

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和5（2023）年度 中間評価用〕

令和5年3月31日現在

研究期間：2021～2025
課題番号：21H05040
研究課題名：植物における過剰光ストレス応答の総合研究
研究代表者氏名（ローマ字）：皆川 純（MINAGAWA Jun）
所属研究機関・部局・職：基礎生物学研究所・環境光生物学研究部門・教授
研究者番号：80280725

研究の概要：

過剰光環境下にあっても安全に光合成を行う保護機構 NPQ（non-photochemical quenching）に着目し、緑藻を題材に強光シグナルによって開始される一連の光保護反応を明らかにした上で、解析を植物に展開し、超複合体のマクロ構造制御を中心に明らかにする。本研究により、効率よくしかも安全に光合成を行う仕組みの統一的理解を目指す。

研究分野：植物生理学、生物物理学、構造生物学

キーワード：光合成、環境適応、NPQ、シグナル伝達、クライオ電子顕微鏡、高速 AFM

1．研究開始当初の背景

植物の光合成装置は「光のエネルギーを効率よく利用し CO₂ を固定する」ためにデザインされている一方で、強い光を浴びると、クロロフィルが過剰に励起されて活性酸素が生産されるため損傷してしまう。これを防ぐため、植物は光合成反応の入り口である集光アンテナにおいて、光エネルギーを熱として散逸させる NPQ（Non-photochemical quenching）と呼ばれるしくみにより光合成反応にブレーキをかける。NPQ の生理的な重要性が認識されるにつれ世界中で研究が進められたが、多段階にわたるそのメカニズムの全容は明らかではない。

2．研究の目的

本研究は、緑藻を題材に強光シグナルによって開始される NPQ を中心とした一連の光保護反応を明らかにした上で、解析を超複合体のマクロ構造に展開し、植物全体における光保護反応の統合理解を得ることを目標としている。具体的には、緑藻において強光に端を発する強光シグナル伝達系の解明（項目 I）、緑藻および植物光化学系における光保護反応メカニズムの解明（項目 II）、そして緑藻および植物光化学系における光保護反応構造基盤の解明（項目 III）を行う。

3．研究の方法

「項目 I. 発現」青色光受容体フォトトロピン以下のシグナル因子と葉緑体由来 retrograde シグナルをつなぐシグナル伝達系の全容を、分子遺伝学、細胞生物学アプローチにより明らかにする。
「項目 II. 機能」緑藻 NPQ 機構を、光保護タンパク質に結合したゼアキサンチンの機能を中心に生理生化学解析により理解する。陸上植物の NPQ 機構を、超複合体マクロ変化の分光学的解析により理解する。
「項目 III. 構造」緑藻 NPQ の構造基盤を光化学系 II 超複合体のクライオ電顕解析にて解析する。植物 NPQ の構造基盤を PSII 超複合体のチラコイド膜内ダイナミクス的高速 AFM による可視化にて明らかにする。

4．これまでの成果

- ・暗黒下かつ様々な CO₂ 濃度で LHCSR3 および一連の CCM（Carbon Concentrating Mechanism）関連遺伝子の挙動を調べた結果、高 CO₂ 濃度では LHCSR3/CCM 発現が抑制され、低 CO₂ 条件で LHCSR3/CCM 発現が誘導されること、強光はこれを補強することがわかり、緑藻 LHCSR3 誘導に関与する葉緑体からの retrograde シグナルが解明された。
- ・緑藻 *det1* 変異株（Aihara et al. (2019) *Nat. Plants*）は極めて NPQ 値が高いため、野生型細胞が生存できない強光下でもよく増殖する。この変異株では過剰光条件になると PSII 周辺部から集光アンテナが剥離し、PSII に集められた過剰光エネルギーが PSI に向けられることで PSII ストレスが低減されていることがわかった。

- ・緑藻 PSII 超複合体において、同一 LHCI 三量体であっても結合位置が異なるとクロロフィル配置やポリペプチドのコンフォメーションに違いが見られ、超複体内励起エネルギーの流れが変わる可能性が示された。
- ・世界に先駆けて高速 AFM で PSII 二量体が他の PSII 二量体と結合し高次構造を形成する様子を直接観察した。
- ・光保護タンパク質を過剰発現する *det1* 株を詳細に調べたところ、過剰光条件では PSII から集光アンテナが剥離され過剰光エネルギーを PSI にし向けることで PSII 励起ストレスを低減していることがわかった。
- ・ブラシノ藻の弱光型 PSI 超複合体の構造決定を行ったところ、植物-緑藻ハイブリッド型であり、さらにステート 2 (PSI と比べ PSII を過剰励起した状態) 構造同様、リン酸化 LHCI 三量体を結合していた。

5. 今後の計画

1. 緑藻 PSII-LHCI 超複合体の NPQ メカニズム

緑藻の NPQ はゼアキサンチンに依存しないとされてきたが再検証が必要である。これらの解析に有効な変異株 *det1* をすでに見出しているため、*det1/lhcsr1/lhcsr3* 三重変異株を作成した上で、緑藻におけるゼアキサンチン依存 NPQ を詳細に解析する。

- ・キサントフィル成分解析、NPQ 解析
- ・クロロフィルやカロテノイドの微視的構造変化解析

2. 植物チラコイド膜における PSII 超複合体マクロ構造制御による NPQ メカニズム

シロイヌナズナチラコイド膜の高速 AFM 解析技術基盤が整備されたので、PSII 超複合体マクロ構造の *in situ* 動態解析を進める。

- ・NPQ 測定
- ・PSII 超複合体マクロ構造の静的構造解析
- ・PSII 超複合体マクロ構造の動態解析
- ・以上の解析を NPQ 変異株に展開する

3. 原始緑藻の強光適応

オストレオコッカス PSI 超複合体構造は、従来色相順化と考えられてきたステート遷移の再検証の必要性を示唆している。この可能性を、以下の解析を通して検討する。

- ・オストレオコッカス PSI 超複合体、PSII 超複合体の精密精製
- ・オストレオコッカス PSI 超複合体、PSII 超複合体の光学特性の解析
- ・オストレオコッカス PSI 超複合体、PSII 超複合体の生化学特性の解析

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Yamasaki, T., Tokutsu, R., Minagawa, J. (2023) Small RNA-mediated silencing of phototropin suppresses the induction of photoprotection in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, in press. [査読有]
2. Ruiz-Sola, M., Flori, S., Yuan, Y., Villain, G., Sanz-Luque, E., Redekopp, P., Tokutsu, R., Kueken, A., Tschla, A., Kepesidis, G., Allorent, G., Arend, M., Iacono, F., Finazzi, G., Hippler, M., Nikoloski, Z., Minagawa, J., Grossman, A., Petroustos, D. (2023) Light-independent regulation of algal photoprotection by CO₂ availability. *Nat. Commun.*, in press. [査読有]
3. Ishii, A., Shan, J., Sheng, S., Kim, E., Watanabe, A., Yokono, M., Noda, C., Chihong, S., Murata, K., *Liu, Z., Minagawa, J. (2023) The photosystem I supercomplex from a primordial green alga *Ostreococcus tauri* harbors three light-harvesting complex trimers. *eLife* 12:e84488. [査読有]
4. Zhang, X. J., Fujita, Y., Kaneda, N., Tokutsu, R., Ye, S., Minagawa, J., Shibata, Y., (2022) State transition is quiet around pyrenoid and LHCI phosphorylation is not essential for thylakoid deformation in *Chlamydomonas* 137c. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 119 (37) e2122032119. [査読有]
5. Kim, E., Kubota-Kawai, H. Kawai, F., Yokono, M., Minagawa, J. (2022) Conformation of light-harvesting complex II trimer depends upon its binding site. *J. Phys. Chem. B.* 126: 5855-5865. [査読有]

7. ホームページ等

<https://www.nibb.ac.jp/photo/>