



光合成電子伝達鎖を制御する葉緑体酸素発生系タンパク質の分子機能に関する研究

京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻 助教

JST さきがけ「光エネルギーと物質変換」領域 研究員 伊 福 健 太 郎

はじめに

植物が行う光合成は、光エネルギーを物質変換につなげるプロセスとして、近年、改めてその重要性が認識されている。とりわけ光エネルギーを利用して水の完全分解を行う光化学系 II 複合体 (Photosystem II, 以下、PSII と略す) は、その反応の特異性から非常にホットな研究対象となっている。PSII は葉緑体のチラコイド膜に存在し、その内腔側に位置するマンガン (Mn) クラスターが水分解酸素発生反応を触媒する。この Mn クラスターの周りは膜表在性のタンパク質で覆われており、これらのタンパク質は酸素発生系 (OEC) タンパク質と呼ばれる。そしてこの OEC タンパク質の組成は、緑色植物と葉緑体の祖先に近いと考えられているシアノバクテリアの間で異なっていることが知られている (図 1)。葉緑体の祖先が細胞内共生を始めてから葉緑体へと進化する過程では、多くの葉緑体ゲノム遺伝子の核ゲノムへの移行が起こった。その中で OEC タンパク質の組成が変化することは生育環境の変化に適応するためだったと考えられるが、その組成変化がどのようなタンパク質機能の変化や分化を反映しているのかは解明されていなかった。この課題に対し、筆者らは緑色植物に特異的な OEC タンパク質である PsbP タンパク質の構造と機能の解析を中心とする研究を行った。以下に研究成果の概略を記す。

1. PsbP タンパク質の構造と機能

PsbP 分子自体の発見は 1980 年代になされ、その解離と再結合が PSII 活性に及ぼす影響を調べた *in vitro* の再構成実験によって、PsbP は水分解反応に必要なコファクターであるカルシウムと塩素イオンの結合に関わるとされていた。しかしながらそれ以後、その分子研究には大きな進展がなかった。筆者らはさまざまな植物に由来する PsbP の機能比較から、PsbP 中の PSII 活性化 (イオン保持) に必須なアミノ酸残基を詳細に解析し、PsbP の N 末端配列が PSII 活性維持に重要な役割を持つことを見いだした。さらに X 線結晶構造解析によって PsbP 立体構造解析を行い、PsbP が当時知られていたシアノバクテリアの OEC タンパク質とは全く異なる新奇な立体構造

を持つことを明らかにした (図 2)。PsbP の立体構造は、N 末端側のドメインと、 β -シート構造の両側を α -ヘリックスで挟んだ中央の $\alpha\beta\alpha$ 構造の二つのドメイン構造で構成されていた。PSII におけるイオン保持には PsbP の N 末端 15 残基が必須と判明したが、この活性に必須な N 末端 15 残基は結晶構造に見えず、PSII と結合して初めて必要な構造をとると考えられた。フーリエ変換赤外分光測定を用いた共同研究により、PsbP の結合に伴い PSII の Mn クラスター周辺構造が変化すること、および、PsbP が Mn クラスター周辺の構造変化を引き起こすためには PsbP の N 末端配列が必須であることが明らかとなった。これら一連の研究成果から、緑色植物特有の膜表在性 OEC サブユニットである PsbP による PSII 活性制御の分子機構を明らかにした。

2. RNAi の利用開発による酸素発生系タンパク質の機能解析

植物が PsbP を獲得した理由を知るためには、前述したタンパク質レベルの研究に加えて、生体内における生理機能解析を進める必要があった。そこで RNA 干渉法 (RNAi) をいち早く取り入れて PsbP と PsbQ の発現抑制植物の作製を行い、PsbQ ではなく、PsbP の欠損が PSII 活性の低下や暗所における Mn クラスターの不安定化などを引き起こすことを示した (図 3)。さらに Differential RNAi (dRNAi) と呼ばれる手法を開発して PsbP の発現量や種類を人為的に操作したタバコを作製し解析した結果、PSII 活性は PSII 反応中心タンパク質ではなく PsbP 量と直線的な関係があることを明らかにし、PsbP が PSII 活性調節に重要な役割を持つことを示した。PsbP-RNAi 株における PSII 複合体の形成状態の解析から、PsbP-RNAi 株では集光アンテナ (LHC II) と結合した活性型 PSII である PSII-LHCII 超複合体の蓄積が顕著に減少し、集光アンテナと結合しない PSII コア複合体の蓄積が増加することを認めた。また、クロロフィル蛍光解析から、PsbP の発現抑制は水分解酸素発生反応の阻害だけでなく、PSII 電荷分離以降の光合成電子伝達の阻害も引き起こすことが示唆された。そこで電荷分離以降の電子伝達の阻害部位を特定するため、光合成電子

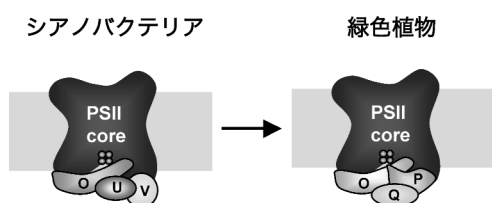


図 1 シアノバクテリアと高等植物の光化学系 II 複合体 (PSII) の模式図

PSII 酸素発生系の構成タンパク質はシアノバクテリア (PsbO, U, V) と緑色植物 (PsbO, P, Q) で異なる。近年、シアノバクテリアにも緑色植物型の PsbP と PsbQ の祖先と考えられるホモログが見つかったが、PSII における結合部位等は明らかではない。



図 2 タバコ由来 PsbP タンパク質の結晶構造

PsbP の構造は N 末端側のドメインと C 末端側のドメインに分けられ、両者の間には矢印で示した位置にプロテアーゼで切断されやすいサイトが存在する。

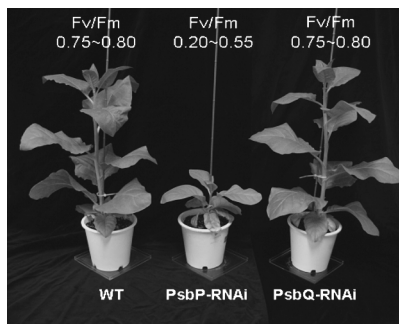


図3 PsbPおよびPsbQ-RNAi発現抑制タバコ形質転換体の表現型
Fv/Fm値はPSIIの最大量子収率を示す。

伝達鎖構成成分の酸化還元状態の解析を行った。その結果、PSII内部で分離された電荷ペア ($S_2Q_A^-$) が安定化され、下流への電子伝達が阻害されていることを認めた。こうした変化は、水分解反応が阻害されて電子が速やかに供給されない状態で、PSII内部で生じた酸化力の非常に強い正電荷を電荷再結合によって効率的に消去するために働いていると考えられた。すなわち、PsbPがない状態では、PSIIは電子を送り出さないアイドリング状態にあり、PsbPがPSIIに結合することで、PSIIの水分解反応側と電子供与側が連動して活性化することが示唆された。

3. 酸素発生系タンパク質の分子進化に関する研究

緑色植物のPsbPやPsbQの起源については長らく未解明であったが、ゲノム解析やプロテオーム解析の進展に伴い、原核生物であるシアノバクテリアにもPsbPやPsbQのホモログが広く存在することがわかってきた。最近になって原核生物型PsbPとPsbQの立体構造が解明された結果、緑色植物型のものとは非常によく似ていることがわかり、緑色植物タイプのPsbPとPsbQの祖先タンパク質であることが支持されている。一方で、高等植物やクラミドモナスなどにおいて、機能未知のPsbPやPsbQのホモログが多数存在していることも明らかとなった。筆者らは高等植物におけるPsbPとPsbQホモログの転写プロファイル解析を行い、その一部が環境ストレス下における光合成電子伝達活性の機能維持に重要な役割を持つことを推定した。実際にシロイヌナズナ突然変異体を用いた解析を行った結果、最も原核生物型PsbPに似た配列を持つPsbP-like protein 1 (PPL1)が、強光で障害を受けたPSIIの修復過程に関与することが明らかとなった(図4A)。驚いたことに、別のPPLタンパク質であるPPL2は、光化学系I周辺での循環的電子伝達に関与する葉緑体NAD(P)Hデヒドロゲナーゼ複合体(NDH)の新規サブユニットであり、かつ、ほかに3種のPsbQホモログ(PQL1-3)もすべて葉緑体NDH複合体活性に必須であることが判明した(図4B)。この結果から、PsbPおよびPsbQファミリーが光合成電子伝達鎖において多様な機能を担っていることを明らかにした。

おわりに

本研究によって、酸素発生系光合成生物の進化において、PsbPとPsbQのホモログ群の多様な分子進化が生じてPSII機能や光合成電子伝達鎖機能の維持や調節が行われるようになり、その過程で緑色植物独自の機能を持つOECサブユニットとしてPsbPとPsbQが獲得されたことが明らかとなった。先に北京で開催された国際光合成会議では、好熱性シアノバクテ

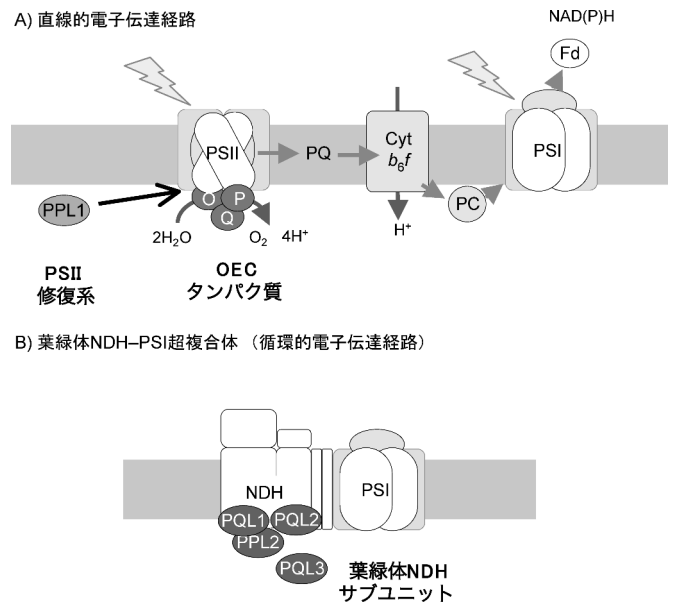


図4 光合成電子伝達鎖におけるPsbPとPsbQファミリータンパク質の多様な機能

リアのPSII複合体の立体構造が原子分解能で報告され、究極の太陽光発電ともいえる光合成の水分解-酸素発生分子機構が解明される期待が大きく高まっている。一方で、緑色植物型のPSIIに関しては分子構造や制御のメカニズムに関して未解明な点はまだ多く、筆者らが貢献できる部分が多く残されている。今後は、これまで培ってきたPsbPタンパク質に関する研究を基盤とし、光化学系II内部で電荷分離を適切に処理するメカニズムとその安定化の機構を分子レベルで解明することで、植物の光合成酸素発生反応を人為的に利用するための新しい方策を見いだしたい。また、PsbPやPsbQ、および、そのホモログ群の分子機能解析は、緑色植物が獲得した独自の環境適応機構の解明につながると期待している。

本研究は、京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻全機能統御機構学分野において行ったものです。本研究を行う機会を与えていただき、学生時代から温かいご指導ご鞭撻を賜りました京都大学教授・佐藤文彦先生に心より御礼申し上げます。また、同准教授・遠藤剛先生、矢崎一史先生(現京都大学)には、当分野におきまして多くの有意義なご助言をいただきましたことを感謝いたします。理化学研究所播磨研究所におきまして、PsbPタンパク質の結晶化とX線構造解析に関する研究をご指導いただきました加藤博章先生(現京都大学)、中津亨先生(現京都大学)に深く感謝いたします。PsbPの機能解析を進めるうえで多大なご協力を賜りました山本由弥子博士(現岡山大学)、小野高明先生(現茨城大学)、野口巧先生(現名古屋大学)、三宅親宏先生(現神戸大学)、村上明男先生(神戸大学)、高部圭司先生(京都大学)に深く感謝いたします。本研究成果は、共に研究を行った卒業生・在学生の協力によって成し遂げたものであり、また、多くの方々のご指導の賜物であります。この場を借りて、深く感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました日本農芸化学会関西支部長の井上國世先生、ならびにご支援賜りました諸先生に厚く御礼申し上げます。