

細胞内現象の時空間ダイナミクス
2020年度採択研究代表者

2022年度
年次報告書

栗栖 源嗣

大阪大学 蛋白質研究所
教授

光合成オルガネラ間コミュニケーションの動的分子基盤

主たる共同研究者:

松田 祐介 (関西学院大学 生命環境学部 教授)

研究成果の概要

光合成電子伝達において光化学系 II と光化学系 I の間を電氣的に繋ぎ、Q-サイクル機構により電子伝達と共役したプロトン輸送を担うシトクロム *b₆f* 複合体 (Cyt *b₆f*) は、チラコイド膜ルーメンを酸性化する膜タンパク質複合体の1つである。Cyt *b₆f* はチラコイド膜に存在する 220 kDa の膜タンパク質で、動的な光環境に対応するため光合成電子伝達反応を制御する役割も担っている。先行研究において Rieske 鉄硫黄タンパク質を介した活性調節が示されたが、その分子メカニズムは明らかになっていなかった。そこで、緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 由来 Cyt *b₆f* を高分解能で構造解析し、Rieske 鉄硫黄タンパク質による活性制御機構の仕組み解明を目指した。*C. reinhardtii* から Cyt *b₆f* を高い均質性で精製する手順を確立し、PEG 化を上手に使うことでクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析により野生型の構造を 2.8 Å 分解能で決定した。Cyt *b₆f* はホモダイマー構造をとるが、片方の鉄硫黄クラスターが Cyt *b₆* のキノン酸化部位を向いた状態、もう片方の鉄硫黄クラスターが Cyt *f* を向いた状態にあった。これは、Rieske 鉄硫黄蛋白質が Cyt *b₆* と Cyt *f* 間で電子をシャトルすることを構造的に初めて示したものである。2つの構造状態における Rieske 鉄硫黄蛋白質の相互作用の違いから、Cyt *b₆f* の Q サイクル機構で Rieske 鉄硫黄蛋白質が関与する新しい機能制御の仕組みを提案することができた。また、Cyt *b₆f* から光化学系 I (PSI) への電子伝達に伴う機能的構造変化や、効率的な電子伝達機構を明らかにする目的で、好熱性シアノバクテリア PSI と電子受容体である Fd および電子供与体であるシトクロム *c₆* (Cyt *c₆*) を結合した三重複合体の構造解析に成功していた。昨年度末にはプレプリントサーバーに投稿状態であったものを論文発表することができた¹⁾。

すでにピレノイド貫通チラコイド (TTPM) 内腔因子であることが分かっている珪藻 *Phaeodactylum tricoronytum* および *Thalassiosira pseudonana* の θ 型炭酸脱水酵素 (Pt θ CA1 および Tp θ CA2) のゲノム編集を行った結果、Pt θ CA1 破壊株2株の取得に成功した。これら PtCA1 破壊株の表現型を精査した結果、低 CO₂ 環境下での野生株に対する生育遅延および無機炭素に対する光合成親和性の低下が観察された。最大光合成活性 (P_{max}) に野生株と変異体で大きな違いが見られなかった一方で、光合成親和性の低下は顕著であり、生育 CO₂ 濃度に関わらず、1.5~2.5 mM 程度の $K_{1/2}$ [DIC]を示した(図 4)。この数値は CCM が抑制されているとされる高 CO₂ 生育細胞が示す値と比較しても3~5倍高く、これまでに報告されたことのない低親和性であった。このことは、高 CO₂ 生育した野生型細胞においてもある程度の CCM が定常的に機能しており、CCM は低 CO₂ に順化すると、細胞膜や葉緑体包膜の重炭酸輸送体やチラコイド Best 因子が誘導発現されることにより強化されるが、ピレノイド内部で CO₂ 発生を担うマシナリーは数パーセントの CO₂ 環境下では依然として必須であることが示された(投稿中)。なお、Tp θ CA2 のゲノム編集破壊株はまだ取得に至っていないが、Tp における各 θ CA の局在を正確に決定し、Tp θ CA1、Tp θ CA3 はストロマ、Tp θ CA2 は TTPM 内腔、Tp θ CA4 は細胞質にあることが分かった²⁾。

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Structure of cyanobacterial photosystem I complexed with Ferredoxin at 1.97 Å resolution”, *Commun Biol*, 2022, **5**:951 doi: 10.1038/s42003-022-03926-4.
- 2) “Localization and characterization θ -carbonic anhydrases in *Thalassiosira pseudonana*” *Photosynth. Res.*, vol. 156, pp. 217-229, 2023
- 3) “Pyrenoid-core CO₂ evolving machinery is essential for diatom photosynthesis in current and elevated CO₂ world”, *Plant Physiology*, accepted