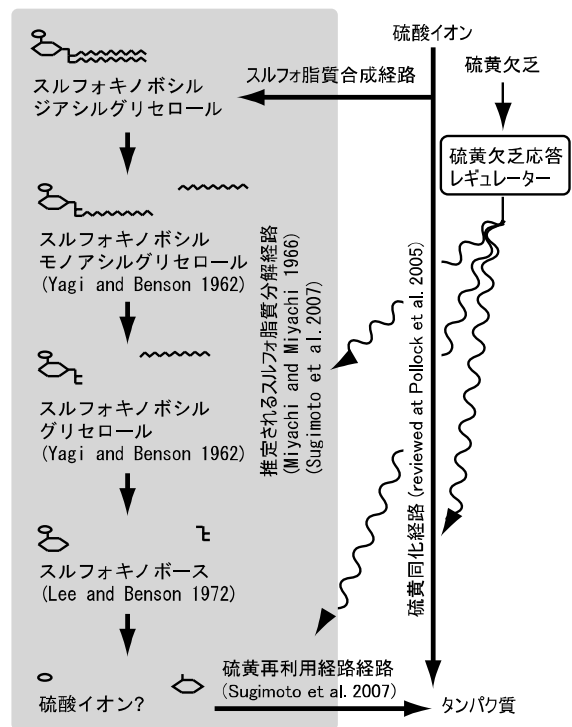


図2 推定されるスルフォ脂質代謝経路とその制御  
細胞が取り込んだ硫酸イオンは硫黄同化経路によってタンパク質など様々な代謝物に変換される。その一部はスルフォ脂質合成に利用される。硫黄欠乏に曝されたクラミドモナスは、そのシグナル認識し、硫黄欠乏応答レギュレーターを通してスルフォ脂質分解経路を誘導し、タンパク質合成に必要な硫黄をSQDG分解によって得る。

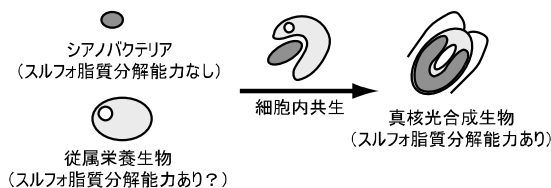


図3 推定されるスルフォ脂質分解能力獲得の変遷  
代表的なシアノバクテリア種にはスルフォ脂質分解能力がない。一方、真核光合成生物はスルフォ脂質分解能力が認められている。従属栄養生物にはスルフォ脂質分解活性を持つものが知られているため、真核光合成生物のスルフォ脂質分解能力は葉緑体獲得に至る宿主生物の能力を引き継いでいる可能性がある。

い。SQDG分解システムは光合成生物の祖先ではなく、真核光合成生物が誕生する細胞内共生イベントの宿主側の能力を反映しているのかもしれない(図3)。

#### おわりに

SQDG分解系はその存在や制御が示唆されているものの、分解に関わる分子そのものはいまだに同定されていない。葉緑体脂質の代謝制御やその進化を考察するためには、関連分子の単離・解析が必須である。また、特異な反応を行う酵素群は生物学的な機能のみならず生物工学的な利用のターゲットとしても興味深いため、今後の分子解析に期待したい。

#### 謝辞

本研究は主に東京薬科大学・都筑幹夫教授、佐藤典裕助教のもとで行われました。これまでの厚いご教授に感謝いたします。また、私の研究を温かく見守っていただきました山口大学・松井健二教授、京都大学・高林純示教授に感謝申し上げます。本研究は財団法人日本科学協会「笹川科学研究助成」及び奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科を通じた「植物科学・研究推進・教育推進創出事業」(文部科学省)からの援助によって進めることができました。深く感謝の意を示します。

#### 引用文献

Aoki M., Sato N., Meguro A., and Tsuzuki M. (2004) Differing involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in photosystem II in two species of unicellular cyanobacteria. *Eur J Biochem* 271: 685-693  
Benning C. (1998) Biosynthesis and function of the sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerol. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 49: 53-75

Davies JP., Yildiz FH., and Grossman AR. (1994) Mutants of *Chlamydomonas* with aberrant responses to sulfur deprivation. *Plant Cell* 6: 53-63  
Davies JP., Yildiz FH., and Grossman A. (1996) Sac1, a putative regulator that is critical for survival of *Chlamydomonas reinhardtii* during sulfur deprivation. *EMBO J* 15: 2150-2159  
Davies JP., Yildiz FH., and Grossman AR. (1999) Sac3, an Snf1-like serine/threonine kinase that positively and negatively regulates the responses of *Chlamydomonas* to sulfur limitation. *Plant Cell* 11: 1179-1190  
Essigmann B., Güler S., Narang RA., Linke D., and Benning C. (1998) Phosphate availability affects the thylakoid lipid composition and the expression of SQD1, a gene required for sulfolipid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 1950-1955  
Güler S., Seeliger A., Härtel H., Renger G., and Benning C. (1996) A null mutant of *Synechococcus* sp. PCC7942 deficient in the sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerol. *J Biol Chem* 271: 7501-7507  
Güler S., Essigmann B., and Benning C. (2000) A cyanobacterial gene, sqdX, required for biosynthesis of the sulfolipid sulfoquinovosyldiacylglycerol. *J Bacteriol* 182: 543-545  
Gupta SD. and Sastry PS. (1987) Metabolism of the plant sulfolipid -sulfoquinovosyldiacylglycerol: degradation in animal tissues. *Arch Biochem Biophys* 259: 510-519  
Lee RF. and Benson AA. (1972) The metabolism of glycerol [<sup>35</sup>S] sulfoquinovoside by the coral tree, *Erythrina crista-galli*, and alfalfa, *Medicago sativa*. *Biochim Biophys Acta* 261: 35-37  
Minoda A., Sonoike K., Okada K., Sato N., and Tsuzuki M. (2003) Decrease in the efficiency of the electron donation to tyrosine Z of photosystem II in an SQDG-deficient mutant of *Chlamydomonas*. *FEBS Lett* 553: 109-112  
Miyachi S. and Miyachi S. (1966) Sulfolipid metabolism in *Chlorella*. *Plant Physiol* 41: 479-486  
Nikiforova VJ., Kopka J., Tolstikov V., Fiehn O., Hopkins L., Hawkesford MJ., Hesse H., and Hoefgen R. (2005) Systems rebalancing of metabolism in response to sulfur deprivation, as revealed by metabolome analysis of *Arabidopsis* plants. *Plant Physiol* 138: 304-318  
Pollock SV., Pootakham W., Shibagaki N., Moseley JL., and Grossman AR. (2005) Insight into the acclimation of *Chlamydomonas reinhardtii* to sulfur deprivation. *Photosynthesis Res* 86: 475-486  
Riekhof WR., Ruckle ME., Lydic TA., Sears BB., and 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  
Roy AB., Hewlins MJE., Ellis AJ., Harwood JL., and White GF. (2003) Glycolytic breakdown of sulfoquinovose in bacteria: a missing link in the sulfur cycle. *Appl Environ Microbiol* 69: 6434-6441

- Sato N., Sonoike K., Tsuzuki M., and Kawaguchi A. (1995a) Impaired photosystem II in a mutant of *Chlamydomonas reinhardtii* defective in sulfoquinovosyl diacylglycerol. *Eur J Biochem* 234: 16-23
- Sato N., Tsuzuki M., Matsuda Y., Ehara T., Osafune T., and Kawaguchi A. (1995b) Isolation and characterization of mutants affected in lipid metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eur J Biochem* 230: 987-93
- Sato N., Aoki M., Maru Y., Sonoike K., Minoda A., and Tsuzuki M. (2003a) Involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in the structural integrity and heat-tolerance of photosystem II. *Planta* 217: 245-251
- Sato N., Sugimoto K., Meguro A., and Tsuzuki M. (2003b) Identification of a gene for UDP-sulfoquinovose synthase of a green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*, and Its Phylogeny. *DNA Res* 10: 229-237
- Sato N. (2004) Roles of the acidic lipids sulfoquinovosyl diacylglycerol and phosphatidylglycerol in photosynthesis: their specificity and evolution. *J Plant Res* 117: 495-505
- Shibuya I. and Hase E. (1965) Degradation and formation of sulfolipid occurring concurrently with de- and regeneration of chloroplasts in the cells of *Chlorella protothecoides*. *Plant Cell Physiol* 6: 267-283
- Shimajima M. and Benning C. (2003) Native uridine 5'-diphosphate-sulfoquinovose synthase, SQD1, from spinach purifies as a 250-kDa complex. *Arch Biochem Biophys* 413: 123-130
- Shimajima M., Hoffmann-Benning S., Garavito RM., and Benning C. (2005) Ferredoxin-dependent glutamate synthase moonlights in plant sulfolipid biosynthesis by forming a complex with SQD1. *Arch Biochem Biophys* 436: 206-214
- Sugimoto K., Sato N., and Tsuzuki M. (2007) Utilization of a chloroplast membrane sulfolipid as a major internal sulfur source for protein synthesis in the early phase of sulfur starvation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *FEBS Lett* 581: 4519-22
- Yagi T. and Benson AA. (1962) Plant sulfolipid. V. lyso-sulfolipid formation. *Biochem Biophys Acta* 57: 601-603
- Yu B., Xu C., and 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
- Yu B. and Benning C. (2003) Anionic lipids are required for chloroplast structure and function in Arabidopsis. *Plant J* 36: 762-70