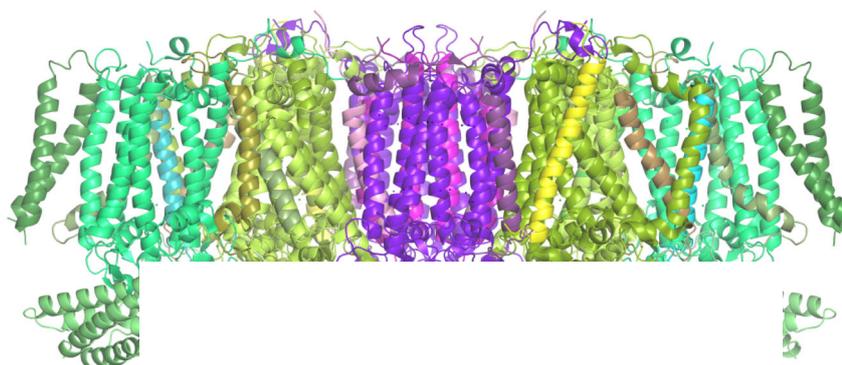


植物の光合成初期過程の酸素発生活性を向上させるアミノ酸変異を発見 —光合成・人工光合成の光エネルギー変換効率の向上へ期待—

概要

光合成の初期過程では、光化学系IIと呼ばれるタンパク質と色素の複合体が、光エネルギーを利用して水から電子を引き抜き、電子を奪われた水は酸素分子へと分解されます。この、水から電子を取り出して酸素を生む「水分解-酸素発生反応」は、光エネルギーを化学エネルギーに変換する鍵となる反応です。京都大学大学院農学研究科 伊福健太郎 教授、京都大学大学院生命科学研究所 今泉滉 修士課程学生、西村太志 同博士課程学生（研究当時）、中野雄司 同教授らは、名古屋大学 野口巧 教授、長尾遼 同特任助教（研究当時、現：岡山大学 特任講師）、東京大学 石北央 教授、斉藤圭亮 同准教授との共同研究により、人工的な条件下で光化学系IIの水分解-酸素発生反応の活性を向上させるアミノ酸変異を発見しました。さらに、活性亢進のメカニズムに関して、光化学系IIの水分解-酸素発生反応の鍵となる部位付近に特異的に結合する機能未知の塩素イオンが、このアミノ酸変異によってより安定に結合することを示しました。これにより、上記の塩素イオンが光化学系IIの高効率な水分解-酸素発生反応に重要な因子である可能性を明らかにしました。今回の発見は、光合成の光エネルギー変換効率の制御に関する新たな知見を提供するものであり、今後、人工光合成研究の進展に貢献することも期待されます。

本研究成果は、2022年7月24日に米国の国際学術誌「PNAS Nexus」にオンライン掲載されました。



図：本研究のイメージ図

本研究で発見した変異は、光合成の光エネルギー変換を担うタンパク質複合体「光化学系II」の水分解-酸素発生反応の活性を向上させる。

1. 背景

光合成は、太陽光を用いて水と二酸化炭素から酸素と炭水化物を作り出す、究極の光エネルギー変換システムです。近年、持続可能な資源開発の実現を目指して、藻類の光合成を利用した物質生産や、光合成で固定した二酸化炭素に由来する植物バイオマスの利用、光合成を模倣してクリーンにエネルギーを生み出す人工光合成など、光合成の仕組みを活用する様々な試みが広がっています。そのために、光合成の詳細な分子機構を解明し、光合成の効率を向上させる手法の確立が求められています。

光合成の初期過程では、光エネルギーを用いて水から電子が引き抜かれ、電子を奪われた水は酸素分子へと分解されます。この「水分解-酸素発生反応」は光化学系 II (PSII) というタンパク質と色素の複合体が触媒する、光エネルギー変換の鍵となる反応です。これは人工光合成研究においても特に重要な反応であり、反応の効率を向上させることが目指されています。

PSII の水分解-酸素発生反応の触媒部位はマンガングラスター^{*1} であり、この近くには 2 つの塩素イオン (Cl-1、Cl-2^{*2}) が特異的に結合しています。塩素イオンが酸素発生反応に必須の因子であることは古くから知られており、2 つの塩素イオンのうち Cl-1 については、これまでに酸素発生反応の生成物であるプロトン^{*3} の排出などに重要なことが明らかにされてきました。一方、Cl-2 に関してはほとんど研究が進んでおらず、その機能や重要性が未解明のままです。

2. 研究手法・成果

植物の PSII のマンガングラスター付近に結合する塩素イオンの保持を助けるタンパク質として、PSII に結合するタンパク質 PsbP^{*4} が知られています。本研究では、PSII の立体構造の中で、PsbP タンパク質の Loop 4^{*5} という特定の領域が、機能未知の塩素イオン Cl-2 の近くに挿入されていることに着目しました。我々は、PsbP タンパク質の Loop 4 領域が Cl-2 の保持や PSII の酸素発生反応の活性化に重要な機能を持つ可能性があると考えました。そこで、まず Loop 4 領域に様々なアミノ酸変異を導入した組換えホウレンソウ PsbP タンパク質を作製し、Loop 4 領域における変異の影響を調べることにしました。変異のない野生型^{*6} のホウレンソウから単離した PSII から PsbP を取り除き、上記組換えホウレンソウ PsbP タンパク質を再構成して、この PSII の酸素発生活性^{*7} を測定しました。その結果、Loop 4 領域に導入したいくつかの変異では、野生型と比べて PSII の活性が大きく低下し、PsbP の Loop 4 領域が PSII の活性に強く影響することが明らかとなりました。さらに、驚くべきことに、PsbP の Loop 4 領域において 139 番目のアミノ酸の種類をアスパラギン酸 (D) からアスパラギン (N) に変えたアミノ酸変異 D139N では、PSII の活性が顕著に向上することを発見しました (図 1)。植物体内ではなく“試験管内”の条件つきではありますが、光化学系 II の酸素発生活性を向上させる変異の発見は、世界で初めての成果です。

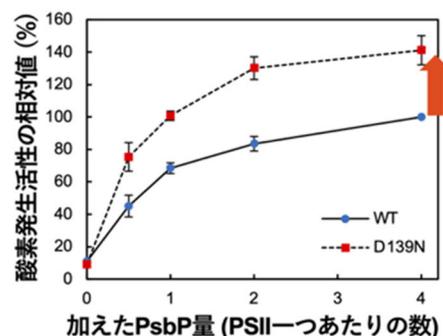
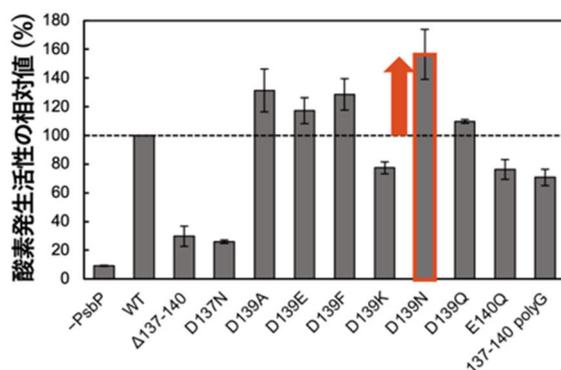


図 1. 本研究で発見した D139N 変異による光化学系 II の酸素発生活性の向上

左図：様々な変異型 PsbP タンパク質が光化学系 II の酸素発生活性に与える影響。D139N 変異によって活性が顕著に向上する。右図：PsbP タンパク質を一度解離させた光化学系 II に、野生型 (WT) あるいは D139N 変異型の PsbP タンパク質を、光化学系 II の 0~4 倍量だけ加えたときの酸素発生活性。左図では野生型 (WT) の PsbP タンパク質を用いた際の酸素発生活性を、右図では野生型 (WT) の PsbP タンパク質を光化学系 II の 4 倍量だけ加えたときの酸素発生活性を 100%として、相対的な酸素発生活性を示す。

次に、今回発見した PsbP の D139N 変異による PSII の水分解-酸素発生反応の活性亢進が、どのようにして起こっているのかを調べることにしました。まず、野生型の PsbP を結合した PSII と、D139N 変異 PsbP を結合した PSII の活性を様々な条件で測定して比較しました。その結果、D139N 変異 PsbP を結合した PSII では、野生型 PsbP を結合した場合と違って、周囲の塩素イオン濃度を低下させても酸素発生活性がほとんど下がらないという特徴を持っていました。つまり、PsbP タンパク質の D139N 変異によって、PsbP の塩素イオン保持能力が向上したことがわかりました。

続いて、光に応答するタンパク質の詳細な分子構造変化を調べられる光誘起フーリエ変換赤外 (FTIR) 差スペクトル法^{※8}、並びに陸上植物の PSII の立体構造情報を基にした理論化学的手法により、PsbP の D139N 変異が、PSII の分子構造に与える影響を調べました。その結果、PsbP の D139N 変異が PSII のマンガクラスターの周辺で特有の構造変化をもたらすことが明らかとなり、特に塩素イオン Cl-2 の結合部位付近で、新たな水素結合の形成による構造変化が起こることが示されました (図 2)。

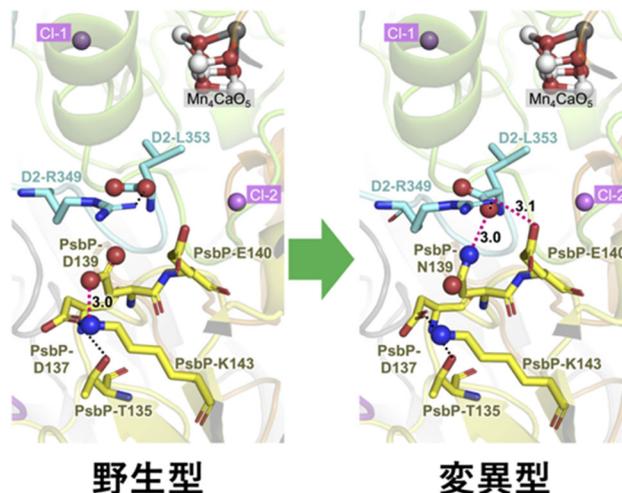


図 2. 本研究で発見した D139N 変異による光化学系 II の中心部の分子構造の変化

野生型の光化学系 II (左) と変異型の光化学系 II (右) の中心部周辺の分子構造を示す。D139N 変異によって塩素イオン Cl-2 (各図の中央右側、ピンク色の球) の近くで構造変化が起こる。

D139N 変異により PsbP の塩素イオン保持能が上がるという結果と合わせると、PsbP の D139N 変異は Cl-2 の結合部位の近くで構造変化をもたらすことで Cl-2 の PSII への結合を安定化する効果を持つことが示唆されます。この結果は、PSII のマンガクラスター付近に結合する 2 つの塩素イオンのうち、重要な機能を持つことが既にわかっている Cl-1 だけではなく、これまでその機能や重要性が不明だった Cl-2 も PSII の高い酸素発生活性に重要であることを示唆しています。Cl-2 が PSII の酸素発生反応に影響を与える詳細な分子機構はまだわかりませんが、Cl-2 は水分解-酸素発生反応の生成物であるプロトン PSII の内部にあるマンガ

ンクラスター周辺から PSII の外部へと効率よく排出するための経路を適切に維持する機能を持つと予測されます。

本研究の成果をまとめると以下の3点になります。

- PsbP タンパク質の Loop 4 領域が PSII の水分解-酸素発生反応の活性化に重要なことがわかりました。
- PSII の酸素発生活性を向上させるアミノ酸変異を初めて発見し、活性向上のメカニズムを解明しました。
- PSII の酸素発生中心付近に結合する2つの塩素イオン (Cl-1, Cl-2) のうち、研究が進んでいる Cl-1 だけではなく、これまでその機能や重要性がわかっていなかった Cl-2 も、PSII の水分解-酸素発生反応の効率に重要なことを示唆しました。

3. 波及効果、今後の予定

今回、試験管内という人工的な条件下ではありますが、PSII の水分解-酸素発生反応の効率が上昇する変異を世界で初めて発見しました。また、水分解-酸素発生反応の触媒部位の近くに結合する機能未知だった塩素イオンが、反応の効率を上げるための重要な役割を持つ可能性が示唆されました。これらの成果は、光合成の光エネルギー変換効率の制御に関する新たな知見を提供し、今後、人工光合成研究の進展に貢献することが期待されます。今後は、実際の植物体内にて PsbP-D139N 変異の影響についてさらなる解析を進めます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、以下の研究費の支援を受けて実施されました。

科学技術振興機構 (JST) CREST (JPMJCR1656); 日本学術振興会 科学研究費助成事業 (JP20H031160, JP18H01937, JP18H05155, JP20H03217, JP20H05090, JP18H01186, JP16H06560, JP17H06433, and JP17H06435); Interdisciplinary Computational Science Program in CCS, University of Tsukuba; Akira Yoshino Research Grant of The Chemical Society of Japan.

<用語解説>

※1 **マンガククラスター**: 4つのマンガン原子 (Mn) と1つのカルシウム原子 (Ca)、5つの酸素原子 (O) からなる、PSII の水分解-酸素発生反応の触媒中心。Mn クラスターや Mn_4CaO_5 クラスターなどとも表記される。

※2 **Cl-1, Cl-2**: PSII のマンガククラスターの近くで特定の結合部位に特異的に結合する塩素イオン。Cl-1 は PSII の D1 サブユニットの N181 残基と E333 残基、PSII の D2 サブユニットの K317 残基に囲まれた塩素イオン結合部位に結合した塩素イオンを指し、Cl-2 は PSII の D1 サブユニットの N338 残基と F339 残基、PSII の CP43 サブユニットの E354 残基に囲まれた塩素イオン結合部位に結合した塩素イオンを指す。

※3 **プロトン**: 水素原子が電子を失ったもの。H⁺。

※4 **PsbP タンパク質**: 緑色植物の PSII に特有のサブユニット、すなわち PSII 複合体を構成するタンパク質の一つである。マンガククラスターの構成要素であるカルシウムイオンや、マンガククラスター付近に結合する塩素イオンの保持を助ける機能や、マンガククラスター周辺の構造を適切に保ち、水分解-酸素発生反応を活性化する機能などを持つ。

※5 **Loop 4 領域**: ここでは、PsbP タンパク質の T135 残基から G142 残基までのアミノ酸残基が形成する領域を指す。

※6 **野生型**：変異が入っていない、野生で最も頻繁にみられる標準的な型。

※7 **PSII の酸素発生活性**：PSII が触媒する水分解-酸素発生反応では、2つの水分子が分解されるごとに1つの酸素分子が生じる。酸素発生活性は、水分解-酸素発生反応の活性を、反応によって発生した酸素の量で評価したものである。

※8 **光誘起フーリエ変換赤外 (FTIR) 差スペクトル法**：光によって光合成タンパク質内で起こる反応に伴う分子構造変化などを調べられる、分光学的な手法。

<研究者のコメント>

太陽光のエネルギーと水から、酸素を生み出し CO₂ を有用な化合物に変換する光合成。この仕組みを活用・応用することは、気候変動やエネルギー問題が深刻化する中で、持続可能な資源開発の実現への大きな前進をもたらす可能性があると考えています。本研究では、光合成の光エネルギー変換の効率を条件つきで向上させる変異を発見し、機能のわかっていなかった因子がこの効率に重要な可能性があることを見つけました。これからも、持続可能な社会の実現を目指して光合成研究に取り組んでいきます。(今泉滉)

<論文タイトルと著者>

タイトル：D139N mutation of PsbP enhances the oxygen-evolving activity of photosystem II through stabilized binding of a chloride ion (PsbP の D139N 変異は塩素イオンの結合安定化により光化学系 II の酸素発生活性を向上させる)

著者：Ko Imaizumi, Taishi Nishimura, Ryo Nagao, Keisuke Saito, Takeshi Nakano, Hiroshi Ishikita, Takumi Noguchi, Kentaro Ifuku

掲載誌：PNAS Nexus DOI： <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgac136>