

光化学系 I を変動光から保護する仕組み

小林 亮平

要 約

光合成は、太陽から無尽蔵に降り注ぐ光エネルギーから生物が利用可能な化学エネルギーを生成すること等から、地球圏進化史上最も重要な発明の一つに数えられるが、過剰な光の受容は活性酸素種を生成し、光合成装置が破壊される光傷害のリスクをも伴っている。変動光ストレス等による光化学系 I (PSI) の光阻害は、個体の生死を左右するため、植物を含む光合成生物は、PSI を保護する多様な光防御機構を進化の過程で獲得してきた。PSI の光防御は、電子伝達の供与側 (PSI 上流) と受容体側 (PSI 下流) 双方における制御によって成り立っている。

第 1 章では、被子植物において供与側から PSI を保護する photosynthetic control の制御について、逆遺伝学的アプローチによる成果を報告する。

Photosynthetic control は、光の過剰によって生じるチラコイド内腔 (ルーメン) の酸性化を感受して PSI 上流のシトクロム *b₆f* 複合体 (Cyt *b₆f*) で素早く電子伝達を律速するため、特に変動する光の下で PSI の過還元を防ぐために重要な機構である。本研究では、ゲノム編集技術である Target-AID システムを用いて、Cyt *b₆f* の Rieske ISP (iron-sulfur protein) に 1 アミノ酸置換を導入した一連のシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 変異体を作出した。その中で、E143K 変異 (143 番目のグルタミン酸のリジンへの置換) は、ルーメンの pH が高く維持されるために photosynthetic control の誘導が阻害される *pgr5-2* 変異体背景において、photosynthetic control の誘導を部分的に回復させた。E143K 変異は、Cyt *b₆f* のタンパク質レベルには影響を与えておらず、中性付近のルーメン pH では野生型と同様の電子伝達活性を示し、pH6.5 以下における photosynthetic control を増強していた。以前、この E143K 変異よりも強い表現型を示す P194L 変異 (*pgr1* 変異, 194 番目のプロリンのロイシンへの置換) が報告されており、P194L 変異は Rieske ISP の活性部位 (Q_p サイト近傍) で補因子を配位するヒスチジン残基の pKa を変化させることによってルーメン pH への感受性を向上さ

せているというモデルが提案されていた。一方, E143 残基は, P194 および H178 から構造的に離れている。この変異が photosynthetic control をどのような分子メカニズムで増強しているのかを確かめるため, *pgr1* 変異体に E143K 変異を導入した二重変異体を作出した。この変異体は, *pgr1* 変異体の過剰な PSI 酸化をさらに増幅したことから, 2 つの変異は photosynthetic control の増強に独立に作用することが分かった。一方で, 野生株背景の E143K 変異は, PSI のスペシャルペアクロロフィルである P700 の酸化や電子伝達において野生型との明確な違いを示さないにもかかわらず, 主に Cyt b6f における Q サイクル (プラストキノン種の連鎖的な酸化還元反応) によるルーメンへのプロトン取り入れによって形成されるプロトン駆動力を低下させており, 電子伝達の維持と引き換えにプロトン駆動力が低下する調節メカニズムとして, 幾つかのモデルを想起させた。一部の光合成生物では, シロイヌナズナの E143 に対応する配列が野生型で K として保存されており, この残基は, 陸上植物の初期進化において photosynthetic control を過酷な陸上環境に適応させる役割を果たした可能性がある。

第 2 章では, PSI 受容体側で PSI から余剰の電子を引き受け, Cyt b6f の Q サイクルに還元力を循環させることにより, ルーメン酸性化の制御にも関わるサイクリック電子伝達の役割について, その完全なノックアウト株を作出して解析した結果を報告する。

被子植物において, PSI 周辺を循環するサイクリック電子伝達は, PROTON GRADIENT REGULATION 5 (PGR5) タンパク質依存経路と NADH デヒドロゲナーゼ様複合体 (NDH) 依存経路の 2 経路が担っている。従来, *pgr5-1* 変異体は, PGR5 タンパク質のノックアウト (KO) 株に準ずる前提で研究が進められてきたが, *pgr5-1* は *PGR5* 遺伝子にミスセンス変異を有する変異株であり, 少量の機能的な PGR5 タンパク質の蓄積が確認されており, 完全な KO ではない。そこで, 本研究では, CRISPR-Cas9 システムを用い, *pgr5-5* および *pgr5-6* と呼ぶ 2 つの KO 株を作出した。いずれの KO 株でも, *pgr5-1* 変異体と同様に P700 が顕著な還元状態を示した。両 KO 株を用い, NDH 複合体を欠損した 2 つの *chlororespiratory reduction* (*crr*) 変異体との二重変異体を作出した。この二重変異体は著しい生育阻害を示し, スクロース添加培地で生き残った個体でも, PSI 活性が著しく損なわれていた一方で, PSII 活性の低下は比較的軽度であった。サイクリック電子伝達は, PSI 活性を維持するために必須の役割を果たしていることを示した。