

令和 5 年 6 月 11 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06528

研究課題名（和文）好熱性シアノバクテリア由来光合成超複合体の機能・構造解明

研究課題名（英文）Functional and structural elucidation of photosynthetic supercomplexes from thermophilic cyanobacteria

研究代表者

川上 恵典（Kawakami, Keisuke）

国立研究開発法人理化学研究所・放射光科学研究センター・研究員

研究者番号：40619904

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）：地球上の藻類は、太陽の光エネルギーを利用する光合成によって生命活動を行っている。フィコビリソーム（PBS）は、吸収した光エネルギーを光化学系蛋白質複合体に伝達する巨大な水溶性光捕集性蛋白質複合体である。PBSの立体構造を明らかにすることは、藻類の光捕集とそのエネルギー伝達の仕組みを理解する上で重要である。本研究では、好熱性シアノバクテリア由来PBSの立体構造をクライオ電子顕微鏡を用いて解析し、その詳細な構造を明らかにするとともに、PBSの光捕集機構を解明した。その結果、PBSの立体構造を3.7 Å分解能でその詳細構造を明らかにし、分光学的解析とともにPBSのエネルギー移動経路を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

藻類は太陽の光エネルギーを吸収して光合成を行っている。藻類が持つ巨大な水溶性の光捕集蛋白質フィコビリソーム（PBS）は、吸収した光エネルギーを主に光化学系IIに伝達する。PBSの立体構造とその機能を明らかにすることは、藻類の光捕集・エネルギー伝達の仕組みを理解する上で極めて重要である。本研究によって、PBSの立体構造とその機能を、クライオ電子顕微鏡解析によって明らかにした。本研究成果は、光合成の初期過程である光エネルギーを吸収する仕組みを解明したものである。藻類の光捕集の仕組みを理解し、この知見を人工光合成研究に取り入れることで、高効率光エネルギー伝達デバイスの開発に貢献できると期待される。

研究成果の概要（英文）：Algae on the earth carry out their life through photosynthesis, which utilizes light energy from the sun. Phycobilisome (PBS) is a large water-soluble light-harvesting protein complex that transfers absorbed light energy to photosystem proteins complexes [photosystem I (PSI), photosystem II (PSII)]. The structure of PBS is important for understanding the mechanism of light-harvesting and energy transfer in algae. In this study, the structure of PBS from thermophilic cyanobacteria was analyzed using cryo-electron microscopy to reveal its detailed structure and to elucidate the light-harvesting mechanism of PBS. As a result, I was able to analyze the structure of PBS from thermophilic cyanobacteria at a 3.7-angstrom resolution to reveal its detailed structure, and the energy transfer pathway in PBS was clarified together with spectroscopic analysis (Kawakami et al., BBA, 2020; Hirota et al., Photosynth. Res., 2021; Kawakami et al., Nat. Commun., 2022).

研究分野：構造生物学、光合成、植物生理学

キーワード：光合成 光捕集 光エネルギー伝達 光化学系 クライオ電子顕微鏡

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

地球上に生息する植物や藻類は、太陽の光エネルギーを利用する光合成によって生命活動を行っている。フィコビリソーム (PBS) は巨大な水溶性の光捕集蛋白質複合体であり、吸収した光エネルギーを光化学系蛋白質 (光化学系 I (PSI) と光化学系 II (PSII)) へと伝達し、そのエネルギーを電荷分離・電子伝達反応に利用している。PBS の立体構造を明らかにすることは、藻類の光捕集・エネルギー伝達の仕組みを理解する上で極めて重要である。しかし、PBS の構造は極めて不安定であったため、従来の蛋白質構造解析法の 1 つである X 線結晶構造解析で解析することは不可能であった。このため、研究代表者はクライオ電子顕微鏡を用いた PBS の立体構造解明に取り組み、さらに得られた PBS の分光解析を行うことで、PBS の光捕集とそのエネルギー伝達様式を明らかにすることを提案した。

2. 研究の目的

PBS の立体構造とその光エネルギーの捕集・エネルギー伝達の仕組みを明らかにすることを研究目的とし、好熱性シアノバクテリアである *Thermosynechococcus vulcanus* (*T. vulcanus*) を研究材料とした。

3. 研究の方法

T. vulcanus は和歌山県の湯の峰温泉から単離されたものを用い、50℃ で約 1 週間人工気象器を用いて培養し、その後遠心処理によって *T. vulcanus* 細胞を回収した。回収した *T. vulcanus* 細胞を研究代表者が最適化した試料調製法によって PBS を単離・精製し、得られた PBS をクライオ電子顕微鏡を用いてその全体構造を撮影し、単粒子解析によって PBS の立体構造を三次元再構築した。さらに、得られた PBS の分光解析を行うことで、PBS 内のエネルギー伝達様式を解析した。

4. 研究成果

2020 年度は、好熱性シアノバクテリア由来 PBS の全体構造を負染色構造解析によって明らかにし、PBS を構成する各サブユニットの相互作用について議論した (Kawakami et al., *Biochimica et Biophysica Acta*, 2020)。そして 2021 年度は、共同研究者と共に分光学的解析によって PBS の光エネルギー伝達の仕組みを明らかにした (Hirota et al., *Photosynth Res*, 2021)。そして 2022 年度は、クライオ電子顕微鏡解析によって PBS の中心構造とその周りにあるアンテナ構造をそれぞれ 3.7 Å と 4.2 Å 分解能で解析、PBS の内部構造を詳細に調べ、PBS 内で起こる高効率光エネルギー

ギー伝達機構を明らかにした (Kawakami et al., *Nat Commun*, 2022)

本研究によって、藻類の持つ PBS の光吸収とそのエネルギー伝達の仕組みが明らかとなり、この知見を人工光合成研究に取り入れることで、高効率光エネルギー伝達デバイスの開発に貢献することができるかと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hirota Yuma, Serikawa Hiroki, Kawakami Keisuke, Ueno Masato, Kamiya Nobuo, Kosumi Daisuke	4. 巻 148
2. 論文標題 Ultrafast energy transfer dynamics of phycobilisome from <i>Thermosynechococcus vulcanus</i> , as revealed by ps fluorescence and fs pump-probe spectroscopies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Photosynthesis Research	6. 最初と最後の頁 181 ~ 190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11120-021-00844-0	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 Kawakami Keisuke, Nagao Ryo, Tahara Yuhei O., Hamaguchi Tasuku, Suzuki Takehiro, Dohmae Naoshi, Kosumi Daisuke, Shen Jian-Ren, Miyata Makoto, Yonekura Koji, Kamiya Nobuo	4. 巻 1862
2. 論文標題 Structural implications for a phycobilisome complex from the thermophilic cyanobacterium <i>Thermosynechococcus vulcanus</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics	6. 最初と最後の頁 148458 ~ 148458
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbabi.2021.148458	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 Kato Koji, Hamaguchi Tasuku, Nagao Ryo, Kawakami Keisuke, Ueno Yoshifumi, Suzuki Takehiro, Uchida Hiroko, Murakami Akio, Nakajima Yoshiki, Yokono Makio, Akimoto Seiji, Dohmae Naoshi, Yonekura Koji, Shen Jian-Ren	4. 巻 11
2. 論文標題 Structural basis for the absence of low-energy chlorophylls in a photosystem I trimer from <i>Gloeobacter violaceus</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 1 ~ 34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/elife.73990	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 Hamaguchi Tasuku, Kawakami Keisuke, Shinzawa-Itoh Kyoko, Inoue-Kashino Natsuko, Itoh Shigeru, Ifuku Kentaro, Yamashita Eiki, Maeda Kou, Yonekura Koji, Kashino Yasuhiro	4. 巻 12
2. 論文標題 Structure of the far-red light utilizing photosystem I of <i>Acaryochloris marina</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-22502-8	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 Kim Eunuchul, Kawakami Keisuke, Sato Ryoichi, Ishii Asako, Minagawa Jun	4. 巻 11
2. 論文標題 Photoprotective Capabilities of Light-Harvesting Complex II Trimers in the Green Alga <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 7755 ~ 7761
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.0c02098	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 Shimamoto Taro, Nakakubo Tatsuki, Noji Tomoyasu, Koeda Shuhei, Kawakami Keisuke, Kamiya Nobuo, Mizuno Toshihisa	4. 巻 22
2. 論文標題 Design of PG-Surfactants Bearing Polyacrylamide Polymer Chain to Solubilize Membrane Proteins in a Surfactant-Free Buffer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1524 ~ 1524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22041524	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 Takekuma Yuya, Ikeda Nobuhiro, Kawakami Keisuke, Kamiya Nobuo, Nango Mamoru, Nagata Morio	4. 巻 10
2. 論文標題 Photocurrent generation by a photosystem I-NiO photocathode for a p-type biophotovoltaic tandem cell	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 15734 ~ 15739
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0ra01793k	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 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 浜口祐、○川上恵典、伊藤(新澤)恭子、菓子野(井上)名津子、伊藤繁、伊福健太郎、山下栄樹、前田皐臣、米倉功治、菓子野康浩
2. 発表標題 Acaryochloris marina由来光化学系I複合体の立体構造解析
3. 学会等名 第28回「光合成セミナー2021」(オンライン)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ○川上恵典、浜口祐、広瀬侑、小澄大輔、宮田真人、神谷信夫、米倉功治
2. 発表標題 巨大アンテナ蛋白質フィコビリソームコアの クライオ電子顕微鏡解析
3. 学会等名 新学術領域研究 第4回合同班会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川上恵典
2. 発表標題 光合成タンパク質の精製 とその立体構造解析
3. 学会等名 第1回光合成タンパク質勉強会（オンライン）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ○川上恵典、浜口祐、広瀬侑、小澄大輔、宮田真人、神谷信夫、米倉功治
2. 発表標題 巨大アンテナ蛋白質フィコビリソームコアの クライオ電子顕微鏡解析
3. 学会等名 新学術領域研究第4回最終公開シンポジウム（ハイブリッド）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 ○川上恵典、浜口祐、広瀬侑、小澄大輔、宮田真人、神谷信夫、米倉功治
2. 発表標題 Core structure of a thermophilic cyanobacterial light-harvesting phycobilisome
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会（オンライン）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川上恵典
2. 発表標題 蛋白質複合体の立体構造解析とその評価
3. 学会等名 岡山大学資源植物科学研究所共同研究ワークショップ「多様な光合成研究による植物の環境応答機構解明への挑戦（招待講演）」
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本化学会	4. 発行年 2020年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 224
3. 書名 光エネルギー変換における分子触媒の新展開	

〔産業財産権〕

〔その他〕

光捕集複合体フィコビリソームの単粒子構造解析 https://www.riken.jp/press/2021/20210610_4/index.html

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	長尾 遼 (Nagao Ryo) (30633961)	岡山大学・異分野基礎科学研究所・特任講師 (15301)	

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