

プロジェクト名：強光ストレス耐性植物の作出を目指した基盤研究

プロジェクト代表者：西山 佳孝（理工学研究科・准教授）

プロジェクト分担者：日原 由香子（理工学研究科・准教授）

1. 研究目的

強光ストレス下では植物の生長が妨げられる。その主な要因は、強光によって光合成の光化学系 II が阻害されるからである。この光阻害のメカニズムに関して近年、研究代表者は従来の定説を覆す新たな説を発表した。新たな説では、光化学系 II の光損傷は活性酸素に依存せず、この複合体の一部である酸素発生系マンガクラスターの光吸収と崩壊によることが明らかになっている。この発見から、光化学系 II の光損傷からの再生機構を根底から考え直す必要性が生じた。本研究では、光化学系 II の再生機構を分子レベルで解明し、得られた知見をもとにして、光合成の強光ストレス耐性を増大させることを目的とした。また、本研究ではこの目標を達成するため、当該研究領域で活躍している人材を集めてチームを作り、大型外部資金の獲得を目指した。

2. 研究成果

(1) 光化学系 II 酸素発生系の光傷害再生機構

光化学系 II の光損傷に関する新たなメカニズムから、損傷を受けた酸素発生系マンガクラスターが再生される必要性が考えられるが、その再生機構はほとんどわかっていない。光化学系 II の損傷と修復のサイクルが速い速度で進行することから、マンガクラスターの再生には、鉄硫黄クラスターの再生のように能動的な酵素反応が関与していることが推測される。本研究では、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 のチラコイド膜を用いて、マンガクラスターの再生機構を生化学的に解析した。チラコイド膜に強光を照射すると、光化学系 II の活性が低下していくことが観察された。光損傷を受けたチラコイド膜を弱光下に移しても、光化学系 II 活性の回復は見られなかった。電子供与体 DCMU や DPC の存在下で強光照射した場合、光損傷の程度が著しく抑制された。したがって、DCMU や DPC によって反応中心が保護されていることが示唆された。しかし、DCMU や DPC で保護したチラコイド膜を弱光下に移しても、活性の回復は見られなかった。また、界面活性剤ドデシルマルトシドでチラコイド膜の包膜構造を壊した後、ATP を添加してみても、活性の回復は見られなかった。回復が観察できなかった理由として、単離チラコイド膜にはマンガクラスターの再生に必要な因子が欠損していることが考えられる。現在、光化学系 II の光損傷や修復に対する DCMU や DPC、ATP の効果を細胞レベルで解析している。

(2) 光化学系 II 反応中心の光傷害再生機構

光化学系 II 反応中心の再生には、D1 タンパク質など反応中心を構成するタンパク質の新規合成が必要である。代表者らは近年、強光ストレス下で発生する活性酸素によって、これらのタンパク質の合成が翻訳伸長過程で阻害されることを明らかにした。さらに、タンパク質合成阻害のメカニズムとして、翻訳伸長反応を担う翻訳因子 EF-G が酸化され、特定の Cys 残基間にジスルフィド結合を形成して失活することを明らかにした。本研究では、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の葉緑体型 EF-G (Slr1463) に着目して、酸化の標的 Cys105 を Ser に改変した EF-G を発現する変異株を作製し、強光ストレス下でのタンパク質合成および光化学系 II に対する影響を調べた。改変型 EF-G を野生型 EF-G とともに共発現させた株では、全般的なタンパク質合成は影響を受けず、D1 タンパク質の新規合成のみが著しく促進した。さらに、この変異株では光化学系 II の光阻害が緩和した。光化学系 II の光損傷の過程が影響を受けなかったことから、修復が促進していることが考えられる。すなわち、EF-G の改変によってタンパク質合成系の酸化ストレス耐性が増大し、その結

果、修復の酸化ストレス阻害が抑制され、光阻害が緩和したことが示唆される。この研究成果から、光合成の強光ストレス耐性を強化する新たな手法が導き出された。

3. 研究業績

1. Nanjo, Y., Mizusawa, N., Wada, H., Slabas, A.R., Hayashi, H. and Nishiyama, Y. (2010) Synthesis of fatty acids *de novo* is required for photosynthetic acclimation of *Synechocystis* sp. PCC 6803 to high temperature. *Biochim. Biophys. Acta*, 1797: 1483-1490.
2. Rowland, J.G., Simon, W.J., Nishiyama, Y. and Slabas, A.R. (2010) Differential proteomic analysis using iTRAQ reveals changes in thylakoids associated with Photosystem II acquired thermotolerance in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Proteomics*, 10: 1917-1929.
3. Horiuchi, M., Nakamura, K., Kojima, K., Nishiyama, Y., Hatakeyama, W., Hisabori, T. and Hihara, Y. (2010) The PedR transcription factor interacts with thioredoxin to link photosynthesis with gene expression. *Biochem. J.*, 431(1): 135-140.
4. Takahashi, T., Nakai, N., Muramatsu, M., Hihara, Y. (2010) Role of multiple HLR1 sequences in the regulation of the dual promoters of the *psaAB* genes in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Bacteriol.*, 192: 4031-4036.
5. Inoue, S., Ejima, K., Iwai, E., Hayashi, H., Appel, J., Tyystjärvi, E., Murata, N. and Nishiyama, Y. (2011) Protection by α -tocopherol of the repair of photosystem II during photoinhibition in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta*, 1807: 236-241.
6. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S.I. and Murata, N. (2011) Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiol. Plant*, 142: 35-46.
7. Yamauchi, Y., Kaniya, Y., Kaneko, Y., Hihara, Y. (2011) Physiological roles of the pair of cyAbrB transcriptional regulators, SII0822 and SII0359, in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Bacteriol.*, in press
8. Haimovich-Dayan, M., Kahlon, S., Hihara, Y., Hagemann, M., Ogawa, T., Ohad, I., Lieman-Hurwitz, J., Kaplan, A. (2011) Cross-talk between photomixotrophic growth and CO₂-concentrating mechanism in *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Environ. Microbiol.*, in press

4. 外部資金の応募・採択状況

西山佳孝 (研究代表者としてのみ)

1. 基盤研究 (C) 「光合成における翻訳のレドックス制御と環境応答の分子機構」 H21～H23、3,700 千円 (H23: 1,000 千円) 継続
2. 旭硝子財団 「光合成の光ストレス傷害からの再生機構」 H22～H23、2,000 千円 採択
3. 最先端・次世代研究開発支援プログラム 「光合成の再生機構解明と強光ストレス耐性植物の作出」 H22～H25、124,800 千円 不採択
4. 新学術領域研究 「蛋白質合成系のレドックス制御と環境応答」 H23～H27、107,600 千円 不採択 (※東京工業大学・久堀徹教授、東京大学・上田教授らと組んで計画班として申請した。今年度、再び申請する予定である)
5. 新学術領域研究 「タンパク質合成系の改変による光合成の強光ストレス耐性の向上」 H23～H24、8,000 千円 不採択
6. 特別経費概算要求 「低炭素社会構築のための高バイオマス生産植物の開発」 H24～H28、317,000 千円 申請中 (※環境科学研究センター・内宮博文教授らとチームを作って文部科学省に申請中)

日原由香子 (研究代表者としてのみ)

1. 最先端・次世代研究開発支援プログラム 「シアノバクテリアの炭素・窒素代謝マスター転写因子の機能解析とその応用」 H22～H25、79,774 千円 不採択
2. 基盤研究 (C) 「光合成電子伝達のセンシングによる転写制御機構の解明」 H23～H25、4,100 千円 (H23: 1,600 千円) 採択
3. 科学技術振興機構・戦略的創造研究推進事業 「さきがけ」 「グリコーゲンから油脂へ：シアノバクテリア変異株の代謝改変」 H23～H25、38,500 千円 (H23: 12,800 千円) 採択