

シアノバクテリアの強光順化におけるステート遷移と光化学系 I 複合体の高次構造の関係

修了年月 2010/03 先端生命科学専攻 指導教員 大矢禎一(教授) 学生証番号 86356 本橋朋子

キーワード: シアノバクテリア、ステート遷移、強光、光化学系 I

【序論】

光合成は、光化学系 I(PSI)と光化学系 II(PSII)の役割により、太陽光を化学エネルギーに変換する重要な機構である。光合成生物は、強光下での過剰なエネルギーに対する様々な応答機構を持ち、その中にステート遷移と呼ばれるエネルギーの分配調節機構が含まれる。シアノバクテリアのステート遷移は、シアノバクテリア特有のアンテナタンパク質であるフィコビリソームから、エネルギーが主に PSII へ流れている状態(State1)から、PSII のみならず PSI へもエネルギーが分配される状態(State2)に遷移する機構である。当研究室では、強光順化の過程で発現する PSI 複合体のサブユニットである PsaK2 をステート遷移の因子として単離したが、PsaK2 依存のステート遷移は、生育に重要な機構であるにも関わらず、メカニズムは未解明のままである。また、異なる研究から、シアノバクテリアの PSI 複合体は、一量体もしくは三量体の高次構造をとり、主に三量体で存在していることや三量体構造はシアノバクテリアに特有であることが分かっている。さらに、PSI 複合体の三量体化に必須である PsaL サブユニットの変異株は強光下で生育が阻害されることから、強光下で PSI 複合体が三量体構造で存在する意義が示唆された。しかし、三量体構造の形成が、具体的にどのように強光下での PSI の機能に影響を与えるのかについては未解明のままである。私は、強光順化においてステート遷移の因子である PsaK2 が PSI の三量体内へ組み込まれることから、PSI の三量体構造と PsaK2 依存のステート遷移の間には何らかの関連があると推測した。そこで、本研究では、弱光順化もしくは強光順化した PsaL 変異株を用いて、ステート遷移の誘導と PSI 複合体の構造の検証を行い、強光下でのステート遷移と PSI の三量体構造の関係性の解明を行った。

【結果】

シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の3つの株、すなわち野生株、強光順化細胞でステート遷移が誘導できない PsaK2 変異株、そして弱光順化細胞で PSI の三量体化に欠損を示す PsaL 変異株、についてそれぞれ弱光順化細胞($20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、24 時間培養)と強光順化細胞($200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、24 時間培養)を用いて、以下の実験を行った。

まず、薬剤処理等による State1 誘導条件下(State1)と State2 誘導条件下(State2)での低温クロロフィル蛍光スペクトルを測定し、ステート遷移を検証した。野生型では 725 nm 付近のピークにおいて、State2 が State1 より相対的に高くなり、ステート遷移を確認できる(Fig. 1A)。

一方、PsaL 変異株の強光順化細胞は、PsaK2 変異株と同様に、ステート遷移は見られなかった(Fig.1B)。弱光順化細胞において同様の実験を行うと、野生株、PsaL 変異株、PsaK2 変異株いずれにおいてもステート遷移は観察された。すなわち、PsaL 変異株においては、強

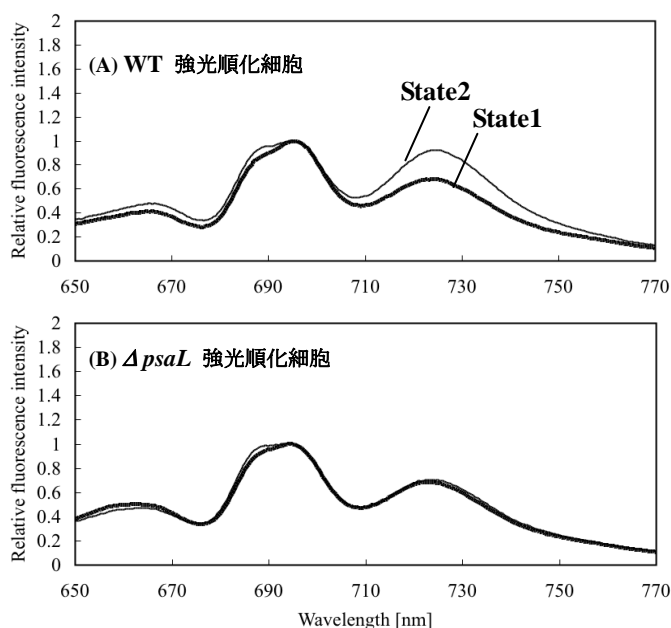


Fig.1. 低温クロロフィル蛍光スペクトル

光順化細胞でのみステート遷移が誘導されないことが示された。

次に、シヨ糖密度勾配遠心法により PSI の一量体と三量体を分離後、16 フラクシオンに分割し、各フラクシオンで PSI の反応中心である P-700 の定量とクロロフィルの定量を行った(Fig.2)。野生株の強光順化細胞では、一量体と三量体の2つのピークが見られた(Fig.2A)。また、PsaL 変異株の弱光順化細胞では、一量体のピークのみが検出された(Fig.2C)。一方、PsaL 変異株の強光順化細胞では、広がりのあるピークが検出され、上記の2つ状態とは挙動が異なっていた(Fig.2B)。この広がりのあるピークは、一量体のみではなく、構造が異なる PSI 複合体を含むと考えられる。少なくとも、野生株で見られるような明確な三量体のピークが無いことから、PsaL 変異株の強光順化細胞は、PSI 複合体の三量体構造をほとんど形成していないことが確認できた。

【考察】

シアノバクテリアのステート遷移は、フィコビリソームからエネルギーが PSI へも流れる機構であり、その PSI 複合体は主に三量体の状態で存在している。本研究により、PsaL 変異株の強光順化細胞は、ステート遷移を誘導できないこと、および、PSI の三量体の割合が大きく減少していることが明らかとなった。PsaL、もしくは PsaL によって維持される PSI の三量体構造は、強光順化細胞のステート遷移に必須であると考えられる。さらに、今回の測定条件では PsaL 変異株に生育阻害が見られなかったこと、PsaL は三量体の中心かつ内部に位置していることや PsaL 変異株の弱光順化細胞ではステート遷移が正常に誘導されることから、PsaL がフィコビリソームから PSI へのエネルギー分配の調節に直接関わっているというより、むしろ三量体の構造が強光順化細胞のステート遷移に関与すると考えられる。強光順化細胞のステート遷移における三量体の機能として、3つの可能性を考えている。まず、PSI の内部のサブユニットが、三量体により保護される可能性。次に、三量体において、PsaK2 は一量体の状態では接触できないサブユニットに結合する可能性。最後に、PsaK2 は、三量体構造中で安定化され、維持されている可能性である。興味深い事に、PsaL 変異株は強光順化細胞でのみステート遷移に欠損を示したことから、弱光順化細胞のステート遷移と強光順化細胞のステート遷移は、異なるメカニズムであるということが裏付けられた。今回の研究により、PSI の三量体が強光順化細胞でのステート遷移の関与していることが示されたことは、シアノバクテリアの強光への生理学的な応答機構を知る上で、重要である。また、本研究の結果は、フィコビリソームを持たない陸上植物においては、PSI が三量体構造を形成せず、ステート遷移が全く別のメカニズムによって引き起こされることともよく符合すると言えるだろう。

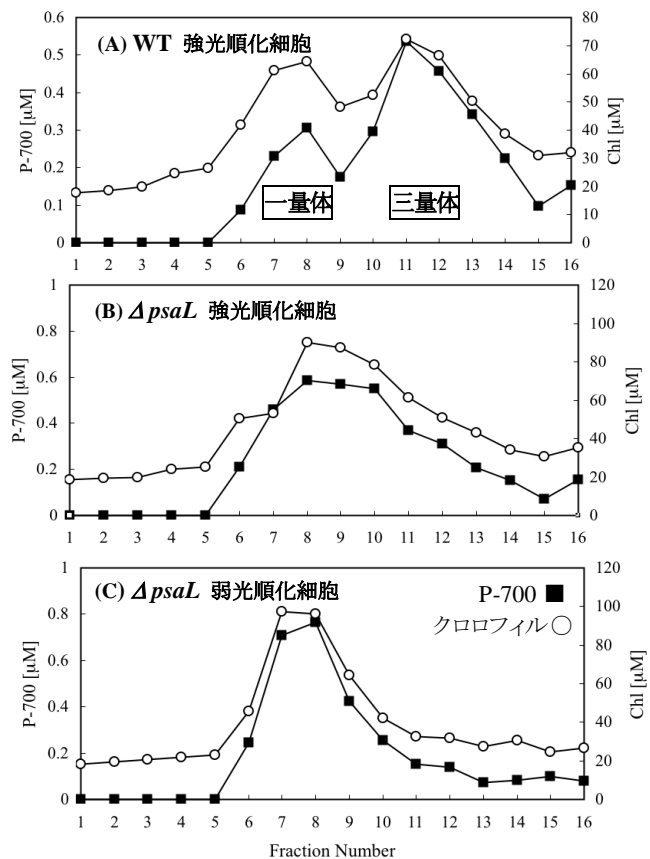


Fig.2. シヨ糖密度勾配遠心による一量体と三量体の分離後、各フラクシオンの P-700 量とクロロフィル量の測定