

研究種目：学術創成研究費  
研究期間：2006～2010  
課題番号：18GS0318  
研究課題名（和文）光合成・光エネルギー変換装置のダイナミクスとその分子基盤の解明  
研究課題名（英文）Photosynthesis: dynamics and molecular mechanism of light energy conversion apparatus  
研究代表者  
高橋 裕一郎 (TAKAHASHI YUUCHIROU)  
岡山大学・大学院自然科学研究科・教授  
研究者番号：50183447

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：光合成, 光化学系, アンテナ複合体, 分子集合, 光環境

### 1. 研究計画の概要

植物の光合成は地球上のほとんどすべての生物の生存に必須で、光合成の基盤的研究は農業生産の増大や大気中二酸化炭素の増加などの地球規模の問題解決に関係がある。光合成は太陽からの無限の光を利用するため、光エネルギー変換装置（光化学系）の解析は光合成研究の中心課題の一つである。これまでに学際的な手法により、一定の光条件下で効率よく光エネルギーを変換する分子機構が明らかにされてきた。ところが、光環境の変動が大きい自然条件下で効率的に光合成反応を行うには、光化学系の構造と機能をダイナミックに変化させることが必要である。しかし、タンパク質レベルでの解析は遅れている。本研究では、光合成反応における光と酸化還元エネルギーの分配と調節に関する新しいモデルを構築し、それを検証していく。そして、自然環境下での光合成反応の効率化に必要な光エネルギー変換装置のダイナミクスという新しい概念を確立する。

(1) 光化学系複合体の構造解析；光化学系複合体は多数のサブユニットとコファクターを結合する膜タンパク複合体で、精製と結晶化は通常の可溶性タンパクに比べ難しい。しかし、光エネルギー変換装置の構造と機能のダイナミクスを解析するには、構造解析を進める必要がある。ところが、結晶構造解析に成功しても、初期の段階では解像度は低いことが予想される。そこで、複雑な構造をもつアンテナ複合体のトポロジーを化学架橋法により、全体構造を低解像度の電子顕微鏡による解析（single particle analysis）も平

行して進める。

(2) 光化学系複合体の合成と分解の分子機構の解析；酸素発生型光合成電子伝達系の2つの光化学系は、異なる生育環境にตอบสนองして、その量比を変化させる。また、系2は強光などの厳しい環境下で損傷を受け、効率よく修復される。本研究では複雑な構造をもつ系1複合体の分子集合および強光下での系2複合体の代謝回転の分子機構の解析を生化学、分子遺伝学の手法を用いて行う。

(3) ステート遷移；ステート遷移は2つの光化学系間の励起エネルギーのアンバランスを補正する機構で、アンテナ複合体が光化学系間を可逆的に移動すると考えられている。ステート遷移に伴い2つ光化学系が関与する直鎖型と系1のみが関与する循環型電子伝達系の活性も変化すると考えられている。緑藻クラミドモナスは大きなステート遷移活性と循環型電子伝達活性を示すため、本研究課題に最適な研究材料である。すでに、モノマータイプのアンテナ複合体が2つの光化学系間を移動することを明らかにしているが、その分子機構は未解明のままである。系1と系2複合体とアンテナ複合体の相互作用を中心に解析を進め、ステート遷移の全体像の解明を目指す。

### 2. 研究の進捗状況

(1) 光化学系複合体の構造解析；光エネルギー変換装置である光化学系複合体の構造解析を進めた。クラミドモナスからLHCIを完全に結合した系1複合体を高度に精製する方法を確立し、結晶化条件のスクリーニングを行い、クラミドモナスの系1複合体として初めて結晶が得られた。X線回折像の分解能は約10Åである。まだ標品の精製法および結

晶化条件の最適化が必要である。平行して、各サブユニットの化学架橋や電子顕微鏡による single particle analysis が進行中である。一方、系 2 複合体の酸素発生系に Cl は必須の成分であるが、その存在部位は不明であった。そこで、Cl を Br や I に置換した系 2 複合体を結晶化し、X 線構造解析を行い、マンガングラスターの近傍に Cl の存在部位を初めて同定することに成功した。

(2) 光化学系複合体の合成と分解の分子機構の解析; 複雑な構造をもつ系 1 複合体の分子集合の分子機構を葉緑体遺伝子にコードされた Ycf4 を含む大きな構造体の解析により進めた。この構造体にタグを融合しアフィニティークロマトグラフィーにより高度に精製することに成功した。その結果、この構造体上で系 1 複合体の分子集合の初期過程が進行することを明らかにし、分子集合の足場タンパクであることを示した。また、系 1 タンパク質のパレスラベル法を活用して、系 1 成分の複合体への段階的分子集合過程を解析した。その結果、分子集合の最終過程で 2 つのサブユニット PsaG と PsaK が組み込まれることを新たに明らかにした。一方、系 2 複合体の代謝回転の分子機構の解明のため、反応中心近傍に存在する小型サブユニット PsbT と Psb30 の機能を解析した。これらのサブユニットの欠損株は光障害を受けやすく、光損傷後の修復過程の効率化に小型サブユニットが重要であることを明らかにした。

(3) ステート遷移; ステート遷移は 2 つの光化学系間の励起エネルギーのアンバランスを補正する機構で、本研究ではアンテナ複合体 (LHCII) が光化学系間を可逆的に移動することを生化学的に確立した。ステート 2 から 1 状態へ変化するとき、LHCII が段階的に系 2 から系 1 複合体へ移動することを明らかにした。さらに、ステート 2 状態で系 1 複合体に結合する LHCII 量を決定し、アンテナサイズが増加し、結合した LHCII から系 1 反応中心へ励起エネルギー移動が起こることを示した。また RNA 干渉法により LHCII の一種である CP29 もしくは系 1 の PsaH サブユニットの蓄積を大きく減少させた形質転換株を作成し、ステート遷移に伴う LHCII の系 1 への結合が起らなくなることを示した。したがって、ステート遷移に伴う LHCII の系 2 から系 1 への移動に、これらのタンパク質が重要であることを明確にした。

### 3. 現在までの達成度

③ やや遅れている。

構造解析のための系 1 複合体の精製は順調に進展しているが、結晶の X 線回折像の解像度が十分に高くない。標品の精製法の改良と結晶化条件の最適化がまだ必要である。平行して電子顕微鏡および化学架橋による構造解析も進めている。また、系 1 複合体の分子集

合の解析は順調に進み、その成果を論文にまとめ投稿中である。ステート遷移の解析は予定通りの成果を達成しつつある。

### 4. 今後の研究の推進方策

クラミドモナスの系 1 複合体の構造解析を結晶構造解析、電子顕微鏡を用いた single particle analysis, 化学架橋など多面的なアプローチで進め、構造解析の大きな進展を目指す。系 1 複合体の分子集合の成果の公表を進めるとともに、アラビドプシスの変異株の解析から新たな分子集合因子の同定を進める。光環境変化により誘導されるステート遷移の分子機構の解析をさらに進め、アンテナ複合体の再構築に関与する系 1 サブユニット (PsaL/O など) の解析を RNA 干渉の技術を用いて進める。また、ステート遷移に伴い直鎖と循環型電子伝達活性の制御を分光学的測定を活用して解析を進める。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

K. Kawakami, Y. Umena, N. Kamiya, J.-R. Shen Location of chloride and its possible functions in oxygen-evolving photosystem II revealed by X-ray crystallography. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2009) in press

Tokutsu, R., Iwai, M., Minagawa, J. CP29, a monomeric light-harvesting complex II protein, is essential for state transitions in *Chlamydomonas reinhardtii*. J. Biol. Chem. 284:7777-7782 (2009).

N. Ohnishi and Y. Takahashi, Chloroplast-encoded PsbT is required for efficient biogenesis of photosystem II complex in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Photosynthesis Res. 95 (2008) 315-322

M. Iwai, Y. Takahashi and J. Minagawa, Molecular Remodeling of Photosystem II during State Transitions in *Chlamydomonas reinhardtii*, The Plant Cell 20 (2008) 2177-2189

Ohnishi, Y. Kashino, K. Satoh, S. Ozawa and Y. Takahashi, Chloroplast-encoded polypeptide PsbT is involved in the repair of primary electron acceptor Q<sub>A</sub> of photosystem II during photoinhibition in *Chlamydomonas reinhardtii*. J. Biol. Chem. 282, 7107-7115

[雑誌論文] (計 37 件)

[学会発表] (計 88 件)

[図書] (計 8 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他] なし