

平成17年度採択分

平成19年 3月31日現在

研究課題名 (和文) 光合成電子伝達系のダイナミクス：
未知のネットワークの解明

研究課題名 (英文) New insight into the photosynthetic electron
transport networks

研究代表者

鹿内 利治 (SHIKANAI TOSHIHARU)

九州大学・農学研究院・助教授



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：光合成電子伝達は教科書に記述される水からNADP⁺への単純な一本道ではなく複雑に分岐したネットワークからなる。本研究は、近年、その重要性が認識された光化学系 I サイクリック電子伝達について電子伝達経路の全貌の解明を目指すとともに、情報の乏しい電子伝達制御のネットワークについて分子遺伝学と生化学の両面から解明を目指すものである。

研究分野／科研費の分科・細目／キーワード：生物学／基礎生物学、植物生理・分子／光合成、電子伝達、葉緑体、サイクリック電子伝達、NDH、レドックス制御、チオレドキシニン、銅、microRNA

1. 研究開始当初の背景

光合成の明反応は光化学系 II の水分解に始まり、光化学系 I を介してNADP⁺を還元するリニア電子伝達により説明される。この際チラコイド膜を介したプロトン勾配が形成され、ATPが合成される。これに対し、サイクリック電子伝達は光化学系 I 周辺を電子が循環的に移動する。その発見は半世紀を遡るが、生理機能は長いこと理解されなかった。私たちは、高等植物のサイクリック電子伝達が、二つの経路からなること、さらには、両者が葉緑体の光障害回避と光合成そのものに必須であることを明らかにした。この発見により、光合成の明反応の基本メカニズムに修正が必要となった。

2. 研究の目的

(1) 高等植物のサイクリック電子伝達のうち貢献の大きい PGR5 依存経路について、PGR5 タンパク質の機能と電子伝達経路の全貌を明らかにする。また、もう一つの経路を触媒する NDH 複合体の全サブユニット構成を明らかにする。

(2) 光合成電子伝達はリニア電子伝達経路に加え、複雑に分岐する経路がネットワークを形成する。そのことが光合成の制御に重要である。この未知のネットワークを明らかにする。

3. 研究の方法

シロイヌナズナを用いた遺伝学は未知の光

合成制御機構を解き明かすブレークスルーに有効である。また遺伝学で得られた知見は生化学による立証を行う。

4. これまでの成果

(1) PGR5 依存経路の解明 PGR5 はシロイヌナズナ変異株から同定されたサイクリック電子伝達に必須なタンパク質である (図1参照)。我々はPGR5 のチラコイド膜での局在を明らかにし、生理学解析の結果とあわせてフェレドキシン以降の電子分配を調節しているモデルを立てた。PGR5 の過剰発現はサイクリック電子伝達の活性を上昇させることから、サイクリック電子伝達に関わる光化学系 I は全体の一部と考えられる。一方多くの光化学系 I は、リニア電子伝達に関わる。また、チラコイド膜を用いたサイクリック電子伝達活性を測定する系を確立し、電子伝達に影響する因子を調べた。その結果、サイクリック電子伝達はリニア電子伝達の電子受容体であるNADP⁺と十分に競合できることが示された。サイクリック電子伝達は、光合成定常期でも十分機能し、このことは *pgr5* 変異株の表現型とも矛盾しないことが明らかになった。

(3) NDH 複合体の構造解明 シロイヌナズナの NDH 複合体に依存する微細なクロロフィル蛍光変化に着目し、葉緑体 NDH 活性を欠く *crr* 変異株を多数単離、解析した。*CRR3*、*CRR6*、*CRR7* 遺伝子に関して詳細な解析を行い *CRR3* および *CRR7* は NDH 複合体の新規なサブユニット候補であることを明らかに

した。また CRR6 は本体には結合しないが、NDH 複合体の安定化に必須な因子であることを示した。

(4) チオレドキシンは光合成電子伝達に由来する還元力を様々なタンパク質に移す光合成制御の鍵タンパク質である。プロテオミクス解析によりチオレドキシンの標的となる候補タンパク質について生化学解析を行い、細胞質型リンゴ酸脱水素酵素が酸化還元制御を受けることを明らかにした。

(5) SOD は活性酸素除去に機能するが、高等植物の葉緑体には銅/亜鉛と鉄を含む二つの酵素が存在する。植物は銅不足を感知すると、その microRNA を発現し、細胞質と葉緑体の銅/亜鉛 SOD をコードする mRNA を特異的に分配することを明らかにした。活性酸素除去は替わって発現する鉄 SOD が担う。貴重な銅は、光合成電子に必須なプラストシアニンに優先的に分配される。

5. 今後の計画

(1) PGR5 と相互作用するタンパク質を PGR5 変異株と過剰発現株を用いて、プロテアーゼ感受性の違いから同定する。候補が得られれば逆遺伝学で検証する。PGR5 依存経路の特異的阻害剤であるアンチマイシン耐性株を選抜する。

(2) 同定した新規サブユニット候補を手がかりに、NDH 複合体の全サブユニット構成を明らかにする。

(3) チオレドキシンの標的および HCF164 を介したルーメンへの電子伝達を生化学的に特定する。

(4) 植物が銅濃度を認識し microRNA の発現を細胞、個体のレベルで制御するメカニズムを明らかにする。

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、研究分担者には下線)

(1) Yamasaki H, Abdel-Ghany SE, Cohu CM, **Kobayashi Y**, **Shikanai T***, Pilon M. (2007) Regulation of copper homeostasis by microRNA in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* in press.

(6) **Shikanai T** (2007) Cyclic electron transport around photosystem I; genetic approaches. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 199-217.

(7) **Hisabori T**, Motohashi K, Hosoya-Matsuda N, Ueoka-Nakanishi H, Romano PG (2007) Towards a functional dissection of thioredoxin networks in plant cells. *Photochem Photobiol.* 83, 145-151.

(5) Muraoka R, Okuda K, **Kobayashi Y**, **Shikanai T** (2006) A eukaryotic factor required for accumulation of the chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complex in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 142, 1683-1689.

(6) Munshi MK, **Kobayashi Y**, **Shikanai T** (2006) CRR6 is a novel factor required for accumulation of the chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complex in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 141, 737-744.

(7) Hara S, Motohashi K, Arisaka F, Romano PG, Hosoya-Matsuda N, Kikuchi N, Fusada N, **Hisabori T** (2006) Thioredoxin-h1 reduces and reactivates the oxidized cytosolic malate dehydrogenase dimer in higher plants. *J. Biol. Chem.* 281, 32065-32071.

(8) Munshi MK, **Kobayashi Y**, **Shikanai T** (2005) Identification of a novel protein CRR7 required for the stabilization of the chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complex in *Arabidopsis*. *Plant J.* 44, 1036-1044.

(9) Okegawa Y, Tsuyama M, **Kobayashi Y**, **Shikanai T** (2005) The *pgr1* mutation in the Rieske subunit of the cytochrome *b₆f* complex does not affect PGR5-dependent cyclic electron transport around photosystem I. *J. Biol. Chem.* 280, 28332-28336.

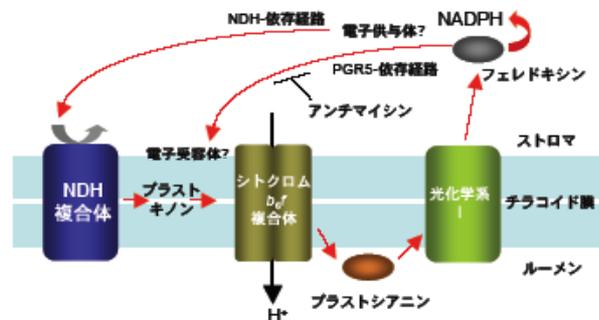


図1. 光化学系 I サイクリック電子伝達 高等植物ではサイクリック電子伝達は PGR5 依存経路と NDH 依存経路からなる。電子伝達経路の詳細は未知であるが、本研究の成果により、その実体が解き明かされつつある。