

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K14795

研究課題名（和文）光合成の高速な修復機構の分子基盤の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the molecular mechanisms of rapid turnover of photodamaged photosystem II

研究代表者

神保 晴彦（Haruhiko, Jimbo）

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） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：光は光合成の駆動に必要であるが、過剰な光は光合成装置を損傷し、光合成活性の低下を引き起こす。光合成生物は損傷した光化学系II（PSII）を高速で修復することで光合成活性を保っている。本研究では、チラコイド膜におけるPSII修復過程の分子基盤の解明を目的とし、膜脂質を分解するリパーゼ遺伝子の探索とその機能について解析を行い、シアノバクテリアゲノムから3種類のリパーゼを同定した。それぞれ、ガラクトリパーゼ・ホスホリパーゼ・アシルプラストキノリパーゼとしてその機能解析や光合成における機能を明らかにした。本研究の成果は、高速で起こるPSII修復の分子基盤において膜脂質の代謝回転の重要性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PSII修復機構の研究は50年以上続いており、これまでに多くの遺伝子とその機能が明らかとなっている。しかし、膜脂質との関わりについては、不明な点が多い。本研究において、膜脂質の代謝回転によるPSII修復を明らかにしたことで、これまでのPSII修復機構の研究に新たなプレイヤーを追加することができた点は、学術的意義が高い。また、本研究の成果は、同じ光合成生物である植物や藻類にも応用することが可能であり、今後、植物や藻類をベースとした物質生産技術や農作物生産技術の開発においても社会的意義は大きいと思われる。

研究成果の概要（英文）：Light is necessary for driving photosynthesis, however the excess light energy damages photosystem II (PSII), which results in low activity of photosynthesis. Photosynthetic organisms maintain photosynthetic activity by rapidly repairing damaged PSII. In this study, with the aim of elucidating the molecular basis of the PSII repair process in thylakoid membranes, we searched for lipase genes that degrade membrane lipids and analyzed their functions, and identified three lipases from the cyanobacterial genome. Each of them was analyzed as a galactolipase, phospholipase or acylplastoquinone lipase, and their functions in functional analysis and photosynthesis were clarified. The results of this study demonstrate the importance of the metabolic turnover of membrane lipids in the molecular basis of fast PSII repair.

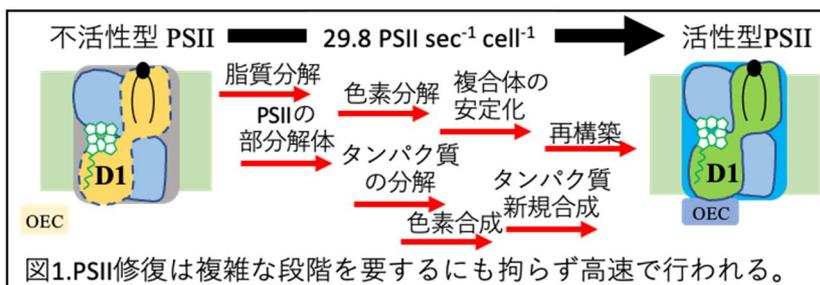
研究分野：植物生理

キーワード：光合成 光化学系II 光阻害 修復

## 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。損傷した光化学系 II (PSII) は迅速に修復されるが、修復の速度が損傷の速度を上回ると光阻害が顕在化する。PSII は、多くのタンパク質サブユニット・脂質・色素・イオンからなる精密な超巨大分子複合体であるにも拘らず、強光ストレス下においては  $29.8 \text{ PSII sec}^{-1} \text{ cell}^{-1}$  という、とてつもない速度で修復されている (図 1)。

修復の過程は、PSII の部分的な分解・新規合成・再構築に大きく分けることができ、それぞれの段階においてタ



ンパク質代謝を担うリボソームやプロテアーゼ、色素代謝系、脂質代謝酵素、複合体安定に関わるタンパク質などが働いている。これまでの PSII 修復の研究は、特定の段階に注目して研究されており、PSII 修復全体がどのようにして高速に達成されているのは不明であった。申請者はこれまでに、PSII に含まれる脂質分子の分解が、PSII の部分的な解体及びタンパク質分解に関わっていることを明らかにし (Jimbo et al. 論文投稿準備中)、修復全体がシームレスに起こる必要があると考えた。これまでにチラコイド膜上の Pam68 タンパク質が、PSII 修復に必要なタンパク質合成系とクロロフィル合成酵素を集合させること (Bučinská et al. Plant Physiol. 2018) がわかっているが、PSII 修復に働く複合体の全体像は不明である。代謝酵素の一部は、複合体 (メタボロン) を形成することによって、中間体を拡散させることなく直接、酵素から別の酵素へと受け渡すことで、反応を高効率化している。そこで、本研究では PSII 修復に関わる酵素群がチラコイド膜上でメタボロンを形成することで、高速な PSII 修復を達成していると考えた。本研究の成果は、これまでに明らかとなっている各段階の PSII 修復機構を総括して考える上で、学術的に非常に重要である。

## 2. 研究の目的

本研究では、高速な PSII 修復における包括的な分子機構を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 【リパーゼ遺伝子の同定とその機能解析】

本研究では、まず、膜脂質の代謝回転に関わるリパーゼ遺伝子の同定を行うため、系統解析を行なった。さらに、同定したリパーゼの遺伝子を大腸菌無細胞発現系を用いて大量に発現させ、ヒスチジンタグを用いて精製した。精製タンパク質酵素の性状解析を行い、酵素の基質特異性を明らかにした。また、それぞれのリパーゼ遺伝子を破壊した変異株を作製し、PSII 光阻害や D1 タンパク質の分解・新規合成活性を解析した。

### 【人工脂質分子 IKS02 を用いた膜上メタボロンの同定】

Avanti Polar lipids が販売している人工脂質分子 IKS02 を購入して、膜上メタボロンの同定を目指した。IKS02 は、リン脂質の一種であるホスファチジルコリンの極性部位に、UV 照射によって近傍のタンパク質と架橋するジアジリン基を持つ合成脂質である。本研究では、IKS02 をシアノバクテリアに取り込ませ、膜上にあるタンパク質を網羅的に人工膜脂質に架橋させ、プロテオーム解析によるタンパク質の同定を試みた。

## 4. 研究成果

### 【リパーゼ遺伝子の同定とその機能解析】

本研究では、3つのリパーゼ遺伝子 (lipA, pla2, apl) を同定することができた。それぞれ、lipA はモノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG) やジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG) などの中性糖脂質を基質とするガラクトリパーゼ A2 であった。また、Pla2 はホスファチジルグリセロール (PG) やスルホキノボシルジアシルグリセロール (SQDG) などの酸性脂質が基質であった。また、apl はどの膜脂質も中性脂質であるトリアシルグリセロール (TAG) も基質とはしなかった。近年、シアノバクテリアが TAG を蓄積するのかどうかについては大きな議論になっており、薄層クロマトグラフィー (TLC) 上で TAG と同じ位置にスポットとして検出されるアシルプラストキノール (APQ) が発見されている (Mori-Moriyama et al. BBRC 2023, Ishikawa et al. PNAS Nexus 2023) そこで、APQ を基質として、反応させたところ、Apl は APQ を基質とするアシルプラストキノールリパーゼ (APL) であることが明らかとなった。また、それぞれのリパーゼ遺伝子を欠損させた変異株を作製し、強光に対する応答を解析した。その結果、lipA, pla2 を欠損した株において、D1 タンパク質の分解が阻害され、PSII の修復が遅延していることが明らかになった。さらに、精製した PSII 二量体及び PSII 単量体にそれぞれ LipA や Pla2 を反応させると LipA は PSII 二量体を単量体に、Pla2 は PSII 単量体を RC47 複合体にそれぞれ解体した (図 2)。以上のことから、リパーゼによって損傷した PSII 複合体が適切に解体されることが、高速で行われる PSII 修復に重要であることを明らかにした (Jimb and Wada, Plant Physiol. 2023、図 2)。

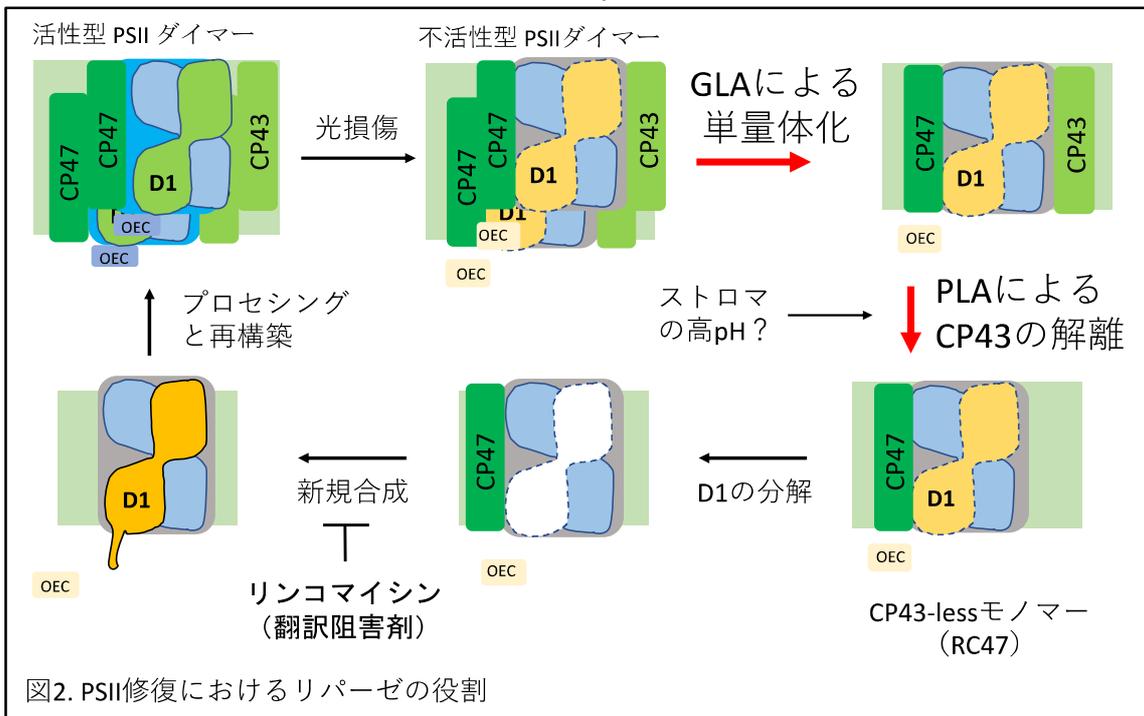


図2. PSII修復におけるリパーゼの役割

### 【人工脂質分子 IKS02 を用いた膜上メタボロンの同定】

本研究では、シアノバクテリアが細胞外の脂質分子を取り込む性質を利用して、人工脂質分子 IKS02 を細胞に取り込ませ、膜上のメタボロンを解明することを目指した。現在、IKS02 を取り込ませた細胞から膜上タンパク質群の精製と同定を進めているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Jimbo Haruhiko, Wada Hajime	4. 巻 191
2. 論文標題 Deacylation of galactolipids decomposes photosystem II dimers to enhance degradation of damaged D1 protein	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 87 ~ 95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plphys/kiac460	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 Endo Kaichiro, Abe Masato, Kawanishi Nobumasa, Jimbo Haruhiko, Kobayashi Koichi, Suzuki Tomoko, Nagata Noriko, Miyoshi Hideto, Wada Hajime	4. 巻 1867
2. 論文標題 Crucial importance of length of fatty-acyl chains bound to the sn-2 position of phosphatidylglycerol for growth and photosynthesis of <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids	6. 最初と最後の頁 159158 ~ 159158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbalip.2022.159158	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 Kurima Kazuki, Jimbo Haruhiko, Fujihara Takashi, Saito Masakazu, Ishikawa Toshiki, Wada Hajime	4. 巻 65
2. 論文標題 High Myristic Acid in Glycerolipids Enhances the Repair of Photodamaged Photosystem II under Strong Light	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Plant And Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 790 ~ 797
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcae021	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 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 神保晴彦、和田元
2. 発表標題 光化学系IIの修復におけるリパーゼの役割
3. 学会等名 第24回光合成学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 神保晴彦、和田元
2. 発表標題 光化学系II複合体の修復におけるガラクトリパーゼの役割
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 神保晴彦、和田元
2. 発表標題 シアノバクテリアの光合成におけるリパーゼの役割
3. 学会等名 日本植物脂質研究会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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