

令和元年6月19日現在

機関番号：63904

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26251033

研究課題名(和文)変動光環境における光合成機能制御

研究課題名(英文)Regulation of photosynthesis under variable light

研究代表者

皆川 純 (Minagawa, Jun)

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,100,000円

研究成果の概要(和文)：光合成生物の光受容は何桁もの光強度におよぶ。過剰な光によってもたらされる酸化ストレスは、主要な光防御応答であるqEクエンチングによって防御される。本研究では、qEエフェクタータンパク質LHCSRによるqEクエンチング誘導過程の詳細を明らかにした。まず、青色光受容体フォトリポピンによる青色光受容、さらにフォトリポピン欠失変異株の抑圧変異株の解析から、青色光シグナルがDET1-E3ユビキチンリガーゼ抑制がLHCSR遺伝子発現をもたらすこと、そして誘導されたLHCSRが光化学系IIにおいて熱散逸をおこすこと、および光化学系Iにおける光化学反応をおこすことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ほぼすべての光合成生物は直射日光を苦手としていることが明らかになり、光合成生物が過剰光をいかに凌いで光合成を行うかの重要性の認識が高まっている。地球上の二酸化炭素固定量の約半分は水中の光合成生物(藻類)が担うが、多くの藻類では過剰光をしのぐ仕組み(qEクエンチング)を、必要に応じて「誘導」していることが知られている。本研究はこの誘導の根幹を分子レベルで初めて明らかにした。フォトリポピンという陸上植物では光屈性等で知られる青色光受容体が藻類では光防御の起点となることがわかった。さらにその下流のシグナル伝達因子も明らかになり、本研究により光合成の環境適応研究は細胞生物学の領域に入った。

研究成果の概要(英文)：Light is essential for photosynthesis, but the amounts of light that exceed an organism's assimilation capacity cause photooxidative stress. Photosynthetic organisms minimize such potential harm through protection mechanisms referred to as non-photochemical quenching. One such mechanism called qE quenching is readily activated under high-light conditions. In this study, we investigated the details of the induction mechanism of qE quenching in a green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. LHCSRs have been proposed to mediate qE quenching in *C. reinhardtii* when grown under high-light conditions. We showed that qE requires blue-light perception by phototropin, LHCSRs gene expression, and light dissipation by LHCSRs transported in the chloroplast. We further showed that the phot mutation can be suppressed by mutations in an E3 ubiquitin ligase CUL4-DDB1 (DET1), suggesting this DET1-dependent E3 ubiquitin ligase plays a vital role in the blue light signal transduction in green algae.

研究分野：光合成

キーワード：光合成

## 1. 研究開始当初の背景

光合成系が環境に適応するしくみについては、近年その研究が集中的に行われた結果、飛躍的に理解が進み、その分子基盤にまで解明が進んだ。さまざまな変異株の解析が大きく貢献したが、それらの欠失変異株の多くは通常の実験室環境では普通に育つ。このため、「光合成環境適応機構は進化の過程でなぜ保存されてきたのか」生物学的にどう重要なのかは良く知られた謎であった。ところが最近、「変動光」(野外では雲に遮られたり、木漏れ日となったり、他の生物の日陰となる、あるいは水圏では攪拌がおこるなど太陽光は短時間に激変する)の重要性を指摘する報告が相次いだ。例えば、シロイヌナズナのステート遷移変異株やサイクリック電子伝達変異株は、室内環境では生育速度にほとんど影響がないが、野外では致命的と報告された。このように、断片的ではあるものの変動光の重要性が指摘され始めた。しかし、変動する光の何が細胞に死をもたらすのか、その理由を含め、光合成系が自然環境に適応(順化)するその全体像は明らかでない。

## 2. 研究の目的

光合成系の集光システムが環境の変化に対応し最適化される「光環境適応機構」は、近年研究が進み、そのしくみは分子レベルで理解されるようになった。しかし、それらが「なぜ」「どのように」重要なのかは必ずしも明らかではない。このしくみの欠損変異株の多くは正常に生育するように見えるからである。本研究では、野外で見られる木漏れ日、攪拌等の「光のちらつき(変動光)」への光合成系の順化こそが、光環境適応の本質である可能性を追求する。従来全く行われてこなかった変動光下の光合成生産性の詳細な解析、変動光下の光環境適応能力を詳細に解析する。本研究は、光合成生物がなぜ何段階にもわたる精緻な光環境適応機構を発達させたのか、今日の光合成生物がそれらを日々どのように発動しているのかを明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

- ・ステート遷移の解析 - 中性子ビームを単細胞緑藻クラミドモナス細胞に当ててその小角散乱を測定し、チラコイド膜の高次構造を解析した。また、細胞の円偏光吸収スペクトルを調べ、タンパク質複合体の二次構造変化を解析した。
- ・qE クエンチング機構の解析 - qE クエンチングに關与する LHCSR1 や LHCSR3 などの因子の変異株を用いたレーザー励起単光子計測法による蛍光寿命測定、および低温/常温蛍光スペクトル測定により、励起エネルギーの散逸過程を解析した。
- ・LHCSR1/3 発現誘導機構の解析 - クラミドモナスの既存の変異株、あるいは新規に単離した変異株を利用し、各種単色光による LHCSRx の遺伝子誘導、タンパク質発現解析、酵母二ハイブリッド法による複合体解析、光合成機能解析等の細胞生物学的解析を行った。

## 4. 研究成果

- ・2つの光化学系の連携は“ステート遷移”と呼ばれる光合成反応全体の効率を左右する重要な問題であり、その詳細をめぐっては多くの研究・議論が行われてきた。本研究では、中性子小角散乱によりステート1では整然としていたチラコイド膜の規則構造がステート2では崩れること、円偏光吸収スペクトルにより、光化学系IIの全体構造がステート遷移の前後でほぼ保存されることを明らかにした。
- ・過剰な光は細胞に酸化的損傷や細胞死を引き起こすが、この過程は光防御応答であるqEクエンチングによる熱散逸の亢進によって防御される。本研究では、まず、従来その役割が明らかでなかったLHCSR1に注目し、その変異株を用いたレーザー励起単光子計測法による蛍光寿命測定などの分光学的解析から、LHCSR1は過剰な光エネルギーを光化学系IIから光化学系Iへ“逸らす”役割りを担うことを明らかにした。
- ・もう一つの重要なqE因子であるLHCSR3の遺伝子発現に注目し、その遺伝子誘導にはフォトリポピンのLOVドメインを介した青色光受容、およびフォトリポピンのキナーゼドメインを介したシグナル伝達が必要であることを見出した。これにより、フォトリポピンがLHCSR3の発現を強光下で誘導することでqEを調節していることが明らかとなった。このことは、光感受およびその利用、そして光の散逸は協調した過程であり、緑藻クラミドモナスにおいては光受容、光合成、そして光防御が分子レベルで連関していることを示唆している。
- ・さらに光環境適応能力変異株の獲得を集中的に行った結果、LHCSR1/3の誘導にかかわる新たな変異株が複数得られた。そのうちの一つ、フォトリポピン欠失変異株を利用して得られたフォトリポピン欠失変異株の強光耐性を回復する抑圧変異株の中に、CUL4型E3ユビキチンリガーゼのサブユニット変異株ddb1およびdet1が見つかった。さらに、DDB1、DET1、CUL4が互いに複合体を形成し、LHCSR3タンパク質ばかりでなくLHCSR1タンパク質の遺伝子合成も誘導することなどを明らかにした。これにより、青色光からのシグナルはフォトリポピンによって受容されたのち、E3ユビキチンリガーゼである

CUL4-DDB1-DET1 複合体を経て LHCSR1 遺伝子や LHCSR3 遺伝子の合成をもたらすことで qE クエンチングを誘導し、細胞に強光耐性をもたらすことが明らかになった。

## 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 12 件)

Aihara, Y., Kamada-Fujimura, K., Yamasaki, T., Minagawa, J. Algal photoprotection is regulated by the E3 ligase CUL4-DDB1(DET1). *Nat. Plants*, 査読有 5: 34-40, 2019  
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0332-5>

Kosuge, K., Tokutsu, R., Kim, E., Akimoto, S., Yokono, M., Ueno, Y., Minagawa, J. LHCSR1-dependent fluorescence quenching is mediated by excitation energy transfer from LHCII to photosystem I in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 査読有 115: 3722-3727 (2018)  
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1720574115>

Kim, E., Tokutsu, R., Minagawa, J. Investigation on the thermodynamic dissociation kinetics of photosystem II supercomplexes to determine the binding strengths of light-harvesting complex. *J. Phys. Chem. B*, 査読有 122: 1627-1630 (2018)  
DOI: [10.1021/acs.jpccb.7b12417](https://doi.org/10.1021/acs.jpccb.7b12417)

Ueki, N., Mochiji, S., Ide, T., Tokutsu, R., Ohnishi, N., Kobayashi, Y., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., Tanaka, K., Minagawa, J., Hisabori, T., Hirono, M., Wakabayashi, K. Eyespot-dependent determination of the phototactic sign in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 査読有 113: 5299-5304 (2016)  
DOI: [10.1073/pnas.1525538113](https://doi.org/10.1073/pnas.1525538113)

Petroutsos, D.\*, Tokutsu, R.\*, Maruyama, S., Flori, S., Greiner, A., Magneschi, L., Cusant, L., Kottke, T., Mittag, M., Hegemann, P., Finazzi, G., Minagawa, J. A blue light photoreceptor mediates the feedback regulation of photosynthesis. *Nature* 査読有 537: 563-566 (2016). (\*equal contributions)  
DOI: [10.1038/nature19358](https://doi.org/10.1038/nature19358)

Aihara, Y., Takahashi, S., Minagawa, J. Heat induction of cyclic electron flow around photosystem I in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium*. *Plant Physiol.* 査読有 171: 522-529 (2016)  
DOI: [10.1104/pp.15.01886](https://doi.org/10.1104/pp.15.01886)

Minagawa, J., Tokutsu, R. Dynamic regulation of photosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant J.* 査読有 82: 413-428 (2015)  
DOI: [10.1111/tpj.12805](https://doi.org/10.1111/tpj.12805)

Xue, H., Tokutsu, R., Bergner, S., Scholz, M., Minagawa, J., Hippler, M. PSBR is required for efficient binding of LHCSR3 to photosystem II - light-harvesting supercomplexes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.*, 査読有 167: 1566-1578 (2015)  
DOI: [10.1104/pp.15.00094](https://doi.org/10.1104/pp.15.00094)

Maruyama, S., Shoguchi, E., Satoh, N., Minagawa, J. Diversification of light harvesting complex gene family via intra- and intergenic duplications in the coral symbiotic alga *Symbiodinium*. *PLoS One*, 査読有 10: e0119406 (2015)  
DOI: [10.1371/journal.pone.0119406](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119406)

Takahashi, H., Okamuro, A., Minagawa, J., Takahashi, Y. Biochemical characterization of photosystem I associating light-harvesting complexes I and II isolated from State-2 cells of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol.* 査読有  
55: 1437-1449 (2014)

DOI: 10.1093/pcp/pcu071

Maruyama, S., Tokutsu, R., Minagawa, J. Transcriptional regulation of the stress-responsive light harvesting complex genes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol.* 査読有 55: 1304-1310 (2014).

DOI: 10.1093/pcp/pcu068

Nagy, G., Ünneper, R., Zsiros, O., Tokutsu, R., Takizawa, K., Porcar, L., Moyet, L., Petroutsos, D., Garab, G., Finazzi, G., Minagawa, J. Chloroplast remodeling during state transitions in *Chlamydomonas reinhardtii* as revealed by non-invasive techniques in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 査読有 111:5042-5047 (2014)

DOI: 10.1073/pnas.1322494111

DOI: 10.1104/pp.15.01886

[学会発表](計 25 件)

Eunchul Kim, Jun Minagawa

Investigation on Spillover upon Open/Closed PSII States Using PAM-Spectrometer  
第9回日本光合成学会 2018

Jun Minagawa

Algal photoprotection Mechanism and Signal Transduction  
International Symposium on photosynthesis and chloroplast biogenesis 2018

Jun Minagawa

Algal photoprotection is mediated by phototropin and CUL4-DDB1DET1  
北京大学セミナー 2018

Jun Minagawa

Photoprotection in *Chlamydomonas* : Mechanism and signal transduction  
1st Asia-Oceania International Congress on Photosynthesis (AOICP2018) 2018

Jun Minagawa, Yousef Yari Kamrani, Takuya Matsuo, Maria Mittag

ROC75 is an Attenuator for the Circadian Clock that Controls LHCSR3 Expression  
The 18th International Conference on the Cell and Molecular Biology of *Chlamydomonas*  
2018

渡邊 顕正, 得津 隆太郎, Burton-Smith Ray, Eunchul Kim, 皆川 純

「Amphipol を用いた PSII-LHCII Supercomplex の精製」

日本光合成学会 2017

加藤弘樹、得津隆太郎、河合（久保田）寿子、Ray Burton-Smith、皆川 純

「褐虫藻 *Symbiodinium minutum* における光化学系 I 複合体の機能構造解析」

日本光合成学会 2017

渡邊 顕正, 得津 隆太郎, Burton-Smith Ray, Eunchul Kim, 皆川 純

“An Innovative Way to Isolate Stable PSII Supercomplexes”

日本植物生理学会 2017

加藤弘樹、得津 隆太郎、河合（久保田）寿子、Ray Burton-Smith、皆川 純

「サンゴ共生褐虫藻における PSI-LHCI 超複合体の機能構造解析」

日本植物生理学会 2017

得津 隆太郎、Kim Eunchul、秋本 誠志、横野 牧生、鎌田 このみ、大西 紀和、皆川 純

“The molecular functions of LHCII phosphorylation during state transitions”

日本植物生理学会 2017

Minagawa, J

“Regulation of photosynthesis by the power of proton”

Japanese society of Plant Physiology 2017

皆川 純

「光合成の再最適化を目指す」

植物科学シンポジウム 2016

- Minagawa, J  
“Dissipation of Excess Light Energy in Chlamydomonas reinhardtii ”  
Asia and Oceania Conference on Photobiology 2015
- Minagawa, J  
“Dissipation of Excess Light Energy in Chlamydomonas reinhardtii ”  
International Conference on Microalgae and Biofuel 2015
- Minagawa, J  
“Dissipation of Excess Light Energy in Chlamydomonas reinhardtii ”  
山田コンファレンス 2015
- Minagawa, J  
“Dissipation of excess light energy in Chlamydomonas reinhardtii ”  
Japan-Germany Binational Seminar 2014
- Minagawa, J  
“Dissipation of excess light energy in Chlamydomonas reinhardtii ”  
CRL International forum : Tokyo Tech-HHU Dusseldorf Joint Symposium on Photosynthesis  
as a New Chemical Resource 2014
- 皆川 純  
「光化学系超複合体のリモデリングによる環境適応」  
IGER セミナー 2014
- Minagawa, J  
“Dynamic remodeling of photosynthetic supercomplexes during environmental  
acclimation ”  
Japan-France Binational Symposium 2014
- Minagawa, J  
“Non-photochemical quenching in Chlamydomonas ”  
IPR seminar 2014
- ⑲ Minagawa, J  
“A new model for state transitions in green algae as revealed by a study on the  
chloroplast remodeling in vivo ”  
Japanese-Finnish Binational Seminar 2014
- ⑳ Minagawa, J  
“Regulation of NPQ induction in Chlamydomonas reinhardtii ”  
Gordon Research Conference on Photosynthesis, 2014
- ㉑ 皆川 純  
「藻類の光合成効率はいかに達成されているのか」  
産学連携コンソーシアム 2014
- ㉒ Minagawa, J  
“Chloroplast remodeling during state transitions in a green alga Chlamydomonas  
reinhardtii ” (The 4th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and  
Bioproducts) 2014
- ㉓ Minagawa, J  
“Dynamic aspects of photosynthesis ” (The 16th International conference on the cell  
and molecular biology of Chlamydomonas)2014

[図書](計2件)

- Finazzi, G., Minagawa, J, Springer, Advances in Photosynthesis and Respiration  
Vol.40 : Non-Photochemical Quenching and Energy Dissipation in  
Plants, Algae, and Cyanobacteria, 2014, 649
- Johnson, G. N., Cardol, P., Minagawa, J., Finazzi, G., Springer, Advances in Plant  
Biology Vol. 5 : Plastid Biology, 2014, 589

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nibb.ac.jp/photo/index.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：得津 隆太郎

ローマ字氏名：(Tokutsu, Ryutarō)

所属研究機関名：基礎生物学研究所

部局名：環境光生物学研究部門

職名：助教

研究者番号（8桁）：60613940

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：鎌田 このみ

ローマ字氏名：(Kamada, Konomi)

研究協力者氏名：米沢 晴美

ローマ字氏名：(Yonezawa, Harumi)

研究協力者氏名：小島 洋子

ローマ字氏名：(Kojima, Youko)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。