

# 高バイオマス植物開発を目指した光合成のストレス耐性機構解明

代表者：氏名（所属・職名）西山 佳孝（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ング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) 高活性カタラーゼの導入による光化学系 II の強光ストレス耐性の増強

光化学系 II は光による損傷を受けた後、すみやかに修復・再生される。研究代表者らの研究によって、光化学系 II の修復過程が過酸化水素などの活性酸素により阻害を受けやすいことが明らかになっている。細胞内にはカタラーゼなど活性酸素消去系酵素が存在するが、その活性は生物種によって異なる。近年、工場排水口で単離された細菌 *Vibrio rumoiensis* のカタラーゼ VktA は、ウシのカタラーゼに比べ4倍程度高い比活性を有している。そこで本研究では、VktA カタラーゼをシアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 で発現させ、光化学系 II の光阻害への影響を調べた。VktA 発現株では、野生株に比べ光化学系 II の光阻害が大きく緩和していた。しかし、クロラムフェニコールの存在下で光化学系 II の光損傷を比較すると、双方の株で差は見られなかった。したがって、VktA の発現によって、光化学系 II の修復能力が向上したことが示唆される。光化学系 II の修復に必要なタンパク質の新規合成を解析すると、VktA 株では、光化学系 II 反応中心を構成する D1 タンパク質などのタンパク質の合成が活性化していることがわかった。したがって、VktA がタンパク質合成を活性酸素の作用から保護していることが示唆される。以上の結果から、高活性カタラーゼを導入して活性酸素消去系を強化することにより、光化学系 II の強光ストレス耐性を増大させることに成功した。これらの成果は、2013年に光合成研究の国際専門誌である *Photosynthesis Research* に掲載された。

### (2) 光化学系 II の光防御機構におけるカロテノイドの役割

光化学系 II の強光ストレス応答におけるカロテノイドの役割を解明するため、カロテノイド（ゼアキサンチンやエキネノン）を欠損したシアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の変異株を作製して、光化学系 II の光阻害への影響を解析した。さらに、*Synechocystis* には、カロテノイドを構成要素とするオレンジカロテノイドプロテイン（OCP）によって過剰エネルギーを熱として放散する仕組みがある。そこで本研究では、OCP 欠損株を作製して、光化学系 II の光阻害とカロテノイドによる熱放散の関係も調べた。カロテノイド欠損株では、野生株に比べ光化学系 II の光阻害がより顕著に進行した。しかし、クロラムフェニコール存在下で光化学系 II の光損傷を比較すると、双方の株に差は見られなかった。したがって、カロテノイドは光化学系 II そのものを保護するのではなく、光化学系 II を修復する過程を保護していることが示唆された。また、光化学系 II の修復で中心的な役割を担う D1 タンパク質の新規合成を比較すると、カロテノイド欠損株では野生株に比べ低下していた。これらの結果から、カロテノイドはタンパク質の新規合成を活性酸素の阻害作用から保護していることが示唆された。また、カロテノイド欠損株と OCP 欠損株では、ともに野生株に比べ NPQ が抑制されており、双方の欠損株で熱放散が十分に機能していないことがわかった。さらに、カロテノイド欠損株と OCP 欠損株で光阻害を比較すると、カロテノイド欠損株においてより顕著な光阻害が見られた。以上の結果から、カロテノイドは活性酸素

の消去、およびOCPを介した過剰エネルギーの熱放散という二つの働きによって、タンパク質合成を活性酸素から保護し、光化学系IIの修復を促進することが示唆された。

### 3. 外部資金獲得

当初の目的通り、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、CREST研究に代表者として申請した。この申請は不採択になったが、新学術領域研究や物質・デバイス領域共同研究などで新たに外部資金を獲得することができた。

### 4. 研究業績

1. Ejima, K., Kawaharada, T., Inoue, S., Kojima, K. and Nishiyama, Y. (2012) A change in the sensitivity of elongation factor G to oxidation protects photosystem II from photoinhibition in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Lett.*, 586(6): 778-783.
2. Murata, N., Allakhverdiev, S.I. and Nishiyama, Y. (2012) The mechanism of photoinhibition *in vivo*: re-evaluation of the roles of catalase,  $\alpha$ -tocopherol, non-photochemical quenching, and electron transport. *Biochim. Biophys. Acta*, 1817: 1127-1133.
3. Morita, E.H., Kawamoto, S., Abe, S., Nishiyama, Y., Ikegami, T. and Hayashi, H. (2012) Comparative study of the different mechanisms for zinc ion stress sensing in two cyanobacterial strains, *Synechococcus* sp. PCC 7942 and *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biophysics*, 8: 103-109.
4. Nagano, T., Kojima, K., Hisabori, T., Hayashi, H., Morita, E.H., Kanamori, T., Miyagi, T., Ueda, T. and Nishiyama, Y. (2012) Elongation factor G is a critical target during oxidative damage to the translation system of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 287(34): 28697-28704.
5. Jimbo, H., Noda, A., Hayashi, H., Nagano, T., Yumoto, I., Orikasa, Y., Okuyama, H. and Nishiyama, Y. (2013) Expression of a highly active catalase VktA in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942 alleviates the photoinhibition of photosystem II. *Photosynth. Res.*, doi: 10.1007/s11120-013-9804-7, in press.
6. Kore-eda, S., Nozawa, A., Okada, Y., Takashi, K., Azad, M.A.K., Ohnishi, J., Nishiyama, Y. and Tozawa, Y. (2013) Characterization of the plastidic phosphate translocators in the inducible crassulacean acid metabolism plant *Mesembryanthemum crystallinum*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, in press.
7. Kaniya, Y., Kizawa, A., Miyagi, A., Kawai-Yamada, M., Uchimiyama, H., Kaneko, Y., Nishiyama, Y. and Hihara, Y. (2013) Deletion of the transcriptional regulator cyAbrB2 de-regulates primary carbon metabolism in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Physiol.*, doi: 10.1104/pp.113.218784, in press.

### 5. 外部資金の応募・採択状況

1. 基盤研究(C) (H24-26) 「光合成の強光ストレス傷害からの再生機構」 (代表者：西山佳孝) 546万円 (直接経費 420万円；間接経費 126万円) **採択**
2. 新学術領域研究 (H25-26) 「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向上」 (代表者：西山佳孝) 936万円 (直接経費 720万円；間接経費 216万円) **採択**
3. 物質・デバイス領域共同研究拠点 (H23-24) 「光合成生物におけるタンパク質合成系のレドックス制御」 (代表者：西山佳孝) 200万円 **継続**
4. 物質・デバイス領域共同研究拠点 (H25-26) 「光合成生物におけるタンパク質合成系のレドックス制御」 (代表者：西山佳孝) 200万円 **採択**
5. CREST研究 (H24-28) 「有用炭水化物を細胞外に放出生産するスーパーラン藻の創出」 (代表者：西山佳孝) 2億4600万円 **不採択**