

原核光合成生物シアノバクテリアにおける呼吸と光合成の相互作用の研究

修了年月: 2010.3

学籍番号: 76551

生命応答システム分野: 毛利拓

指導教員: 大矢禎一 教授

キーワード: シアノバクテリア、呼吸、光合成、電子伝達、プラストキノンプール

【序論】

植物などの光合成生物は光合成と呼吸の二つの大きなシステムからエネルギーを生成している。光合成においては、色素が光を吸収し、その吸収したエネルギーを利用して電子伝達により、炭素固定に必要な還元物質 NADPH や ATP を生産する。呼吸においては、呼吸基質の還元力が解糖系やクエン酸回路を経て、呼吸鎖電子伝達に伝えられて ATP が生成される。光合成生物にとっては、光合成や呼吸の調節は、効率的なエネルギー生産のために極めて重要である。なぜなら原核生物であるシアノバクテリアは、オルガネラを持たないため、呼吸の電子伝達系も光合成膜であるチラコイド膜上に存在する。また、呼吸の電子伝達鎖は、光合成の電子伝達鎖と一部の電子伝達体を共有している(図1)。そのため、光合成の活性の変化は、直接呼吸の電子伝達成分の酸化還元状態の変化をもたらし、また反対に呼吸の電子伝達の変化が光合成の状態に影響を与えられられる。しかしながら、特に後者の呼吸から光合成への影響については、確実な証拠と言えるものは少ない。

本研究では、呼吸末端酵素であるシトクロム *c* 酸化酵素(Cta I)のサブユニット遺伝子 *ctaCI* の破壊株、*ctaCI* 破壊株体とよく似たクロロフィル蛍光挙動を示す機能未知遺伝子 *slr0645* 遺伝子の破壊株、プラストキノンプール(PQ pool)の上流の呼吸やサイクリック電子伝達や CO₂ 取り込みに必須な NADPH デヒドロゲナーゼ複合体のサブユニット NdhB と NdhF3 の破壊株を用いて、呼吸の電子伝達が本当に光合成に影響を与えるかについて検証した。

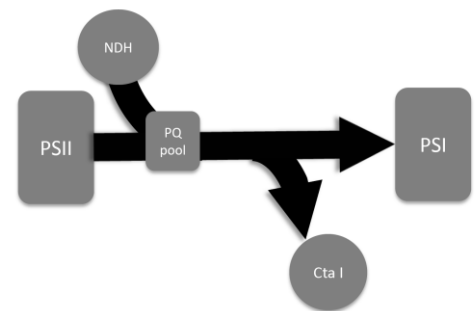


図 1. 呼吸と光合成の電子伝達鎖

呼吸と光合成は電子伝達体を一部共有している。矢印は電子の流れを示している。PSII:光化学系II、PSI:光化学系I、NDH:NADPH デヒドロゲナーゼ複合体、Cta I: シトクロム *c* 酸化酵素、PQ pool:プラストキノンプール

【結果と考察】

1. 呼吸速度の測定

呼吸因子の破壊がどのように呼吸速度に影響するのか検証するために、まず酸素電極を用いて弱光および強光細胞の酸素吸収速度を測定した。野生株では生育光条件によらず、細胞あたりの呼吸速度は変わらないことを見出した。しかし、*ctaCI* 破壊株は呼吸末端酵素であるにも関わらず、呼吸速度に影響を与えていないことがわかった。呼吸末端酵素には、同じ Cta として CtaCII があり、またプラストキノンを基質とする Cyd も存在することから、これらの相補的な働きにより *ctaCI* 破壊株でも野生型に近い呼吸速度が保たれていると考えられる。一方、*ndhB* 破壊株においては呼吸速度が減少した。このことから NDH 複合体からの電子の流入が呼吸の速度に影響を与えることが分かる。

2. 暗所におけるプラストキノンプールの酸化還元測定

プラストキノンプールの上流である NDH 複合体からの電子流入が光合成にどのように影響与えているのかを測定するために、暗所でクロロフィル蛍光を測定することでプラストキノンプールの酸化還元状態を測定した。測定中 KCN を添加して末端酵素を阻害すると、クロロフィル蛍光は上昇する。これは NDH 複合体からの電子流入による還元起因すると考えられる。また、*ndhB* 破壊株ではこの上昇が見られなかったことから、クロロフィル蛍光によって、呼吸の電子伝達鎖がプラストキノンプールの酸化還元の状態に与える影響を測定す

ることができることが示された。

さらに、光化学系 II を阻害する DCMU 存在下で、吸収した光エネルギーが光化学系 I に分配される状態に移る(状態遷移)速度を観察したところ、KCN の添加により呼吸を阻害したときに遅くなった。また、*ndhB* や *ndhF* 破壊株では電子の流入が少ないため状態遷移の速度が野生株よりも速いことが示唆された。

3. qN_{dark} 及び qN_{KCN} のパラメータ開発

プラストキノンプールの酸化還元状態をモニターし、呼吸の流れを測定するために、暗所での状態遷移を表すクロロフィル蛍光のパラメータ qN_{dark} を考案し、呼吸速度を評価するパラメータとして使えるかどうかを検討した (図 2 A,B)。上流から電子の流入がない *ndhB* 破壊株では qN_{dark} が小さく、NDH 複合体からの電子流入を検出可能であることが示された。また、*ctaCI* 破壊株では qN_{dark} が大きく、プラストキノンプールからの電子の流出が遅い可能性のある株は大きな値を示すことが示唆された。さらに、KCN を添加時の状態遷移の状態を観察した。それを数値化したのが qN_{KCN} である。その結果、KCN の添加はプラストキノンプールの還元を通して有意に状態遷移を誘導することが示唆された (図 2 C)。このことから、呼吸は光合成のエネルギー分配に大きく影響を与えることが示唆された。

4. 色素量の測定

呼吸因子の破壊が光合成構成成分にどのような影響があるか検証するために、弱光や強光で生育させた細胞の吸収スペクトルを測定し、クロロフィルとフィコシアニン量を見積もった。強光下において細胞あたりのクロロフィルとフィコシアニン量は弱光下の半分に減少した。また、*ndhB* や *ndhF* 破壊株ではクロロフィルとフィコシアニンが少ないことがわかった。このことから、呼吸上流の因子が欠損し、電子の流入が減少することにより、光合成の構成成分の量が影響されることが示唆された。

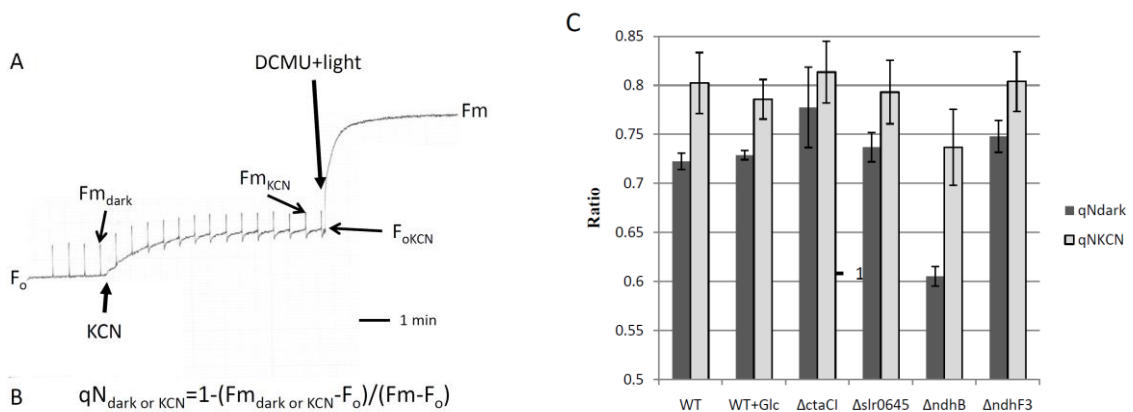


図 2. 呼吸因子破壊株における qN_{dark} 及び qN_{KCN} 値の比較
A. 非光化学消光を測定したチャート B. qN_{dark} 及び qN_{KCN} 値を求める式 C. qN_{dark} 及び qN_{KCN} 値を測定した結果

【結論】

シアノバクテリアにおいて最大呼吸速度は最大光合成速度の 20% 以下であるが、本研究により、呼吸が光合成の状態に影響を与え得ることを示すことができた。また、研究の過程で qN_{dark} と qN_{KCN} という 2 つのパラメータを開発し、呼吸の流れをプラストキノンプールの酸化還元状態からモニターすることに成功した。このことから、光合成を研究する上で呼吸の影響も考慮に入れなければならないことを示唆することができた。この 2 つのパラメータは今後新たな呼吸因子を検証する上で有効な方法であると考えている。