

I 光合成初期過程と電子伝達超複合体の構造と機能の研究

Structure and function of super complexes of photosynthetic electron transport systems

菓子野康浩・佐藤和彦
Kashino, Y., Satoh, K.

光合成における光エネルギーの化学的エネルギーへの変換はふたつの光化学反応中心（光化学系 I および II）複合体で行われている。光化学系 II 複合体は生体内で二量体として機能していると信じられてきた。本研究では、そのような通説に反し、通常精製される二量体は精製の過程で生じるものであり、二量体化することが光化学系 II の機能を実現する上で必須の事象ではないことを示すことができた。これは、光化学系 II 複合体が生体内では単量体の形で機能していることを強く示唆するものである。また、光化学系 II 複合体に新たに見出した新規タンパク質の役割を明らかにした。最古の植物と言われる原始紅藻から光化学系 I・系 II 複合体を健全な形で精製することにより、原始紅藻の光化学系がラン色細菌および高等植物両者の特徴を兼ね備えていることを示すことにより、光合成系の進化の過程について生化学的な裏付けを与えることができた。さらに研究材料を珪藻にも拡大し、純度と活性の高い光化学系 I・II 複合体を得る事ができた。珪藻は地球上の全光合成の 20% 程度を担うほどの重要な光合成生物であるにもかかわらず、その硬い殻のために生化学的な研究は困難であった。本研究はそのような困難を乗り越え、珪藻についての生化学的な研究にも道を開くものである。

等電点二次元電気泳動法を改良することにより、従来は非常に困難であった光化学系 II 複合体のような膜タンパク質複合体のタンパク質組成を詳細に調べる方法を開発した。

II 光合成生物における環境応答機構の研究

Studies on responses of photosynthetic organisms to environmental stresses

佐藤和彦・菓子野康浩
Satoh, K., Kashino, Y.

高等植物光合成機構の高温に対する順化機構の研究を進め、高温順化は光合成電子伝達系だけでなく、炭酸固定系によっても規定されていることを示した。光合成生物は、その生育環境中では、高温と同時に乾燥に晒される確率が高い。しかし、乾燥に対して耐性の高いものとそうでないものがある。乾燥耐性種がどのような機構によって乾燥に対処しているのか解明するため、陸生乾燥耐性ラン色細菌イシクラゲに加え、蘚苔類、シダと地衣類を用いて乾燥ストレスへの応答を比較分析した。その結果、乾燥耐性種に共通して見られる特徴が見出された。それは、乾燥の進行に伴って

光化学系 II を積極的に失活させるとともに、乾燥過程あるいは乾燥状態で入射してくる光エネルギーを効率的に熱に変換する、というものである。このような機構により、乾燥時に必然的に起こりうる光阻害から光化学系、ひいては細胞を守っていることが明らかとなった。さらに、当然のことではあるが、種や生物群により乾燥ストレスに対する耐性戦略には相異があることも明らかとなった。

III Ice algae についての生理・生化学的研究

Physiological and biochemical study on ice algae

菓子野康浩・佐藤和彦
Kashino, Y., Satoh, K.

北洋や南極海は海水温がかなり低いにもかかわらず、その生態系は非常に豊かである。その生態系を支える一次生産者として、海氷の底部で氷に囲まれて生育する珪藻類、いわゆるアイスアルジーが非常に重要な役割を担っていることが明らかになっている。

本研究では、海氷が発達したサロマ湖でアイスアルジーを採取し、光環境の日周変化に伴う光合成活性の変化を分析した。光合成活性や保護機構の活性が光強度に応じて変化するのは当然であるが、その最大活性、つまり能力自体が光強度の変化に合わせて、巧妙に調節されていることが明らかとなった。

南極大陸は不毛の地と考えられがちであるが、藻類が光合成活動を営んでいる。南極大陸で採取されたラン色細菌（ラン藻）は、兵庫県立大学理学部キャンパスで採取されたものと比較すると、紫外線吸収物質をより多く含んでおり、強い紫外線が降り注ぐ南極の環境に適応していることが明らかとなった。また、南極のラン色細菌（ラン藻）では、系 I に対する系 II の割合が高くなっていたことも特筆すべき特徴である。

IV 光合成微生物の未知遺伝子の機能解析

Studies on function of unidentified genes in photosynthetic microorganisms

菓子野康浩・佐藤和彦
Kashino, Y., Satoh, K.

ラン色細菌の中で *Synechocystis* sp. PCC6803 は全遺伝子配列が解明された初めての生物である。しかし、推定された 3,000 余の遺伝子の内、半数以上は機能未知の遺伝子であった。ラン色細菌の生き様の全ての理解を目指し、*ycf* 遺伝子を中心に、未知遺伝子の機能解析を行ってきた。*ycf12* は被子植物と裸子植物を分けるマーカー遺伝子として知られていたが、発現しているかどうかさえ不明の遺伝子であった。本研究では、その遺伝子が実際に発現し、しかも光化学系 II 複合体のサブユニットとして機能していることを明らかにした。また、*Ycf33* が環状電子伝達系に関与している事、

Slr1923 がクロロフィル合成系において divinylchlorophyll 還元に必要な成分である事等を示した。Ycf33 が環上電子伝達系に関与していることから、環状電子伝達系解明を目指して電子伝達体の精製に取り組んだ。

発表論文 List of Publications

- I-1 Natsuko Inoue-Kashino, Takeshi Takahashi, Akiko Ban, Miwa Sugiura (愛媛大), Yuichiro Takahashi (岡山大), Kazuhiko Satoh and Yasuhiro Kashino: Evidence for a stable association of Psb30 (Ycf12) with photosystem II core complex in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photosynth Res* 98 (2008) 323-335.
- I-2 Yohei Ikeda, Masayuki Komura (名古屋大), Mai Watanabe, Chie Minami, Hiroyuki Koike (中央大), Shigeru Itoh (名古屋大), Yasuhiro Kashino, Kazuhiko Satoh: Photosystem I complexes associated with fucoxanthin-chlorophyll-binding proteins from a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*. *Biochim. Biophys. Acta – Bioenergetics* 1777 (2008) 351-361.
- I-3 Yohei Ikeda, Yasuhiro Kashino, Hiroyuki Koike and Kazuhiko Satoh: Purification and the antenna size of photosystem I complexes from a centric diatom, *Chaetoceros gracilis*. in *Photosynthesis. Energy from the Sun* (Allen JF, Gantt E, Golbeck JH, Osmond B Eds, Springer, The Netherlands) (2008) 269-272.
- I-4 Ryo Nagao (東京理科大), Takehiro Suzuki (理研), Naoshi Dohmae (理研), Akinori Okumura (日大), Masako Iwai (東京理科大), Takeshi Takahashi, Yasuhiro Kashino and Isao Enami (東京理科大): Isolation of PSII retaining high oxygen-evolving activity from a marine diatom, *Chaetoceros gracilis*. in *Photosynthesis. Energy from the Sun* (Allen JF, Gantt E, Golbeck JH, Osmond B Eds, Springer, The Netherlands) (2008) 471-474.
- I-5 Yasuhiro Kashino: Electrophoretic Separation of Hydrophobic Membrane Proteins Using Iso-electric Focusing. BIT's 6th Annual Congress of International Drug Discovery Science and Technology (2008 IDDST), Beijing, China, October 2008.
- I-6 井上名津子・高橋武志・伴 亜希子・杉浦美羽 (愛媛大)・高橋裕一郎 (岡山大)・菓子野康浩・佐藤和彦: Ycf12 (Psb30)は*Synechocystis* 6803光化学系IIの構成サブユニットである。日本植物学会第72回大会 (高知, 2008年)
- I-7 Takeshi Takahashi, Katsuyuki Tanaka, Sawa Kana, Yukari Yonekura, Natsuko Inoue-Kashino, Yuichiro Takahashi (岡山大), Yasuhiro Kashino and Kazuhiko Satoh: Unique architecture of photosystems in a primitive red alga, *Cyanidioschyzon merolae*. Vth Asian Pacific Phycology Forum, Wellington, Newzealand, Nov. 2008.
- I-8 高橋武志・井上 (菓子野) 名津子・小澤真一郎 (岡山大)・高橋裕一郎 (岡山大)・菓子野康浩・佐藤和彦: 原始紅藻*Cyanidioschyzon merolae*の光化学系II複合体。第50回日本植物生理学会年会 (名古屋, 2009年)
- I-9 Akito Nishizawa (茨城大), Daisuke Muramatsu (茨城大), Shinya Kishigami (茨城大), Yasuhiro Kashino, Miki Senda (産総研), Toshiya Senda (産総研), Masao Fukuda (長岡技大), Shigenobu Kimura (茨城大): Enzymatic properties of NADH/NADPH-specificity inverted BphA4 mutants from *Pseudomonas* sp. strain

- KKS102. 第31回日本分子生物学会年会、第81回日本生化学会大会合同大会（神戸、2008年）
- II-1 Wataru Yamori (阪大), Ko Noguchi (東大), Yasuhiro Kashino and Ichiro Terashima (東大) : The role of the electron transport in determining the temperature dependence of photosynthetic rate in spinach leaves grown at contrasting temperatures. *Plant Cell Physiol.* 49 (2008) 583-591.
- II-2 Shin-ya Fukuda, Ruriko Yamakawa, Manabu Hirai, Yasuhiro Kashino, Hiroyuki Koike, and Kazuhiko Satoh: Mechanisms to avoid photoinhibition in a desiccation-tolerant cyanobacterium, *Nostoc commune*. *Plant Cell Physiol.* 49 (2008) 488-492.
- II-3 小杉真貴子・有田妹子・菓子野康浩・小池浩幸（中央大）・佐藤和彦：地衣と共生藻の光阻害について。日本地衣学会第7回大会（秋田、2008年）
- II-4 Makiko Kosugi, Maiko Arita, Ryoko Shizuma, Yufu Moriyama, Yasuhiro Kashino, Hiroyuki Koike, Shinji Handa and Kazuhiko Satoh: Responses to desiccation stress in lichens are different from those in their photobionts. Sixth International Lichenological Symposium IAL 6, Asilomar, CA, USA, July, 2008
- II-5 小杉真貴子・菓子野康浩・佐藤和彦：地衣類の乾燥生理。日本植物学会第72回大会、シンポジウム「地衣共生藻の科学」（高知、2008年）
- II-6 設楽智文（山形大）・高平花絵（山形大）・長谷井稔（(株)ハセイ）菓子野康浩・原慶明（山形大）：日本産雪上藻類 *Ochromonas smithii* と *O. itoi* の寒冷適応特性と系統。日本植物学会第72回大会（高知、2008年）
- II-7 佐藤和彦・大場大輔・野口晴美・小杉真貴子・菓子野康浩・小池裕幸（中央大）：地衣酸の共生及び非共生光合成生物に対する影響 (Effects of lichen substances on photobionts and photosynthetic organisms)。第31回日本分子生物学会年会、第81回日本生化学会大会合同大会（神戸、2008年）
- III-1 Shimpei Aikawa, Hiroshi Hattori (東海大), Yasushi Gomi (水産総研), Kentaro Watanabe (国立極地研), Sakae Kudoh (国立極地研), Yasuhiro Kashino and Kazuhiko Satoh: Diel tuning of photosynthetic systems in ice algae in Saroma-ko Lagoon, Hokkaido Japan. *Polar Sci.* 3 (2009) 57-72.
- III-2 Yasuhiro Kashino, Shimpei Aikawa, Makoto Sampei (Laval Univ.), Sakae Kudoh (国立極地研), Hiroshi Hattori (東海大), Hiroshi Sasaki (専修大) and Mitsuo Fukuchi (国立極地研) : Strategy for photosynthetic acclimation against the environmental change in psychrophilic phytoplankton inhabiting Arctic polynya as assessed by pulse amplitude modulation method (PAM). Vth Asian Pacific Phycology Forum, Wellington, Newzealand, Nov. 2008.
- III-3 Shimpei Aikawa, Hiroshi Hattori (東海大), Yasushi Gomi (水産総研), Sakae Kudoh (国立極地研), Kentaro Watanabe (国立極地研), Kazuhiko Satoh and Yasuhiro Kashino: Diurnal changes in photosynthetic light reaction of ice algae observed in Saroma-ko Lagoon Hokkaido, Japan. Vth Asian Pacific Phycology Forum, Wellington, Newzealand, Nov. 2008.
- III-4 Yasuhiro Kashino, Fuminori Hashihama (海洋大), Kentaro Watanabe (国立極地研), Mitsuo Fukuchi (国立極地研), Kazuhiko Satoh and Sakae Kudoh (国立極地研) : Light acclimation states of phytoplankton in Antarctic Ocean as assessed by

- photosynthetic pigment distribution. XXXI Symposium on Polar Meteorology and Glaciology Polar Biology, Tokyo, Japan, Dec. 2008.
- III-5 Shimpei Aikawa, Makoto Sampei (Laval Univ.), Hiroshi Hattori (東海大), Hiroshi Sasaki (専修大), Mitsuo Fukuchi (国立極地研), Kazuhiko Satoh, Sakae Kudoh (国立極地研), Jean-Eric Trembley (Laval Univ.), Louis Fortier (Laval Univ.) and Yasuhiro Kashino: Photosynthetic properties of phytoplankton inhabiting Mackenzie Shelf. XXXI Symposium on Polar Meteorology and Glaciology Polar Biology, Tokyo, Japan, Dec. 2008.
- III-6 Kazuhiko Satoh, Yuya Katashima, Makiko Kosugi, Sakae Kudoh (国立極地研), Yasuhiro Kashino, Hiroyuki Koike (中央大): Physiological characteristics of Antarctic terrestrial photosynthetic organisms. XXXI Symposium on Polar Meteorology and Glaciology Polar Biology, Tokyo, Japan, Dec. 2008.
- III-7 菓子野康浩・藍川晋平・佐藤和彦: アイスアルジーの光環境変化に応じた光合成機能調節。植物生理学会第50回年会、シンポジウム「地球環境を紡ぐ好冷性生物の光合成—知られざる寒冷域の光合成—」(平成21年3月、名古屋、2009年)
- III-8 藍川晋平・三瓶 真、Jean-Eric Tremblay、Louis Fortier、菓子野康浩 (5名省略)「カナダ・ポーフォート海の植物プランクトンにおける夏期の光合成特性。第50回日本植物生理学会年会(名古屋、2009年)
- IV-1 Junko Ooyabu, Masako Ohtsuka, Yasuhiro Kashino, Hiroyuki Koike (中央大) and Kazuhiko Satoh: (2008) The expression pattern of NAD(P)H oxidases and the cyclic electron transport pathway around photosystem I of *Synechocystis* sp. PCC6803 depend on growth conditions. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72 (2008) 3180-3188.
- IV-2 Md Rafiqul Islam, Shimpei Aikawa, Takafumi Midorikawa(東大), Yasuhiro Kashino, Kazuhiko Satoh and Hiroyuki Koike (中央大): *slr1923* of *Synechocystis* sp. PCC6803 is essential for conversion of 3,8-divinyl(proto)chlorophyll(ide) to 3-monovinyl(proto)chlorophyll(ide). *Plant Physiol.* 148 (2008) 1068-1081.
- IV-3 Md Rafiqul Islam, Yasuhiro Kashino, Kazuhiko Satoh and Hiroyuki Koike (中央大): (2008). Inactivation of the gene *slr1923*: a potential step to discover divinyl reductase involved in chlorophyll *a* biosynthesis in *Synechocystis* sp. PCC6803. Gordon Research Conferences, Mount Holyoke College, South Hadley, Massachusetts, USA, June, 2008.
- IV-4 Mai Watanabe, Yasuhiro Kashino, Kazuhiko Satoh and Hiroyuki Koike (中央大): Reconstitution of cyclic electron transport in *Synechocystis* sp. PCC 6803 by a cell-free system. *in* Photosynthesis. Energy from the Sun (Allen JF, Gantt E, Golbeck JH, Osmond B Eds, Springer, The Netherlands) (2008) 703-707.
- IV-5 Md Rafiqul Islam, Yasuhiro Kashino, Kazuhiko Satoh and Hiroyuki Koike (中央大): *Slr1923* of *Synechocystis* 6803 is related to chlorophyll *a* metabolism. *in* Photosynthesis. Energy from the Sun (Allen JF, Gantt E, Golbeck JH, Osmond B Eds, Springer, The Netherlands) (2008) 1089-1092.

大学院生命理学研究科

博士後期課程

藍川晋平：好冷性微細藻類およびアイスアルジーの光合成特性

高橋武志：好熱・好酸性紅藻からの光化学系 II 複合体の精製・構造解析

Md. Rafiqul Islam: 突然変異体作出による環状電子伝達に関与する成分の探索

小杉真貴子：地衣の乾燥耐性機構

博士前期課程

田中克幸：珪藻の光化学系 I 複合体の結晶化および構造解析

科学研究費補助金等

- 1 文部科学省科学研究費補助金（特定領域研究） 平成 20 年度 課題番号：20051021
研究課題 光化学系 II の水分解反応をはじめとした機能管理機構の解明
研究代表者 菓子野康浩
- 2 財団法人ひょうご科学技術協会一般学術研助成 平成 20 年度 課題番号：211107
研究課題 光合成光捕集系の進化的変遷から捉え直す光エネルギー伝達システム
研究代表者 菓子野康浩
- 3 国立極地研究所共同研究 平成 19-21 年度 課題番号：19-27
研究課題 南極のラン藻類を中心とした湖底の藻類群衆の光合成に関する研究
研究代表者 菓子野康浩