

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K06275

研究課題名(和文) 強光下での光化学系 I 機能維持メカニズムの解明

研究課題名(英文) Study on mechanisms to maintain the function of photosystem I under strong light

研究代表者

高橋 拓子 (Takahashi, Hiroko)

埼玉大学・理工学研究科・助教

研究者番号：50748126

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：チラコイド膜タンパク質PGRL1がPSIの光防御に果たす機能を明らかにするために、PGRL1タンパク質に種間で保存されるシステイン残基に着目し、クラミドモナスを用いてシステイン残基の置換変異体を作製し解析を行った。N末端側に位置する2つのシステインをセリン残基へ置換したところ、PSIの光感受性には影響しなかった。一方、C末端側に位置するシステインをセリン残基へ置換したところ、PSIの光感受性が欠損株レベル並に高まった。また、PGRL1タンパク質の蓄積も減少したことから、C末端部分に存在するシステイン残基は、PGRL1の構造並びに機能に重要であることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光は光合成に必要であるが、強い光は細胞内での活性酸素種の発生を引き起こすなど有害なストレスとなる。二つの光化学系のうち(PSI, PSII)、PSIIは強光ストレスに弱く容易に失活する一方、PSIは強光下でも活性を維持することが知られていたため、PSI光阻害については研究報告はかなり限られていた。本研究では、PGRL1タンパク質及びそのC末端部位に保存されるシステイン残基がPSIの活性維持に果たす役割を明らかになり、PSI活性維持メカニズムの解明の一旦を担った。光阻害の予防は農学的にも重要であるため、本研究成果は育種等の応用にに向けた分子基盤を提供できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：A thylakoid membrane protein, PGRL1 contains six cysteine residues conserved from green algae to land plants. In PGRL1-deficient mutant (pgr11), photosystem I (PSI) is sensitive to inactivation under the strong light. To reveal the mechanism by which PGRL1 protects PSI against strong light in Chlamydomonas, we generated the complemented strains and the strains substituted from cysteine to serine residues in PGRL1 (CS variants). Under strong light, the activity of PSI in C63SC1673 variant was remained high, but the activity in C256SC269S and C284SC287S variants declined, as observed in pgr11. Based on our results, the substitutions affected the PSI photoprotection more severely than lowering the level of PGRL1, though some CS variants showed lower accumulation of PGRL1. Thus, the cysteine residues in the C-terminal region of PGRL1 seems to play important roles in protecting PSI under strong light.

研究分野：植物生理学

キーワード：光化学系I チラコイド膜タンパク質 電子伝達 クラミドモナス

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

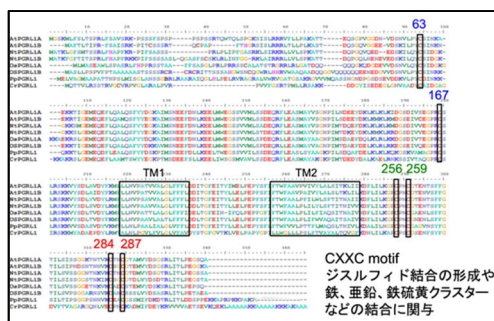
光合成電子伝達反応は、2つの光化学系(Photosystem(PS) I, II)によって駆動される。酸素発生を担うPSIIは光感受性が高く、光による失活(光阻害)が起きやすい¹が、NADP⁺へ電子を供給するPSIにおいて光阻害は起こりにくいことが知られていた。PSI光阻害は低温下や代替電子伝達反応の変異体などで起こることが報告されている²。シロイヌナズナおよびクラミドモナスにおいて、チラコイド膜タンパク質PGRL1を欠損すると光感受性が高まることが報告されていた。本研究課題の代表者の解析からも、クラミドモナスPGRL1欠損株では強光下でPSIの光阻害が起こることが示されていた³。

2. 研究の目的

PSIにおける強光下での機能維持(光防御)にはPGRL1が何らかの機能を果たしていると考え、本研究ではPGRL1タンパク質依存的なPSI光防御メカニズムを明らかにすることを目的とした。そのため緑藻クラミドモナスを用いて、PGRL1タンパク質の機能解析を行なった。

3. 研究の方法

PGRLタンパク質は、6つのシステイン残基が真核光合成生物種間でよく保存されている。PGRL1タンパク質は膜貫通部位を2つ持っているが、1つ目の膜貫通部位よりN末端側に2つのシステイン残基、2つ目の膜貫通部位よりC末端側に4つのシステイン残基が存在する(図PGRL1タンパク質のアラインメント)。システイン残基の番号はクラミドモナスPGRL1におけるN末端からの位置を示す。N末端側のシステイン残基は、シロイヌナズナにおいてレドックス応答に関与することが報告されている^{4,5}。またC末端側のシステイン残基は、ジスルフィド結合の形成や鉄硫黄クラスター、鉄、亜鉛の結合に関与するとされるCXXCモチーフを形成している。これらのシステイン残基に着目し、N末端側のシステイン2残基(C63, C167)、C末端側チラコイド膜近傍のシステイン2残基(C256, C259)、C末端近傍のシステイン2残基(C284, C287)をそれぞれセリン残基へと置換し、C末端にヒスチジンタグを付加したDNAコンストラクトをPGRL1欠損株(*pgrl1*)変異体へ導入しシステイン置換株を作製した。得られた変異株において、PGRL1レベル、強光下でのPSI活性およびPGRL1タンパク質の安定性などについて解析を行った。



4. 研究成果

代表者のこれまでの結果から、PGRL1欠損株は強光下でPSIの活性が著しく下がる³ことが明らかになっているため、得られた置換変異体を用いてPGRL1レベル並びに強光下でPSIの活性を測定したところ、N末端側に位置する2つのシステイン-セリン置換株では、野生株と同様にPGRL1の蓄積が見られ、強光下でのPSI活性も維持された。これらの結果から、N末端側のシステイン残基はPSIの光防御に関与しない可能性が示唆された。C256SC259S置換株では、200以上の個体についてPGRL1レベルと調べたが、野生株と同様にPGRL1の蓄積を示したクローンは得られなかったことから、C256, C259はPGRL1の安定な蓄積に必要であると結論づけた。C284SC287S置換株細胞において、PGRL1転写産物レベルは野生型の70%、PGRL1タンパク質レベルは野生株の40%程度であるが単離チラコイド膜では野生型の10%程度と減少したことから、C284およびC287がPGRL1の安定性に寄与する可能性が示唆された。またこの置換株において強光下でのPSI活性を測定すると、PGRL1欠損株と同様に大幅な活性低下が見られた。さらに、強光下でのPGRL1の安定性を解析したところ、野生型配列を導入した相補株に比べてPGRL1の分解速度が大きく増加している可能性が示唆された。以上のことから、C末端部分に存在するシステイン残基は、PGRL1の構造維持に寄与することで、PGRL1のPSI光防御に働くことが明らかになった。得られた結果について論文投稿準備中である。

これまで、PGRL1タンパク質のC末端側システイン残基の機能について解析した例は生物種を通じて報告されておらず、本研究が初の報告となる。本研究により、PGRL1タンパク質がPSIの光防御に重要であること、そのPGRL1の安定な蓄積にC末端側のシステイン残基が必要であることが示された。しかしながら、PGRL1依存的な光防御の詳細な分子メカニズムモデルを提唱するには、より高度な生化学実験が必要になるため、現在も研究を続行中である。また、本研究を通じて、PGRL1欠損株をPSI光阻害のモデルとして利用することを着想した。現在、PSI光

阻害からの回復過程についても解析を行なっている。

引用文献

1. Murata and Nishiyama (2018) 41:285-299, *Plant Cell Environ.*
2. Sonoike (2011) 1:56-64, *Physiol. Plant.*
3. 高橋拓子 (2021) 31:162-168 *光合成研究*
4. Okegawa and Motohashi (2020) 32: 3866–3883 *Plant Cell*
5. Wolf et al., (2020) 103:715-725 *Plant J.*

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ishikawa Yuuma, Cassan Cedric, Kadeer Aikeranmu, Yuasa Koki, Sato Nozomu, Sonoike Kintake, Kaneko Yasuko, Miyagi Atsuko, Takahashi Hiroko, Ishikawa Toshiki, Yamaguchi Masatoshi, Nishiyama Yoshitaka, Hihara Yukako, Gibon Yves, Kawai-Yamada Maki	4. 巻 -
2. 論文標題 The NAD Kinase Slr0400 Functions as a Growth Repressor in Synechocystis sp. PCC 6803	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcab023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Lu Yandu, Gan Qinhu, Iwai Masakazu, Alboresi Alessandro, Burlacot Adrien, Dautermann Oliver, Takahashi Hiroko, Crisanto Thien, Peltier Gilles, Morosinotto Tomas, Melis Anastasios, Niyogi Krishna K.	4. 巻 12
2. 論文標題 Role of an ancient light-harvesting protein of PSI in light absorption and photoprotection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 679-688
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-20967-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 高橋拓子、高山健太、井須敦子、若林憲一、久堀徹、西山佳孝
2. 発表標題 クラミドモナスPGRL1がPSI光防御に果たす役割
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会 一般講演
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋拓子
2. 発表標題 クラミドモナスPGRL1の機能解析を目指して
3. 学会等名 第11回日本光合成学会年会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroko Takahashi
2. 発表標題 PGRL1 involves in the stable PSI activity under high light in the green alga <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
3. 学会等名 Finland-Japan binational seminar (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroko Takahashi
2. 発表標題 Cyclic electron flow A to Z
3. 学会等名 第84回日本植物学会年会 JPRシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋拓子、高山健太、井須敦子、若林憲一、久堀徹、西山佳孝
2. 発表標題 クラミドモナスPGRL1システイン残基の機能解析
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会 一般講演
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroko Takahashi, Kenta Takayama, Atsuko Isu, Ken-ichi Wakabayashi, Toru Hisabori and Yoshitaka Nishiyama
2. 発表標題 Role of PGRL1 in photoprotection of PSI in the green alga <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
3. 学会等名 1st Japan-US Binational Seminar (Presented by Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas "New Photosynthesis" (国際学会))
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋拓子、高山健太、井須敦子、若林憲一、久堀徹、西山佳孝
2. 発表標題 緑藻クラミドモナスにおけるPGRL1の生化学的解析
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会 一般講演
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	西山 佳孝 (Nishiyama Yoshitaka) (30281588)	埼玉大学・理工学研究科・教授 (12401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------