

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16161

研究課題名（和文）光合成の修復における脂質代謝機構の解明

研究課題名（英文）Roles of lipid turnover in repair of photosystem II

研究代表者

神保 晴彦（Jimbo, Haruhiko）

東京大学・大学院総合文化研究科・助教

研究者番号：50835965

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）：光合成は光エネルギーを使って、水から電子を引き抜き、細胞内へと供給している。その結果として、酸素と炭素固定産物が生み出され、地球上のほぼ全ての生物を支える礎となっている。しかし、過剰な光エネルギーは光合成を傷害し、不活性化してしまう。細胞内では、不活化した光合成を修復する機構があるが、膜脂質との関わりは不明であった。本研究では、膜脂質の代謝回転が光合成の修復過程に寄与していることを明らかにした。また、環境ストレスに応答した膜脂質の変化が光合成活性を維持する上で重要な働きを持つことを明らかにし、学術論文として発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低炭素社会への転換に対する世界的な期待から、光合成生物を用いた研究は大きな転換期を迎えようと考えられる。

その上で本研究は、光合成の修復機構の解明という基礎科学的な側面だけではなく、修復機構を改変することによる光合成生物の物質生産速度の向上などといった応用的な展開が望める。また近年、光合成生物を用いたバイオディーゼルや油脂生産に関する研究が盛んに行われているが、本研究で明らかになったことと融合することで、これまで予想されなかった新たな生産技術の開発に役立てることができると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Photosynthesis uses light energy from the sun and supports almost all organisms on the earth by providing oxygen molecules and carbohydrates. Excess light damages and inactivates photosynthesis, which refers as photoinhibition. In the living cells, damaged photosynthesis is repaired by the proteolysis-based repair cycle (Repair). Photosynthesis occurs on the lipid membranes, however, the roles of membrane lipids in the repair of photosynthesis are still unknown. In this project, I revealed that lipid turnover is necessary for the repair of photosynthesis. In addition, I revealed the importance of lipid remodeling responding to the environmental stress in the maintenance of photosynthetic activity and reported as a scientific paper.

研究分野：光合成

キーワード：光合成 修復 脂質 代謝回転 シアノバクテリア

1. 研究開始当初の背景

光合成は光に感受性が高く、容易に失活してしまう。この現象は光阻害と呼ばれる。光阻害は、植物の成長や物質生産を妨げる要因となるため、その機構解明はバイオマス生産研究の重要な課題となっている。光阻害は光化学系 II (PSII) が損傷する過程(損傷)と損傷した PSII を修復する過程(修復)に分けて考えることができる。修復の過程では PSII の反応中心タンパク質である D1 が損傷を受けた後、FtsH エキソプロテアーゼと Deg エンドプロテアーゼによって効率的に分解される。D1 タンパク質の分解はその後の新規合成と連動しており、即座に新しい D1 に取り替えられる。合成された D1 は、プロセッシングを経て活性型となり、PSII が再構築される(図1)。シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 株の D1 には多くの脂質分子が相互作用している (Umena et al. Nature 2011)。これまでの光阻害の研究は、主に D1 の分解と新規合成にのみ着目して行われてきた。しかし、修復においては、D1 だけでなく D1 に結合した脂質の代謝回転も重要であると考えられる。

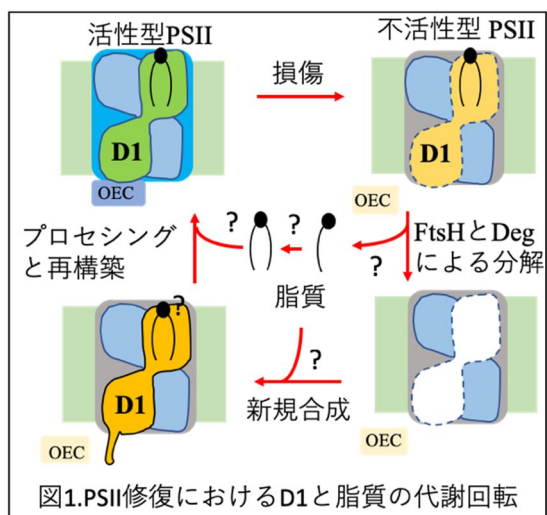


図1.PSII修復におけるD1と脂質の代謝回転

PSII 修復における脂質の役割については、脂質合成酵素の欠損株を用いて研究されており、ホスファチジルグリセロール (PG) が PSII の機能や維持に必須であることがわかっている。シアノバクテリアには、PG の他にスルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG)、ジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG)、モノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG) が細胞の構成脂質として含まれる。これらのうち PG の合成が欠損したシアノバクテリア株では、PSII の光阻害が促進することが報告されている (Sakurai et al. Plant Physiol. 2003)。また、脂質から外された脂肪酸を再度、脂質へリサイクルする過程を触媒するアシル-ACP 合成酵素 (AAS) の欠損株では、PSII 修復が顕著に阻害されることが報告されている (Takatani et al. Plant Cell Physiol. 2015)。これらの研究は、脂質自体の機能を明らかにした研究であるが、PSII 修復のような動的な作用における脂質の働きを説明するには不十分であった。

2. 研究の目的

本研究では、PSII 修復における脂質代謝の役割を明らかにし、脂質とタンパク質の代謝回転を包括的に解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 脂質代謝回転による PSII 光阻害への影響

本研究では、グリセロール骨格の脂肪酸がエーテル結合した人工 PG を PG 欠損株に加えて PSII の光阻害を観察した。シアノバクテリアの全ての脂質はエステル結合を介して脂肪酸と結合しており、エーテル型人工 PG は代謝されない。

また、シアノバクテリアですでに報告されているリパーゼについて生化学的な解析を行った。また各種リパーゼ変異体を作成し、PSII 光阻害および修復への影響を解析した。

脂質代謝回転の過程でリパーゼが膜脂質に作用すると、膜脂質が分解され、遊離脂肪酸 (FFA) が生成する。FFA は脂肪酸の種類だけ多様性があるため、本研究では、シアノバクテリアの外部から FFA を加えることで、PSII 光阻害への影響を解析した。

(2) 膜脂質転換による PSII 活性への影響

脂質代謝のバランスによって膜脂質の組成が変わり、膜脂質転換が起きる。そこで、本研究では光酸化ストレスとして低 CO₂ 条件における膜脂質組成の変化を HPLC-ELSD で解析した。また、遺伝子発現操作によって膜脂質組成を変化させた変異株を作成し、PSII 活性への影響を解析した。

4. 研究成果

(1) リパーゼによる PSII 修復の促進

PG を合成することができないシアノバクテリア変異体 *pgsA* に sn-2 位の脂肪酸がエーテル結合した PG を加えると、PSII 修復が阻害された。しかし、sn-1 位のエーテル結合は PSII 修復に影響を及ぼさなかった。以上のことから、PSII 修復の過程において PG のターンオーバーが PSII 修復に寄与していることが示唆された。また、シアノバクテリアに存在するホスホリパーゼ A2

(PLA2)を生化学的に解析し、PGのsn-2に結合した脂肪酸を切り出す活性を持つことを明らかにした。このPLA2をコードする遺伝子を欠損した欠損株を作成し、光阻害への影響を明らかにしたところ、PSII修復におけるD1の分解が阻害されることで、PSII修復が遅延していることを明らかにした。

また、別のリパーゼについて生化学的に解析し、MGDGやDGDGなどのガラクト糖脂質のsn-1に結合した脂肪酸を分解する活性を持つことがわかり、ガラクトリパーゼA1(GLA1)と定義した。GLA1をコードする遺伝子を欠損した変異体を作成して、PSII光阻害への影響を解析したところ、PSII修復が阻害されていることがわかった。これらリパーゼによるPSII修復への影響は、これまでに明らかではなく、該当の分野に大きなインパクトを与えた。

異なる種類のFFAを細胞外に添加し、PSII光阻害への影響を解析したところ、16:0や18:0といった長鎖飽和脂肪酸はPSII修復を促進することがわかった。しかし、12:0などの中鎖飽和脂肪酸はPSII修復を阻害した。また、18:3などの多価不飽和脂肪酸は、PSII損傷の過程を促進することでPSII光阻害を促進することがわかった。本研究成果は国際的なオープンアクセス誌Int.J.Mol.Sci.に論文が掲載された。

(2) 低CO₂に応答した膜脂質転換の役割

低CO₂条件下で培養したシアノバクテリアにおいてはPG量が増加し、MGDG量が減少していた。そこで、PGの前駆体となるホスファチジン酸(PA)を、糖脂質の前駆体となるジアシルグリセロール(DG)へと変換する酵素(ホスファチジン酸ホスファターゼ:PAP)を過剰発現させることで、PG量を人為的に低下させた。すると、高CO₂条件下では特に光合成や生育への影響は見られなかったものの、低CO₂条件下では顕著にPSII活性や生育が阻害された。本研究は、これまで、主に栄養素に関してのみ研究が進んでいた膜脂質転換という機構について新たに環境ストレスの観点を取り入れることで、光合成の環境ストレス応答について新しい視点を見出すものであった。また、本研究成果は国際的な植物学専門誌であるPlant J.に論文が掲載された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Jimbo Haruhiko, Izuhara Taichi, Hirashima Takashi, Endo Kaichiro, Nakamura Yuki, Wada Hajime	4. 巻 105
2. 論文標題 Membrane lipid remodeling is required for photosystem II function under low CO ₂	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Plant Journal	6. 最初と最後の頁 245 ~ 253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/tpj.15054	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Jimbo Haruhiko, Takagi Kensuke, Hirashima Takashi, Nishiyama Yoshitaka, Wada Hajime	4. 巻 21
2. 論文標題 Long-Chain Saturated Fatty Acids, Palmitic and Stearic Acids, Enhance the Repair of Photosystem II	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7509 ~ 7509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21207509	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 -
1. 著者名 Sakamoto Takayuki, Takatani Nobuyuki, Sonoike Kintake, Jimbo Haruhiko, Nishiyama Yoshitaka, Omata Tatsuo	4. 巻 -
2. 論文標題 Dissection of the Mechanisms of Growth Inhibition Resulting from Loss of the PII Protein in the Cyanobacterium <i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Izuhara Taichi, Kaihatsu Ikumi, Jimbo Haruhiko, Takaichi Shinichi, Nishiyama Yoshitaka	4. 巻 11
2. 論文標題 Elevated Levels of Specific Carotenoids During Acclimation to Strong Light Protect the Repair of Photosystem II in <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2020.01030	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 -

1. 著者名 Hirashima Takashi, Jimbo Haruhiko, Kobayashi Koichi, Wada Hajime	4. 巻 534
2. 論文標題 A START domain-containing protein is involved in the incorporation of ER-derived fatty acids into chloroplast glycolipids in <i>Marchantia polymorpha</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 436 ~ 441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.11.063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jimbo Haruhiko, Izuhara Taichi, Hihara Yukako, Hisabori Toru, Nishiyama Yoshitaka	4. 巻 116
2. 論文標題 Light-inducible expression of translation factor EF-Tu during acclimation to strong light enhances the repair of photosystem II	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 21268 ~ 21273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1909520116	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 神保晴彦、高木健輔、平嶋孝志、出原太智、遠藤嘉一郎、中村友輝、和田元
2. 発表標題 シアノバクテリア <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803における光酸化ストレスに応答した膜脂質転換
3. 学会等名 第62回植物生理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Haruhiko Jimbo, Kaichiro Endo, Masato Abe, Hajime Wada
2. 発表標題 Effects of the turnover of phosphatidylglycerol in photoinhibition of PSII
3. 学会等名 Japan-US Joint seminar (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神保 晴彦、遠藤 嘉一郎、安部 真人、和田 元
2. 発表標題 光化学系IIの光阻害におけるPG代謝回転の役割
3. 学会等名 第61回植物生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神保 晴彦
2. 発表標題 光化学系II修復におけるタンパク質と脂質の代謝回転
3. 学会等名 光合成学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 神保 晴彦
2. 発表標題 光合成の活性調節機構における脂質の機能
3. 学会等名 令和2年度岡山大学資源植物科学研究所共同研究ワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神保 晴彦
2. 発表標題 光化学系IIの修復におけるPGの代謝回転の役割
3. 学会等名 光合成学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神保晴彦
2. 発表標題 PSII光阻害におけるPGとD1代謝回転の関係
3. 学会等名 植物脂質シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 神保晴彦
2. 発表標題 光化学系IIの修復におけるPG代謝回転の役割
3. 学会等名 ラン藻の分子生物学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 東京大学教養学部基礎生命科学実験編集委員会	4. 発行年 2021年
2. 出版社 東京大学出版会	5. 総ページ数 232
3. 書名 基礎生命科学実験 第3版	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------

その他の国・地域	台湾	アカデミアシニカ		
----------	----	----------	--	--