

令和 6 年 5 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06224

研究課題名(和文) 緑藻メソスティグマのユニークな光防御機構の解析 淡水性緑藻から陸上植物へ

研究課題名(英文) Analysis of the Unique Photoprotective Mechanism of Green Algae Mesostigma - From Freshwater Green Algae to Land Plants

研究代表者

高林 厚史 (Takabayashi, Atsushi)

北海道大学・低温科学研究所・助教

研究者番号：90546417

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：植物にとって陸上は乾燥、UV、強光などの環境ストレスに曝される過酷な環境である。そのため、淡水性緑藻から陸上植物への進化の際には光防御機構を獲得する必要があった。その防御機構の制御を司る遺伝子がPsbSである。PsbSは緑藻と陸上植物で機能や役割が異なると報告されているが、どの時点から変わったのかは不明である。本研究では、陸上植物の祖先のストレプト藻類のPsbS遺伝子をシロイヌナズナに導入した結果、そのPsbSが陸上植物と同様に機能することを見出した。興味深いことに、緑藻のPsbSの安定性は顕著に低かったことから、安定性の向上が陸上植物への進化の鍵だったのだろう。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物は光に対する防御機構を持たなければ、強い太陽光を受けると直ちに枯死してしまう。

そのため、水中に生息する緑藻から陸上植物への進化においては光防御機構の獲得が極めて重要なプロセスであった。本研究ではその光防御機構の制御を司るPsbSタンパク質に着目し、陸上植物への進化においてはその安定性の向上が鍵であったらうことを見出した。

研究成果の概要(英文)：For plants, land is a harsh environment where they are exposed to environmental stresses such as drought, UV, and intense light. Therefore, it was necessary for plants to acquire photoprotective mechanisms as they evolved from freshwater green algae to land plants. It has been reported that the function and role of PsbS differs between green algae and land plants, but it is unclear at what point this changed. In this study, we introduced the PsbS genes from some streptophytes, the ancestors of land plants, into *Arabidopsis thaliana*. We found that its PsbS functions similarly to that of land plants. Interestingly, the stability of PsbS from green algae was remarkably low, suggesting that increased stability of PsbS may have been the key to their evolution into land plants.

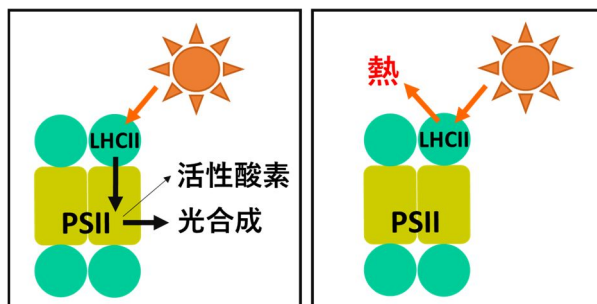
研究分野：植物科学

キーワード：光合成 陸上植物への進化 光防御機構

### 1. 研究開始当初の背景

陸上植物の誕生は地球の生命史における極めて重要なイベントであり、それにより陸上環境や大気環境が激変した。陸上植物に進化したのは淡水性緑藻であるストレプト藻の1系統である。

淡水環境と比べ、陸上は乾燥、強光、UV、高温/低温などのさまざまな環境ストレスに曝される過酷な環境である。そして光合成は「危険」な反応であり、吸収した光エネルギーが光合成活性を上回る状況では「活性酸素」を誘発する。これは環境ストレス下では決して珍しくない。そのため、光合成生物は過剰な光エネルギーを熱として散逸させる「熱放散」機構を有することで、環境ストレス下においても活性酸素を抑制している。興味深いことに、その機構の詳細はシアノバクテリア、緑藻、コケ植物、維管束植物それぞれに異なっている。



光防御機構は緑藻から陸上植物へとどのように進化したのだろうか？実は、その進化については明らかでない。なぜなら、植物の祖先である緑藻のストレプト藻類の光合成に関する研究の見解はほとんどないからである。

光防御機構の中で最も重要な機構は「熱放散機構」である。この機構は厳密に制御されており、吸収した光エネルギーが光合成活性よりも過剰な時には特に強く駆動される。その重要な役割を担う制御タンパク質は緑藻や植物では2つある。「LHCSR」と「PsbS」である。PsbSは陸上植物の熱放散に必須であるが、緑藻では寄与しないとの報告がある。その代わり、緑藻では、LHCSRが主要な制御因子である。このLHCSRは緑藻とコケ植物で保存されているが、維管束植物には存在しない(図2)。

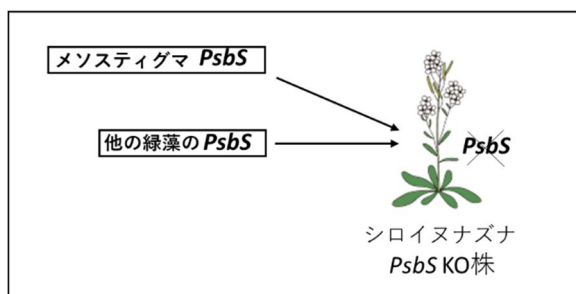
1) なぜ PsbS の機能と重要性が緑藻と陸上植物で大きく異なるのか、2) 維管束植物はなぜ LHCSR を失い PsbS だけを用いるのか、これらの問いは未解明のそして魅力的な謎である。

### 2. 研究の目的

申請者はこれまで、モデル維管束植物のシロイヌナズナ、モデルコケ植物のヒメツリガネゴケ、非モデル緑藻のメソスティグマ等の光化学系を Native-PAGE で単離し、その色素やプロテオームの解析を行ってきた。そして、その過程で植物の祖先であるストレプト藻類の中で最も早く分岐した「古い」種であるメソスティグマの光化学系の構成がとてもユニークであることを見出した(Aso et al. 2021)。これらを踏まえ、本研究では、緑藻から陸上植物への進化における、光防御機構、とりわけ熱放散機構のダイナミックな変化を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

申請者は緑藻から陸上植物への進化の系統関係を念頭に置いて、系統的な位置が異なる3種類の緑藻 PsbS をモデル植物のシロイヌナズナの PsbS 欠損変異株に導入し、緑藻の進化のどの時点から植物の PsbS と同様の分子機能を持つのかを明らかにすることにした。



申請者は、また、ユニークな集光アンテナ系を持つメソスティグマの光化学系 I と光化学系 II の構造解析を目指して、その分離と CryoEM による構造解析を進めることにした。

#### 4. 研究成果

本研究では、緑藻由来の 3 種類の PsbS とシロイヌナズナ由来の PsbS をシロイヌナズナの PsbS 欠損株に導入した。その際に、プロモーターと葉緑体移行シグナルはシロイヌナズナ PsbS のものを用いた。また、遺伝子配列はシロイヌナズナに合わせて最適化した。

3 種類の緑藻の PsbS 遺伝子およびシロイヌナズナの PsbS 遺伝子を導入した全 4 種類の形質転換体の作製に成功したため、それら形質転換体について、熱放散と PsbS タンパク質の蓄積量の量的関係性について解析した。その際、熱放散の指標としては NPQ もしくは qE を用いた。なお、PsbS タンパク質の蓄積量を見積もるために、Anti-FLAG 抗体を利用した Immunoblot 解析を行った。

その結果、形質転換体における PsbS タンパク質の蓄積量辺りの活性は緑藻とシロイヌナズナで大きな差はなかった。つまり、緑藻の PsbS タンパク質は、シロイヌナズナにおいて、植物の PsbS タンパク質と同等の熱放散誘導能を示すことが明らかになった。この結果は意外なものであり、現在論文投稿の準備中である。

また、メソスティグマの光化学系 I および光化学系 II の構造解析に関しては、ショ糖密度勾配遠心法で精製することに成功したため、その精製サンプルを用いて共同研究による CryoEM 解析を行った。現時点で、EM 密度マップ、および、暫定的な原子モデルが得られており、これはこれまでに報告された光化学系とは異なる特性を持っている。今後、さらなる解析を進めるとともに、論文投稿の準備を進めている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsumae Renon, Kameo Shinsa, Tanaka Ryouichi, Takabayashi Atsushi	4. 巻 63
2. 論文標題 Letter to the Editor: Weak-Acidic Clear-Native Polyacrylamide Gel Electrophoresis for the Separation of the Intact Forms of Thylakoid Protein Complexes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 883 ~ 885
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcac070	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 Sapeta Helena, Yokono Makio, Takabayashi Atsushi, Ueno Yoshifumi, Cordeiro Andre M, Hara Toshihiko, Tanaka Ayumi, Akimoto Seiji, Oliveira M Margarida, Tanaka Ryouichi	4. 巻 74
2. 論文標題 Reversible down-regulation of photosystems I and II leads to fast photosynthesis recovery after long-term drought in <i>Jatropha curcas</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 336 ~ 351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jxb/erac423	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 Kitao Mitsutoshi, Yazaki Kenichi, Tobita Hiroyuki, Agathokleous Evgenios, Kishimoto Junko, Takabayashi Atsushi, Tanaka Ryouichi	4. 巻 13
2. 論文標題 Exposure to strong irradiance exacerbates photoinhibition and suppresses N resorption during leaf senescence in shade-grown seedlings of fullmoon maple ( <i>Acer japonicum</i> )	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1006413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2022.1006413	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 Maeda Hanaki, Takahashi Koharu, Ueno Yoshifumi, Sakata Kei, Yokoyama Akari, Yarimizu Kozue, Myouga Fumiyo, Shinozaki Kazuo, Ozawa Shin-ichiro, Takahashi Yuichiro, Tanaka Ayumi, Ito Hisashi, Akimoto Seiji, Takabayashi Atsushi, Tanaka Ryouichi	4. 巻 135
2. 論文標題 Characterization of photosystem II assembly complexes containing ONE-HELIX PROTEIN1 in <i>Arabidopsis thaliana</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 361 ~ 376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10265-022-01376-x	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3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高林厚史
2. 発表標題 光捕集系の進化と光環境適応
3. 学会等名 第12回日本光合成学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 亀尾辰砂, 松前れのん, 田中亮一, 高林厚史
2. 発表標題 光化学系タンパク質複合体の安定な分離の ための CN-PAGE の改変
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 下原かこの, 高林厚史, 田中亮一
2. 発表標題 ツルマサキにおける $\beta$ -carotene および lutein の光化学系複合体への結合
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

生物適応研究室 <a href="http://www.lowtem.hokudai.ac.jp/plantadapt/top-j.html">http://www.lowtem.hokudai.ac.jp/plantadapt/top-j.html</a> 生物適応研究室 <a href="http://www.lowtem.hokudai.ac.jp/plantadapt/top-j.html">http://www.lowtem.hokudai.ac.jp/plantadapt/top-j.html</a>
--

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