

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 6日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20370018

研究課題名（和文）

新規光受容体シアノバクテリオクロムファミリーの光受容機構の解明

研究課題名（英文） Study of photoperception mechanism of a novel photoreceptor, cyanobacteriochrome family

研究代表者

池内 昌彦（IKEUCHI MASAHIKO）

東京大学・大学院総合文化研究科・教授

研究者番号：20159601

研究成果の概要（和文）：

シアノバクテリアの補色順化にかかわる光受容体 NpCcaS を単離し、赤/緑吸収型の可逆的変換とリン酸化活性をもつことを実証し、補色順化の分子機構を解明した。これらの光受容体が調節するフィコビリソームの新規リンカーCpcL タンパク質が光化学系 I 複合体に特異的に結合し、光捕集アンテナとして重要なはたらきをしていることを実証した。また、シアノバクテリオクロム AnPixJ の結晶構造を決定し、多様な光変換の分子機構を解明した。

研究成果の概要（英文）：

We isolated and characterized photoreceptor NpCcaS that is required for complementary chromatic acclimation. It showed red/green reversible photoconversion and light-dependent Histidine kinase activity. We found that the NpCcaS is required for accumulation of a novel type of cpL as an antenna for photosystem I. We determined the crystal structure of AnPixJ

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8400000	2520000	10920000
2009年度	2520000	756000	3276000
2010年度	2000000	600000	2600000
年度			
年度			
総計	12920000	3876000	16796000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：光受容体、シアノバクテリア、シアノバクテリオクロム、走光性、補色順化、細胞凝集、結晶構造

## 1. 研究開始当初の背景

研究開始当初は、シアノバクテリオクロムの機能が遺伝子破壊株で推定されていたこと、単離したタンパク質が光変換をすることが明らかになっていた。しかし、光受容と生理的機能の間の分子機構についてはほとんど不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究では、光受容体シアノバクテリオクロムのタンパク質レベルの機能構造を解明し、その関係を分子レベルで明らかにすることを目指した。

## 3. 研究の方法

(1)シアノバクテリオクロム全長タンパク質を発現精製し、そのシグナルアウトプット活性と光受容の関係を調べた。

(2)シアノバクテリオクロムが調節する標的遺伝子の機能解析として、もっとも光合成の機能にかかわるフィコビリソームのリンカータンパク質の機能解析を行った。

(3)シアノバクテリオクロムの光受容ドメインを発現精製し、結晶解析を行った。

#### 4. 研究成果

(1)シアノバクテリオクロム NpCcaS の全長タンパク質を発現精製し、緑色光でプロテインキナーゼが活性化されることを見いだした。

(2)NpCcaS の標的の CpcG2 の機能解析により、光化学系 I 複合体に結合してフィコビリソームと系 I の超複合体を形成することを見いだした。

(3) AnPixJ の光受容ドメインの構造を 1.8Å の分解能で決定し、光変換において重要なはたらきをするアミノ酸残基を見だし、光変換の機構を明らかにした。

#### 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 27 件)

1 Hirose, Y., Narikawa, R., Katayama, M. and Ikeuchi, M. (2010) Cyanobacteriochrome CcaS regulates phycoerythrin accumulation in *Nostoc punctiforme*, a group II chromatic adapter. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107: 8854-8859. 査読あり

2 Nagao, R., Suzuki, T., Okumura, A., Niikura, A., Iwai, M., Dohmae, N., Tomo, T., Shen, J.R., Ikeuchi, M. and Enami, I. (2010) Topological analysis of the extrinsic Psb0, PsbP and PsbQ proteins in a green algal Photosystem II complex by crosslinking with a water-soluble carbodiimide. *Plant Cell Physiol.* 51: 718-727. 査読あり

3 Yoshimura, H., Kaneko, Y., Ehira, S., Yoshihara, S., Ikeuchi, M. and Ohmori, M. (2010) CccS and CccP are involved in construction of cell surface components in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 51: 1163-72. 査読あり

4 Nagao R, Moriguchi A, Tomo T, Niikura A, Nakajima S, Suzuki T, Okumura A, Iwai M, Shen JR, Ikeuchi M, Enami I. (2010) Binding and functional properties of five extrinsic proteins in oxygen-evolving photosystem II from a marine centric

diatom, *Chaetoceros gracilis*. *J. Biol. Chem.* 285: 29191-9. 査読あり

5 Nagao, R., Tomo, T., Noguchi, E., Nakajima, S., Suzuki, T., Okumura, A., Kashino, Y., Mimuro, M., Ikeuchi, M., and Enami, I. (2010) Purification and characterization of a stable oxygen-evolving Photosystem II complex from a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1797: 160-166. 査読あり

6 Takasaka, K., Iwai, M., Umena, Y., Kawakami, K., Ohmori, Y., Ikeuchi, M., Takahashi, Y., Kamiya, N. and Shen, J.R. (2010) Structural and functional studies on Ycf12 (Psb30) and PsbZ-deletion mutants from a thermophilic cyanobacterium. *Biochim. Biophys. Acta*, 1797: 278-284. 査読あり

7 Iwai, M., Suzuki, T., Kamiyama, A., Sakurai, I., Dohmae, N., Inoue, Y. and Ikeuchi, M. (2010) PsbK subunit is required for the stable assembly and stability of other small subunits in the Photosystem II complex in the thermophilic cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus* BP-1. *Plant Cell Physiol.* 51: 554-560. 査読あり

8 Fujisawa, T., Narikawa, R., Okamoto, S., Ehira, S., Yoshimura, H., Suzuki, I., Masuda, T., Mochimaru, M., Takaichi, S., Awai, K., Sekine, M., Horikawa, H., Yashiro, I., Omata, S., Takarada, H., Katano, Y., Kosugi, H., Tanikawa, S., Ohmori, K., Sato, N., Ikeuchi, M., Fujita, N. and Ohmori, M. (2010) Genomic structure of an economically important cyanobacterium, *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* NIES-39. *DNA Res.* 17: 85-103.

9 Nagai H, Fukushima Y, Okajima K, Ikeuchi M, Mino H. (2009) Formation of interacting spins on flavosemiquinone and tyrosine radical in photoreaction of a blue light sensor BLUF protein TePixD. *Biochemistry.* 47: 12574-82. 査読あり

10 Kondo, K., Mullineaux, C.W. and Ikeuchi, M. (2009) Distinct roles of CpcG1-phycobilisome and CpcG2-phycobilisome in state transitions in a cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photosynth. Res.* 99: 217-25. 査読あり

11 Narikawa R, Muraki N, Shiba T, Ikeuchi M, Kurisu G. (2009) Crystallization and preliminary X-ray studies of the chromophore-binding domain of cyanobacteriochrome AnPixJ from *Anabaena*

- sp. PCC 7120. *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* 65:159-62. 査読あり
- 12 Tanaka, K., Nakasone, Y., Okajima, K., Ikeuchi, M., Tokutomi, S. and Terazima, M. (2009) Oligomeric-state-dependent conformational change of the BLUF Protein TePixD (T110078). *J. Mol. Biol.* 386: 1290-1300. 査読あり
- 13 Osanai, T., Imashimizu, M., Seki, A., Sato, S., Tabata, S., Imamura, S., Asayama, M., Ikeuchi, M. and Tanaka, K. (2009) ChlH, the H subunit of the Mg-chelatase, is an anti-sigma factor for SigE in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 106: 6860-6865. 査読あり
- 14 Watanabe, M., Iwai, M., Narikawa, R. and Ikeuchi, M. (2009) Is the photosystem II complex a monomer or a dimer? *Plant Cell Physiol.* 50: 1674-80. 査読あり
- 15 Midorikawa, T., Matsumoto, K., Narikawa, R., and Ikeuchi, M. (2009) An Rrf2-type transcriptional regulator is required for expression of *psaAB* genes in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Physiol.* 151: 882-92. 査読あり
- 16 Cormann, K.U., Bangert, J.-M., Ikeuchi, M., Rögner, M., Stoll, R., and Nowaczyk, M.M. (2009) Structure of Psb27 in solution: Implications for transient binding to Photosystem II during biogenesis and repair. *Biochemistry*, 48: 8768-70. 査読あり
- 17 Cormann, K.U., Ikeuchi, M., Rögner, M., Nowaczyk, M.M., and Stoll, R. (2009) Sequence-specific 1H, 13C, and 15N backbone assignment of Psb27 from *Synechocystis* PCC 6803. *Biomol. NMR Assign.* 3: 247-249. 査読あり
- 18 Shibata Y, Murai Y, Satoh Y, Fukushima Y, Okajima K, Ikeuchi M, Itoh S. (2009) Acceleration of electron-transfer-induced fluorescence quenching upon conversion to the signaling state in the blue-light receptor, TePixD, from *Thermosynechococcus elongatus*. *J. Phys. Chem. B* 113: 8192-8. 査読あり
- 19 Fukushima, Y., Murai, Y., Okajima, K., Ikeuchi, M. and Itoh, S. (2008) Photoreactions of Tyr8- and Gln50-mutated BLUF domains of the PixD protein of *Thermosynechococcus elongatus* BP-1: Photoconversion at low temperature without Tyr-8. *Biochemistry*, 47: 660-669. 査読あり
- 20 Hishiya, S., Hatakeyama, W., Mizota, Y., Hosoya-Matsuda, N., Motohashi, K., Ikeuchi, M. and Hisabori, T. (2008) Binary reducing equivalent pathways using NADPH-thioredoxin reductase and ferredoxin-thioredoxin reductase in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 49: 11-18. 査読あり
- 21 Henmi, T., Iwai, M., Ikeuchi, M., Kawakami, K., Shen, J.-R. and Kamiya, N. (2008) X-ray crystallographic and biochemical characterizations of a mutant photosystem II complex from *Thermosynechococcus vulcanus* with the *psbTc* gene inactivated by an insertion mutation. *J. Synchrotron Rad.* 15: 304-307. 査読あり
- 22 Hirose, Y., Shimada, T., Narikawa, R., Katayama, M. and Ikeuchi, M. (2008) Cyanobacteriochrome CcaS is the green light receptor that induces the expression of phycobilisome linker protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105: 9528-33. 査読あり
- 23 Narikawa, R., Fukushima, Y., Ishizuka, T., Itoh, S. and Ikeuchi, M. (2008) A novel photoactive GAF domain of cyanobacteriochrome AnPixJ that shows reversible green/red photoconversion. *J. Mol. Biol.* 380: 844-855. 査読あり
- 24 Narikawa, R., Kohchi, T., and Ikeuchi, M. (2008) Photosensory CikA homolog of cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photochem. Photobiol. Sci.* 7: 1253-1259. 査読あり
- 25 Higo, A., Ikeuchi, M. and Ohmori, M. (2008) cAMP regulates respiration and oxidative stress during rehydration in *Anabaena* sp. PCC 7120. *FEBS Lett.* 582: 1883-1888. 査読あり
- 26 Iwai, M., Maoka, T., Ikeuchi, M. and Takaichi, S. (2008) CrtG, 2,2'- $\beta$ -hydroxylase, is involved in carotenogenesis of both nostoxanthin and 2-hydroxymyxol 2'-fucoside in *Thermosynechococcus elongatus* strain BP-1. *Plant Cell Physiol.* 49: 1678-1687. 査読あり
- 27 Suzuki, H., Okajima, K., Ikeuchi, M. and Noguchi, T. (2008) LOV-like flavin-Cys adduct formation by introducing a Cys residue in the BLUF domain of TePixD. *J. Am. Chem. Soc.* 130: 12884-12885. 査読あり

1 Ikeuchi, M., Diversity and physiology of novel photoreceptor cyanobacteriochromes in cyanobacteria. APRU International Symposium, 2010.11.24-26, Kyoto, Japan. 招待講演

2 Ikeuchi, M., Structural studies of the photosystem II complex, Germany-Japan binational seminar on From Photoreaction to Biomass: Phototrophs in Ecosystems and Biotechnology, Japan, Tsukuba, 2009.6.3-7. 招待講演

3 Ikeuchi, M., Phototactic regulation of unicellular cyanobacteria, 15th International Congress on Photobiology, Germany, Düsseldorf, 2009.6.18-23, 招待講演

4 Narikawa, R., Muraki, N., Fukushima, Y., Shiba, T., Itoh, S., Kurisu, G., Ikeuchi, M., Spectral and structural characterization of a novel cyanobacteriochrome-type photoreceptor AnPixJ. 13th International Symposium of Phototrophic Prokaryotes, Canada, Montreal, 2009.8.9-14.

5 Hirose, Y., Katayama, M., Narikawa, R., Ikeuchi, M., Cyanobacteriochrome CcaS regulates phycoerythrin accumulation in Nostoc punctiforme that performs group II chromatic adaptation, 13th International Symposium of Phototrophic Prokaryotes, Canada, Montreal, 2009.8.9-14.

6 Ishizuka, T., Kamiya, A., Suzuki, H., Noguchi, T., Kohchi, T., Inomata, K., Ikeuchi, M., Characterization of unique photochemical properties of cyanobacteriochrome TePixJ, 13th International Symposium of Phototrophic Prokaryotes, Canada, Montreal, 2009.8.9-14.

7 Watanabe, M., Iwai, M., Narikawa, R., Ikeuchi, M., Which is the intrinsic form of photosystem ii, a monomer or a dimer? 13th International Symposium of Phototrophic Prokaryotes, Canada, Montreal, 2009.8.9-14.

8 Hirose, Y., Katayama, M., Narikawa, R., Ikeuchi, M., Cyanobacteriochrome CcaS regulates phycoerythrin accumulation in Nostoc punctiforme that performs group II chromatic adaptation, International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors of Photosynthetic Organisms, USA, Asilomar, 2009.7.26-31.

9 Narikawa, R., Muraki, N., Fukushima, Y., Shiba, T., Itoh, S., Kurisu, G., Ikeuchi, M., Spectral and Structural Characterization of a Novel

Cyanobacteriochrome-Type Photoreceptor AnPixJ, International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors of Photosynthetic Organisms, USA, Asilomar, 2009.7.26-31.

10 Ishizuka, T., Narikawa, R., Inomata, K., Ikeuchi, M., International Conference on Tetrapyrrole Photoreceptors of Photosynthetic Organisms, USA, Asilomar, 2009.7.26-31.

など

〔図書〕(計2件)

・池内昌彦 シアノバクテリアで光センサーを探る「研究をささえるモデル生物」化学同人 2009 (分担執筆)

・池内昌彦 「図説生物学」東大出版会 2010 (分担執筆)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<https://sites.google.com/site/whatsnewikeuchilab/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池内昌彦 (IKEUCHI MASAHIKO)

東京大学大学院総合文化研究科・教授

研究者番号: 20159601

(2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号：