#### 研究成果報告書 科学研究費助成事業

今和 元 年 6 月 1 5 日現在

機関番号: 12401 研究種目: 若手研究(B) 研究期間: 2016~2018

課題番号: 16K18561

研究課題名(和文)光化学系川の修復におけるサイクリック電子伝達の役割解明

研究課題名(英文)The role of cyclic electron flow in the repair of photosystem II

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文):光合成生物において、過剰な光エネルギーを熱として放散する熱放散は強光下での光合成に重要である。我々はシアノバクテリアのNPQに重要なオレンジカロテノイドプロテインの欠損株および過剰発現株を作製し、熱放散レベル、PSII光阻害等について解析した。その結果、細胞内のオレンジカロテノイドプロテインレベルが高いほど高いNPQを示し、光阻害に耐性を示した。この結果は、Plant Cell and Physiology (2019) に掲載された。また、光順化の一つであるサイクリック電子伝達の変異株を作製し解析を行ったところ、光環境変動時にサイクリック電子伝達が何らかの役割を果たすことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義これまでに、オレンジカロテノイドが強光からの光化学系の保護に寄与することは示されていたが、そのメカニズムは議論があった。我々の結果は、オレンジカロテノイド依存的なNPQが、活性酸素種の一種である一重項酸素の発生を抑えることで酸化ストレスに弱い翻訳伸長反応の保護につながり、その結果として光阻害につながったことを示した。さらに、シアノバクテリアに存在する2つのサイクリック電子伝達経路(NDH, PGR5)のうち、PGR5経路の生理的意義について研究事例はほとんどなかったが、本研究により、PGR5経路は光環境変動時に 何らかの役割を果たすことが示唆された。

研究成果の概要(英文): Non photochemical quenching (NPQ) is important short-term acclimation in response to high light conditions. Cyanobacteria have Orange Carotenoid Protein (OCP) that quenches excessive light energy as heat. We generated the OCP-deficient and OCP-overexpressed strains. OCP-overexpressed strain showed high NPQ level and tolerance to photoinhibition of photosystem II. Additionally, de novo synthesis of photosystem II protein, D1, was enhanced and also the production of singlet oxygen that inhibits the elongation of translation, was decreased in the overexpersive strain. We concluded that larger extent of NPQ should suppress the production of singlet oxygen via quenching the excitation energy and the elongation process should be protected, resulting in alleviated photo inhibition of photosystem II. This study was published in Plant Cell and Physiology (2019) 60, 367-375.

研究分野: 植物生理学

キーワード: 光合成 シアノバクテリア 光化学系川 光阻害 電子伝達

## 1.研究開始当初の背景

光合成生物は、変化する光環境下で生育するために様々な光環境順化を持ち合わせている。サイクリック電子伝達は、チラコイド膜を介したプロトン濃度勾配を形成し、真核光合成生物の過剰光エネルギーの熱放散(NPQ)を誘導するため、サイクリック電子伝達および NPQ は強光下での生育に必要な順化機構である。一方、シアノバクテリアは独自の NPQ メカニズムを備えており、中心的な役割を果たすのがオレンジカロテノイドプロテイン (OCP)である。OCPが強光からの光化学系 II の保護に寄与することは示されていたが、そのメカニズムは議論があった。特に、OCP が強光下における光化学系 II の損傷の軽減に寄与するのか、損傷後の修復の促進に寄与するのかは明らかにされていなかった。

また、光化学系 I 循環型電子伝達(サイクリック電子伝達)には、ATP 合成の促進や過剰な電子による活性酸素種の発生を抑制することが示唆されているため、これらの側面において光阻害の緩和に寄与する可能性が考えられる。加えて、シアノバクテリアに存在する 2 つのサイクリック電子伝達経路(NDH, PGR5)のうち、PGR5 経路についての研究事例はほとんどなかった。そのため、PGR5 経路が光化学系の保護に果たす役割について解明するべく本研究課題を提案した。

### 2.研究の目的

OCP が強光からの光化学系 II の保護に、どのように寄与しているのか明らかにする。また、サイクリック電子伝達が光化学系の保護に果たす役割について明らかにする。

#### 3.研究の方法

OCP の欠損株および過剰発現株を作製して、光化学系 II 光阻害、光化学系 II タンパク質の新規合成等について解析を行った。サイクリック電子伝達については、二つある経路 (NDH, PGR) に関わる NdhS, PGR5 の単独および二重欠損株を作製して、サイクリック電子伝達活性を評価するとともに光化学系 II および光化学系 I の光阻害について解析を行った。

#### 4.研究成果

本研究では、強光により活性を失った光化学系 II ( PSII ) の修復過程に果たす OCP の役割を明らかにするため、OCP 欠損株および過剰発現株を作製し解析を行った。光阻害と光損傷を区別して解析を行ったところ、野生株に対して欠損株における光阻害の度合いは有意に低く、過剰発現株では有意に活性が高かった。しかし、光損傷の度合いは三者で差がなかったことから、OCP は PSII の修復促進を通じて光阻害の緩和に寄与することが示された。また、OCP 過剰発現株における PSII 反応中心タンパク質およびチラコイド膜の新規合成速度が増加したこと、OCP 過剰発現株における強光下での一重項酸素の発生量が低下したことを示した。これらの結果から、OCP 依存的な NPQ は、翻訳因子を阻害する一重項酸素の発生を抑えることで、新規タンパク質合成を保護および PSII の修復を促進することで、強光下での PSII 活性維持の役割を果たすことが明らかになった。

さらに、サイクリック電子伝達に関与する PGR5, NdhS の単独欠損変異株および二重変異株を作製し、変異が光化学系の光阻害へ与える影響を解析した。いずれの欠損変異株においても、強光下での光化学系 II および光化学系 I の活性は、野生株とほとんど差がなかった。一方野生株では、光条件が強光へとシフトする際にサイクリック電子伝達活性が増加する光活性化が観測されたが、この光活性化は PGR5 を欠損すると見られなかった。加えて、この光活性化に伴い細胞内 ATP レベルが増加する可能性が示唆された。これらのことから PGR5 は、光環境変動時にサイクリック電子伝達のファインチューニングを介して細胞のホメオスタシスに寄与している可能性が考えられる。

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

1. Overexpression of Orange Carotenoid Protein Protects the Repair of Photosystem II under Strong Light in *Synechocystis* sp. PCC 6803

<u>Hiroko Takahashi</u>, Yuri Kusama, Xinxiang Li, Shinichi Takaichi, and Yoshitaka Nishiyama *Plant Cell Physiol.*, (2019) Vol. 60, 367-375

査読有り

2. 光合成におけるカロテノイドの機能

高橋拓子、西山佳孝

日本植物学会刊行 *植物科学の最前線 (BSJ-Review)* (2018) 第 10 巻, 50-62 査読有り

[学会発表](計 5 件)

1. シアノバクテリア光化学系IIの光防御機構におけるオレンジカロテノイドプロテインの機能解析

高橋拓子、草間友里、李新祥、西山佳孝

第57回日本植物生理学会(2016)国内学会/ポスター発表

2. シアノバクテリア光化学系IIの光防御機構におけるオレンジカロテノイドプロテインの役割

高橋拓子、草間友里、李新祥、伊藤繁、山川伯壽、西山佳孝 第7回日本光合成学会(2016)国内学会/ポスター発表

3. Roles of the overexpression of orange carotenoid protein on the protection of photosystem II against photoinhibition in Synechocystis sp. PCC 6803

<u>Hiroko Takahashi</u>, Yuri Kusama, Xinxiang Li, Shinichi Takaichi, Shigeru Itoh, Hisanori Yamakawa and Yoshitaka Nishiyama

Finnish-Japanese Symposium (2016) 国際学会 / 招待講演

4. シアノバクテリア光化学系IIの光防御機構におけるオレンジカロテノイドプロテインの役割

高橋拓子、草間友里、李新祥、高市真一、伊藤繁、山川伯壽、西山佳孝 第 58 回日本植物生理学会 (2017) 国内学会 / 口頭発表

5. シアノバクテリアの強光応答におけるサイクリック電子伝達の役割 髙木健輔、<u>高橋拓子</u>、西山佳孝 第9回日本光合成学会(2018)国内学会/ポスター発表

[図書](計 0件)

[産業財産権]

○出願状況(計 0件)

名称: 発明者: 権類: 番号: 番願年: 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: 国内外の別:

〔その他〕

## ホームページ等

# 6.研究組織

(1)研究分担者

該当なし

研究分担者氏名: ローマ字氏名: 所属研究機関名:

部局名:職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名:西山 佳孝

ローマ字氏名: NISHIYAMA Yoshitaka

研究協力者氏名: 髙木 健輔 ローマ字氏名: TAKAGI Kensuke

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。