

平成21年 5月30日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18770032
 研究課題名 (和文) 高等植物に特有に発達した PsbP ドメインプロテインファミリーの分子機能の解明
 研究課題名 (英文) Functional analysis of the PsbP domain family proteins in higher plants
 研究代表者
 伊福 健太郎 (IFUKU KENTARO)
 京都大学・大学院生命科学研究科・助教
 研究者番号：50359783

研究成果の概要：高等植物には、光化学系 II のサブユニットである PsbP に加え、そのホモログタンパク質が多数存在する。シロイヌナズナを材料に、これら PsbP ドメインプロテインファミリーをコードする遺伝子の転写プロファイル解析を行い、遺伝子欠損変異体を用いて機能解析を行った結果、PsbP ドメインプロテインには光化学系 II のストレス応答に関わるものと、循環的電子伝達経路を担う葉緑体 NAD(P)H dehydrogenase に関わるものがあることを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,500,000	0	1,500,000
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	240,000	3,840,000

研究分野：植物分子生物・生理学

科研費の分科・細目：植物分子生物・生理学

キーワード：植物、葉緑体、分子進化、光化学系 II、酸素発生系、シロイヌナズナ

1. 研究開始当初の背景

葉緑体チラコイド膜において光化学系 II (PSII) が行う水分解酸素発生反応は、非常に大きな酸化力を伴うため、その適切な機能調節は植物の環境応答において欠かすことができない。PsbP タンパク質と呼ばれる葉緑体チラコイド膜ルーメン側に存在するタンパク質は、高等植物の *in vivo* における PSII 機能維持に重要な役割を持つ。この PsbP タンパク質は、高等植物や緑藻にのみ存在する PSII サブユニットと考えられていた。しかし

ながら、ゲノム解析、トランスクリプトーム、プロテオーム、そして構造生物学の進展によって、高等植物には、PsbP と原核生物 PsbP のホモログに加え、PsbP ドメインプロテインファミリーと呼ばれる機能未知の PsbP ホモログ (パラログ) が、葉緑体チラコイド膜に多数蓄積していることが明らかとなった。これらの事実は、細胞内共生から陸上生活への酸素発生型光合成生物の長い進化の間に、原核型 PsbP ホモログが非常にダイナミックな進化を遂げ、高等植物において

は PsbP を始めとする PsbP ドメインを持つタンパク質 (PsbP ドメインタンパク質) となって、様々な生理機能を担うようになった可能性を示唆していた。一方、それら PsbP ドメインタンパク質の分子機能は全く明らかではなかった。

2. 研究の目的

本研究は、機能が明らかではない PsbP ドメインタンパク質ファミリーの分子機能を、シロイヌナズナを材料に解析し、高等植物における PsbP ドメイン機能の多様性と生理的重要性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 転写プロファイル解析により、各 PsbP ドメインタンパク質の機能を予測した。

(2) シロイヌナズナ遺伝子欠損変異体の表現型を解析し、各 PsbP ドメインタンパク質の生理機能を明らかにすることを試みた。

(3) 各 PsbP ドメインタンパク質に対する特異的抗体を作成し、その分子機能を生化学的に解析した。

4. 研究成果

(1) PsbP は、シアノバクテリアに存在する PsbP ホモログ (cyanoP) に起源を持つ。分子系統解析から、より原核型 PsbP に近いホモログ (PsbP-Like protein 1, PPL1) が高等植物における cyanoP のオースログであることを示唆し、PSII サブユニットである PsbP は原核型 PsbP から派生したパラログであることを示した。さらに、高等植物には PPL1 の他に PPL2 が存在することを認め、さらに 6 種の PsbP-Domain タンパク質 (PPD) を分類した。

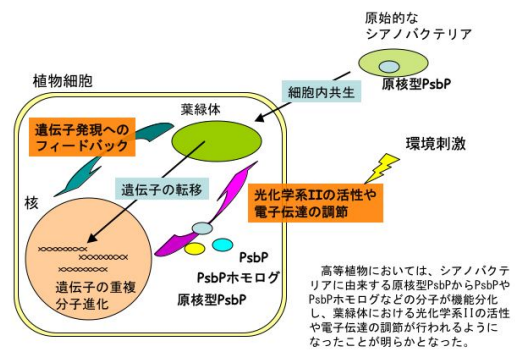
(2) ATTED-II 等を用いた mRNA 共発現プロファイル解析が、PsbP ドメインタンパク質を含むチラコイド内腔タンパク質の機能推定に有効であることを認め、PsbP ドメインタンパク質機能の主な標的が PSII 複合体と葉緑体 NAD(P)H dehydrogenase (NDH) 複合体である可能性を示唆した。

(3) PPL1/2 の生理機能を、シロイヌナズナ遺伝子欠損変異株を用いて解析した。その結果、PPL1 は強光下において損傷した光化学系 II 複合体の修復過程に関わり、PPL2 は循環的電子伝達に関わる NDH 複合体の蓄積に必須である事を明らかにした。

(4) 強光下で損傷を受けた PSII の修復段階に関与する PPL1 タンパク質について、特異的抗体を用いた生化学的解析を行った。その結果、PPL1 は修復過程にある PSII 中間体が存在すると考えられているストロマチラコイドに局在すること、また、スクロース密度勾配遠心や架橋剤を用いた電気泳動などの解析から、PPL1 は PSII 反応中心 D1 タンパク質を含む何らかの複合体と結合することを示唆した。さらに PPL1 の蓄積は強光条件、もしくは光阻害を受けやすい変異体において顕著に増加することを認めた。以上の結果から、PPL1 タンパク質は強光ストレス条件下で PSII 光阻害が亢進する際に、修復過程にある PSII 中間体を安定化する役割を持つことが考えられた。

(5) Blue Native-PAGE、及び、スクロース密度勾配遠心等を用いた生化学的解析から、PPL2 が NDH 複合体の新規サブユニットであることを示した。加えて、PPL2 と極めて似た転写プロファイルを示した PsbQ-like タンパク質 (PQL) についても、遺伝子欠損変異株を用いた機能解析を行い、それらも NDH 活性に重要な役割を持つことを認めた。

PSII の機能調節と NDH 複合体活性は、いずれも環境ストレス、特に過剰な光に対する応答に重要な役割を持つ。本研究によって高等植物における PsbP ホモログの分化は光環境への適応の結果である可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Ido K, Ifuku K*, Yamamoto Y, Murakami A, Takabe K, Miyake C, Sato F (2009) Knockdown of the PsbP protein does not prevent assembly of the dimeric PSII core complex but impairs accumulation of photosystem II supercomplexes in

tobacco. *Biochim. Biophys. Acta*, in press, 査読あり.

- ② Ifuku K*, Ishihara S, Shimamoto R, Ido K, Sato F (2008) Structure, function, and evolution of the PsbP protein family in higher plants. *Photosynth Res.* 98: 427-437、査読あり.
- ③ Ido K, Ifuku K*, Ishihara S, Yamamoto Y, Miyake C, Sato F (2008) Effects of the PsbP knockdown on the photosynthetic electron transfer in *Nicotiana tabacum*. In: J.F. Allen, E. Gantt, J.H. Golbeck & B. Osmond (eds.) *Energy from the Sun* : 14th International Congress on Photosynthesis, pp 609-612, Springer, 査読なし
- ④ Ishihara S, Takabayashi A, Endo T, Ifuku K*, Sato F (2008) Functional analysis of two PsbP-Like (PPL) proteins in *Arabidopsis thaliana*. In: J.F. Allen, E. Gantt, J.H. Golbeck & B. Osmond (eds.) *Energy from the Sun* : 14th International Congress on Photosynthesis, pp 1091-1094, Springer, 査読なし.
- ⑤ Ishihara S, Takabayashi A, Ido, K Endo T, Ifuku K*, and Sato F (2007) Distinct functions for the two PsbP-like proteins PPL1 and PPL2 in the chloroplast thylakoid lumen of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 5: 668-679, 査読あり.
- ⑥ Takahagi T, Ikezawa N, Endo T, Ifuku, K, Yamamoto Y, Kinoshita Y, Takeshita, S, and Sato F (2006) Inhibition of PSII in atrazine-tolerant tobacco cells by barbatic acid, a lichen-derived depside. *Biosci. Biotech. Biochem.* 70: 266-268, 査読あり.

[学会発表] (計 10 件)

- ① 室田知宏、石原靖子、伊福健太郎、佐藤文彦、異なる光化学系 II 活性をもつタバコ形質転換体を用いた高 CO₂ 環境での生育特性の解析, 日本農芸化学会 2009 年度大会, 2009. 3. 29, マリンメッセ福岡

- ② 石原靖子、井戸邦夫、伊福健太郎、佐藤文彦, 光化学系 II 修復サイクルにおけるシロイヌナズナ PsbP-like 1 (PPL1) タンパク質の挙動, 第 50 回 日本植物生理学会年会, 2009. 3. 24, 名古屋大学
- ③ 井戸邦夫、石原靖子、山本由弥子、伊福健太郎、佐藤文彦, 光化学系 II 修復サイクルにおける酸素発生系 PsbP タンパク質の役割, 第 50 回 日本植物生理学会年会, 2009. 3. 22, 名古屋大学
- ④ 藪田真也、石原靖子、高林厚史、遠藤剛、伊福健太郎、佐藤文彦, シロイヌナズナ遺伝子破壊株を用いた PsbQ-Like (PQL) タンパク質の機能解析, 第 50 回 日本植物生理学会年会, 2009. 3. 23, 名古屋大学
- ⑤ 石原靖子、高林厚史、井戸邦夫、遠藤剛、伊福健太郎、佐藤文彦, 光合成電子伝達鎖の機能維持における PsbP-like (PPL) タンパク質の役割, 第 49 回 日本植物生理学会年会, 2008. 3. 20-22, 札幌
- ⑥ 井戸邦夫、伊福健太郎、山本由弥子、石原靖子、三宅親宏、佐藤文彦, 光化学系 II 活性化因子としての PsbP タンパク質の役割, 第 49 回 日本植物生理学会年会, 2008. 3. 20-22, 札幌
- ⑦ Ido K, Ifuku K, Ishihara S, Yamamoto Y, Miyake C, Sato F, Effects of the PsbP knockdown on the photosynthetic electron transfer in *Nicotiana tabacum*. The 14th International Congress on Photosynthesis, 2007. 7. 22-27, グラスゴー、イギリス
- ⑧ Ishihara S, Takabayashi A, Ido K, Endo T, Ifuku K, Sato F, Functional analysis of two PsbP-Like (PPL) proteins in *Arabidopsis thaliana*, The 14th International Congress on Photosynthesis, 2007. 7. 22-27, グラスゴー、イギリス
- ⑨ 石原靖子、高林厚史、遠藤剛、伊福健太郎、佐藤文彦, シロイヌナズナ PsbP-like タンパク質 (PPL) の機能解析, 第 48 回 日本植物生理学会年会, 2007. 3. 28-30, 愛媛大学
- ⑩ 井戸邦夫、伊福健太郎、佐藤文彦, 光化学系 II PsbP タンパク質の欠損がチラコイド膜電子伝達鎖に及ぼす影響, 第 48 回 日本植物生理学会年会,

2007. 3. 28-30, 愛媛大学

[その他]

ホームページ

<http://www.lif.kyoto-u.ac.jp/labs/calls/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊福 健太郎 (IFUKU KENTARO)

京都大学・大学院生命科学研究科・助教

研究者番号：50359783

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし