

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成18年度採択分

平成21年4月30日現在

研究課題名（和文）光合成・光エネルギー変換装置のダイナミクスと
その分子基盤の解明

研究課題名（英文）Photosynthesis: dynamics and molecular
mechanism of light energy conversion apparatus

研究代表者

氏名 高橋裕一郎 (Takahashi Yuichiro)

所属研究機関・部局・職 岡山大学・大学院自然科学研究科・教授



推薦の観点：創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究

研究の概要：植物や藻類が行う酸素発生型光合成反応では、二酸化炭素を固定するために必要なエネルギーは光エネルギー変換装置と呼ばれる光化学系の反応により供給される。自然条件下では光環境は大きく変動するが、光エネルギー変換装置はその構造と機能を改変し、効率よく光合成反応を進める。本研究の目的は、光エネルギー変換装置の構造と機能のダイナミックな改変の分子機構を明らかにすることである。特に光エネルギー変換装置がどのように分子集合し、構成成分がどのように再構築（リモデリング）されるかを分子レベルで解明する。

研究分野：植物生理学・光合成

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物生理学

キーワード：光合成、光化学系、アンテナ、ダイナミクス、タンパク質分析

1. 研究開始当初の背景

光エネルギー変換装置である2種の光化学系（系1と系2）複合体の構造と機能の研究は長年にわたり活発に行われ、多くの知見が蓄積されてきた。光エネルギー変換装置は静的な構造体とみなされ、一定の光条件下で効率よく反応が進む機構が明らかにされた。しかし、自然環境下では光は最も大きく変動する環境要因であり、光環境の変動に伴い光エネルギー変換反応速度が大きく変化することが明らかされてきた。しかし、その分子機構の解明は遅れ、解決すべき重要課題であった。

2. 研究の目的

光エネルギー変換装置の構造を分子レベルで解析し、その分子集合機構を明らかにする。さらに光環境の変動に伴い構造と機能が改変される分子機構を解明する。最終的には、環境変化に伴う光エネルギー変換装置のダイナミクスという新しい領域を確立する。

3. 研究の方法

光エネルギー変換装置の構造解析では、大きなアンテナ複合体をもつ系1は緑藻クラミドモナスから精製し、不安定な酸素発生系をもつ系2複合体は好熱性シアノバクテリアから精製した。光エネルギー変換装置の分子集合の解析は、主に緑藻クラミドモナスを用いて進めた。光化学系間の光エネルギー再分配の分子機構は、分子遺伝学と生化学の手法を用い、アンテナ複合体の再構築に着目しながら

解析を進めた。

4. これまでの成果

光化学系複合体の構造解析；光エネルギー変換装置である光化学系複合体の構造解析を進めた。クラミドモナスから LHCI を完全に結合した系1複合体を高度に精製する方法を確立し（図1）、結晶化条件のスクリーニングを行い（図2）、クラミドモナスの系1複合体として初めて結晶が得られた（図3）。X線回折像の分解能は約10Åである。まだ標品の精製法および結晶作条件の最適化が必要である。平行して、各サブユニットの化学架橋や電子顕微鏡による single particle analysis を進行中である。一方、系2複合体の酸素発生系に Cl は必須の成分である。しかし、その存在部位は不明であった。そこで、Cl を Br や I に置換した系2複合体を結晶化し、X線構造解析を行ったところ、マンガンクラスターの近傍に Cl の存在部位を初めて同定することに成功した。

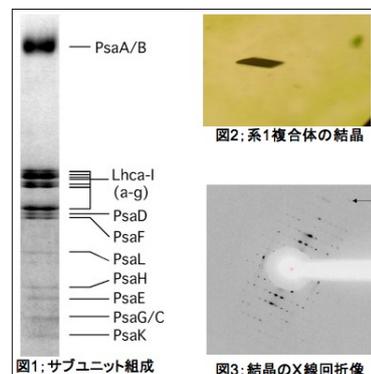


図1: サブユニット組成

図2: 系1複合体の結晶

図3: 結晶のX線回折像

光化学系複合体の合成と分解の分子機構の解析；複雑な構造をもつ系 1 複合体の分子集合の分子機構を葉緑体遺伝子にコードされた Ycf4 を含む大きな構造体の解析により進めた。この構造体にタグを融合しアフィニティークロマトグラフィーにより高度に精製することに成功した。その結果、この構造体上で系 1 複合体の分子集合の初期過程が進行することを明らかにし、分子集合の足場タンパクであることを示した。また、系 1 タンパク質のバレスラベル法を活用して、系 1 成分の複合体への段階的分子集合過程を解析した。その結果、分子集合の最終過程で 2 つのサブユニット PsaG と PsaK が組み込まれることを新たに明らかにした。一方、系 2 複合体の代謝回転の分子機構の解明のため、反応中心近傍に存在する小型サブユニット PsbT と Psb30 に着目した。これらのサブユニットを欠損する形質転換体は光障害を受けやすく、光損傷後の修復過程の効率化に小型サブユニットが重要であることを明らかにした。

ステート遷移；ステート遷移は 2 つの光化学系間の励起エネルギーのアンバランスを補正する機構で、本研究ではアンテナ複合体 (LHCII) が光化学系間を可逆的に移動することを生化学的に確立した。ステート 2 から 1 状態へ変化するとき、LHCII が段階的に系 2 から系 1 複合体へ移動することを明らかにした。さらに、ステート 2 状態で系 1 複合体に結合する LHCII 量を決定し、アンテナサイズが 270 から 340 クロロフィルへと増加し、結合した LHCII から系 1 反応中心へ励起エネルギー移動が起こることを示した。また RNA 干渉法により LHCII の一種である CP29 もしくは系 1 の PsaH サブユニットの蓄積を大きく減少させた形質転換株を作出した。この株では LHCII が系 1 に結合しなくなった。ステート遷移に伴う LHCII の系 2 から系 1 への移動に、これらのタンパク質が重要であることを明らかにした。

5. 今後の計画

光エネルギー変換装置の構造を結晶構造解析および電子顕微鏡を用いた single particle analysis, 化学架橋法により解明する。また、系 1 複合体の分子集合過程の全容および系 2 複合体の光阻害・修復のダイナミクスを解明する。さらに、ステート遷移に伴うアンテナ複合体が 2 つの光化学系間を可逆的に移動する分子機構の全容を明らかにする。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

(研究代表者は太字、研究分担者は二重下線、連携研究者は一重下線)

(1) T. Takahashi, N. Inoue-Kashino, S. Ozawa, **Y. Takahashi**, Y. Kashino, and K. Satoh, Photosystem II complex in vivo is a monomer. J.

Biol. Chem. (2009) in press

(2) K. Kawakami, Y. Umena, N. Kamiya, J.-R. Shen Location of chloride and its possible functions in oxygen-evolving photosystem II revealed by X-ray crystallography. Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2009) in press

(3) Tokutsu, R., Iwai, M., Minagawa, J. CP29, a monomeric light-harvesting complex II protein, is essential for state transitions in *Chlamydomonas reinhardtii*. J. Biol. Chem. 284;7777-7782 (2009)

(4) H. Adachi, Y. Umena, I. Enami, T. Henmi, N. Kamiya, J.-R. Shen, Towards structural elucidation of eukaryotic photosystem II: Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of photosystem II from a red alga. Biochim. Biophys. Acta, 1787;121-128 (2009)

(5) N. Ohnishi and **Y. Takahashi**, Chloroplast-encoded PsbT is required for efficient biogenesis of photosystem II complex in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Photosynthesis Res. 95;315-322 (2008)

(6) Natsuko Inoue-Kashino, Takeshi Takahashi, Akiko Ban, M. Sugiura, **Y. Takahashi**, K. Satoh and Y. Kashino, Evidence for a stable association of Psb30 (Ycf12) with photosystem II core complex in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803, Photosynthesis Res. 98;323-335 (2008)

(7) R. A. Ingle, H. Collett, K. Cooper, **Y. Takahashi**, J. M. Farrant and N. Illing, Chloroplast biogenesis during rehydration of the resurrection plant *Xerophyta humilis*: Parallels to the etioplast-chloroplast transition, Plant, Cell and Environment, 38;1813-1824 (2008)

(8) M. Iwai, **Y. Takahashi** and J. Minagawa, Molecular Remodeling of Photosystem II during State Transitions in *Chlamydomonas reinhardtii*, The Plant Cell 20;2177-2189 (2008)

(9) N. Ohnishi, Y. Kashino, K. Satoh, S. Ozawa and **Y. Takahashi**, Chloroplast-encoded polypeptide PsbT is involved in the repair of primary electron acceptor QA of photosystem II during photoinhibition in *Chlamydomonas reinhardtii*. J. Biol. Chem. 282;7107-7115 (2007)

(10) M. Sumimoto, T. Onishi, Shen, J.-R., and **Y. Takahashi**, Purification and biochemical characterization of PSI-LHCI supercomplex in *Chlamydomonas reinhardtii*. Photosynthesis. Energy of Sun, Springer, 211-214 (2007)

(11) Merchant, S. S., Prochnik, S. E., Vallon, O., Harris, E. H., J. Minagawa, et al. The *Chlamydomonas* genome reveals the evolution of key animal and plant functions. *Science* 318:245-250, (2007)

ホームページ等

http://www.biol.okayama-u.ac.jp/takahashi_y/index.htm