

TOPICS

光化学系 II PsbP タンパク質の立体構造と機能

伊福 健太郎 (京都大学大学院生命科学研究所)

光化学系 II 複合体(PSII)の研究の歴史は非常に長く、私が主な研究対象としてきている PsbP タンパク質 (別名: Oxygen-Evolving Complex 23-kDa protein:OEC23)も、その発見は1980年代に遡る¹⁾。従って、学生の頃から PsbP を研究していますと言うと、光合成、特に PSII を専門とされている方からは「いまさらどうして?」と聞かれることがしばしばであった。この度、光合成研究会の会報に研究紹介を書かせて頂く機会を頂戴したので、我々の研究グループがこのタンパク質に着目した経緯も含めて、最近の研究成果を簡単にご紹介させて頂く事にした。私の様な若輩の研究の変遷には興味がない方が多いかと思われるが、お付き合い頂ければ幸いである。

PsbP は PSII のチラコイドルーメン側に結合しているタンパク質である。その主な機能は、水分解反応に必須な補欠因子である Ca^{2+} と Cl^- の Mn クラスター近傍への保持であることが、単離 PSII 標品を用いた解析で明らかになっていた¹⁾。当時、京大・農学部の佐藤文彦先生のところでは、0.2M の NaCl 存在下で生育できるタバコ光独立培養細胞が確立されており、そのチラコイド膜における耐塩性機構が解

析されていた。その結果、耐塩性の細胞では PsbP がより強固に PSII に結合していることが判明し²⁾、また耐塩性が弱い植物では PSII から PsbP がはずれやすいという予備的な結果も得られていた。そうした時期に佐藤研究室に配属された私が頂いたテーマは、耐塩性が異なる植物由来の組換え PsbP を作成し、その PSII に対する親和性を *in vitro* 再構成実験で比較するというものであった。残念ながら *in vitro* の結果はネガティブで、PsbP 自体に PSII への結合の強弱を左右する要因はなさそうであった³⁾。そこで別のアプローチを考えていた時に、私は PsbP に関して解明すべき点が意外に多い事を改めて感じた。というのは、PSII を研究している多くの研究者は、水分解反応のメカニズムそのものに興味があり、そのため全ての酸素発生型光合成生物に存在する PsbO タンパク質に関する研究が多く、高等植物や緑藻にのみ存在すると考えられていた PsbP はあまり研究されていなかったのである(図1)。私は生理的な観点から研究に入っていたので、むしろ PsbP が高等植物(緑藻)にしかないことが面白いと思った。そこで、博士課程ではこの分子に関してより詳細に

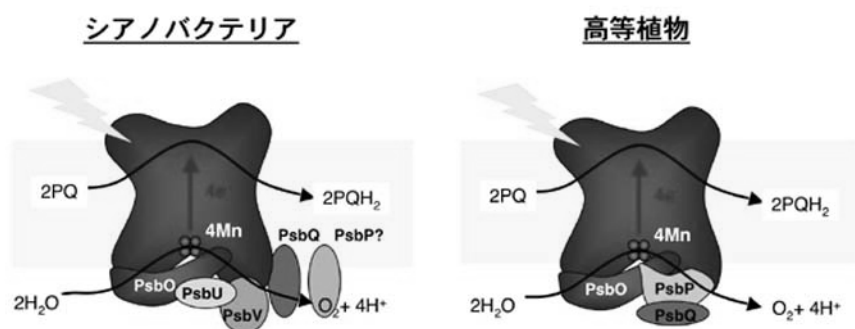


図1 シアノバクテリアと高等植物の光化学系II複合体の簡単な模式図による比較

水分解-酸素発生反応を直接触媒するのは4分子のマンガン原子(Mn)であるが、その周辺には酸素発生系とよばれる膜表在型のタンパク質が存在する。その構成タンパク質はシアノバクテリア (PsbO, PsbU, PsbV, (PsbP), PsbQ) と高等植物 (PsbO, PsbP, PsbQ) では異なっている。PsbP, Q に関しては、シアノバクテリアの光化学系 II にも PsbP, Q が存在するとの報告があるが、どこに結合しているかは明らかではない。(文献 10 より改変)

調べることにした。

まず、手持ちにあった様々な植物に由来する PsbP を利用して、それらの比較から PsbP の N-末端部分が Ca^{2+} と Cl^- の保持活性に重要であることを明らかにした^{4),5)}。さらにその構造解析をめざして結晶化を試み、なんとか構造決定にまで辿り着く事ができた^{6),7)}。この結晶化の成功は、色々な種類の PsbP を持っていたことが鍵となり、構造解析は理研播磨研究所の加藤博章先生と中津亨先生にお助け頂いた。この辺の素人の苦労話は別のところに書かせて頂いたので、これから結晶化をしてみようかな、とお考えの方には参考になるかもしれない⁸⁾。

PsbP の構造は、N 末端側の短い β ストランドで構成される構造 (ドメイン I) と、 β -シート構造の両側を α ヘリックスで挟んだ中央の構造 (ドメイン II) の 2 つのドメイン構造で構成されていた (図 2)。このうちドメイン I では、我々の研究において Ca^{2+} と Cl^- の保持に必須な残基であると判明している N 末端 15 残基が、結晶構造中で全く見えなかった。従ってこの PsbP の N 末端部分は、おそらく PSII と結合して初めてイオン保持に必要な構造をとると考えられた⁹⁾。

一方、分子表面の静電ポテンシャル解析によれば、ドメイン II には植物種間で保存されたアミノ酸残基からなる塩基性のパッチが存在し、その反対側の表面は逆に酸性に荷電していた。こうした特徴はシアノバクテリアの PsbV においても認められた。PsbP と PsbV の、各々の PSII における機能は共通する部分があるため、おそらく両者の PSII との相互作用には似ている部分があることが示唆された。しかし PsbP と似た構造を示すタンパク質は、報告されているシアノバクテリア PSII 結晶構造中には見当たらず、その中から PsbP が派生的に生じたとは考えにくかった。従って、近年、PsbP と弱い配列相同性を示すタンパク質がシアノバクテリアゲノムから見つかった¹⁰⁾のは、私にとって非常に納得がいく話であった。ただし、シアノバクテリアの PsbP ホモログは、PSII 反応に若干関与はしているが、高等植物の PsbP とはかなり性質や役割が異なっていることが遺伝子破壊株の解析結果から明らかとなった¹¹⁾。また、シアノバクテリアの“原核型 PsbP”により近いタンパク質が、高等植物にも PsbP とは別に存在し

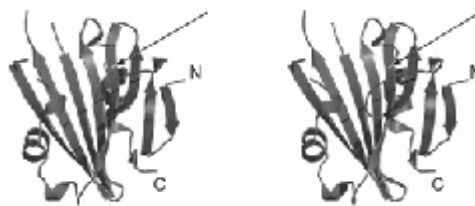


図 2 タバコ由来 PsbP タンパク質の結晶構造のステレオ図。PsbP の構造は N 末端側のドメインと C 末端側のドメインに分けられ、両者の間には矢印で示した位置にプロテアーゼで切断され易いサイトが存在する。

ていることもわかってきた。我々はこれら原核型 PsbP ホモログを“PsbP-like protein”として高等植物や緑藻の真核型 PsbP とは区別して呼んでいる。今後、そうした“PsbP-like protein”がどのように PSII 反応に関わっているのかを解明することが、PsbP の分子進化を考える上で重要であると考えられる。

一方で、新規なタンパク質構造を決定した際には、そのタンパク質と似た構造を示すタンパク質を検索することで、そのタンパク質の機能や類縁関係に関する情報が得られる場合がある。そこで我々も PsbP と似た構造を DALI データベース上で検索した。驚いた事に PsbP の立体構造は、特にドメイン II の部分において Ran-GTPase との結合タンパク質である Mog1p と似ている事が判明した。丁度その頃、高等植物の PSII においても、その反応で中心的な役割を果たす D1 タンパク質の分解-再合成過程に GTP が重要な役割を持つ事が報告され¹²⁾、しかも PSII において PsbP と直接相互作用していると考えられている PsbO タンパク質に GTP が結合し得る事が報告された¹³⁾。これは面白い事が判りそうだと喜んだが、構造が似ているだけで機能を断定するのは無理があり、この点に関しては未だ推測の域を出ていない。

我々が PsbP の構造解析を論文発表した頃 (といっても 1 年前であるが) は、PSII の構造解析が非常にホットであり (今も 0.1 Å 単位で競争されていて非常にホットである。)、シアノバクテリアの PSII 複合体¹⁴⁾⁻¹⁶⁾に加えて高等植物の PsbQ の立体構造解析¹⁷⁾が相次いで報告されていた。我々もなんとか滑り

込み、これでシアノバクテリアと高等植物の PSII を構成するサブユニットのうち、一部の低分子サブユニットを除いた代表的なサブユニットの立体構造情報が、大筋で明らかになったことになる。現在は、より完全な形でのシアノバクテリア PSII の精製と結晶化、及びその更なる分解能の向上、そして高等植物（緑藻）の PSII 立体構造解明が研究の焦点となっていると思われる。私が研究対象としている高等植物を材料にする場合、一つのサブユニットに対し複数のアイソフォームが存在している場合が多いことから、結晶化にはより単純な組成を持つ材料の発見、または人為的な作出が必要となるのではないかと考えている。

現在の私の仕事としては、構造解析の仕事をする一方で、PsbP の生理機能を明らかにすべく RNAi を用いた *psbP* 遺伝子発現抑制植物体の解析を進めている^{18), 19)}。その結果、PsbP の欠損は植物細胞に非常にダイナミックな変化をもたらすことが明らかとなってきた (Ifuku *et al.*, 投稿中)。今後さらなる解析を進め、最終的には PsbP の環境応答や環境適応における役割、ひいては高等植物が PsbP を利用し進化させた理由を総合的に理解できればと考えている。

最後に上記研究でお世話になった全ての人々と、拙い文章をここまで読んで下さった皆様、そして自由に研究する事を許してくれた寛大な上司に深く感謝致します。

- 1) Murata, N., and Miyao, M. (1985) *Trends Biochem. Sci.* **10**: 122-124.
- 2) Murota, K. *et al.* (1994) *Plant Cell Physiol.* **35**: 107-113.
- 3) Ifuku, K. *et al.* (2000) *Plant Physiol.* **122**: 619 (PGR00-31).
- 4) Ifuku, K., and Sato, F. (2001) *Biochim. Biophys. Acta*, **1546**: 196-204.
- 5) Ifuku, K., and Sato, F. (2002) *Plant Cell Physiol.* **43**: 1244-1249.
- 6) Ifuku, K. *et al.* (2003) *Acta Crystallogr.* **D59**: 1462-1463.
- 7) Ifuku, K. *et al.* (2004) *EMBO Rep.*, **5**: 362-367.
- 8) Ifuku, K. (2004) *SPring-8 Information* **9**: 269-274.
- 9) Ifuku, K. *et al.* (2005) *Photosynth. Res.* In press.
- 10) De Las Rivas, J. *et al.* (2004) *Trends in Plant Sci.* **9**: 18-25.
- 11) Thornton, L. E., *et al.* (2004) *Plant Cell* **16**: 2164-2175.
- 12) Spetea, C. *et al.* (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**: 6547-6552.
- 13) Spetea, C. *et al.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**: 1409-1414.
- 14) Zouni, A. *et al.* (2001) *Nature* **409**: 739-743.
- 15) Kamiya, N., and Shen, J-R. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **100**: 98-103.
- 16) Ferreira, K. N. *et al.* (2004) *Science* **303**: 1831-1838.
- 17) Calderone, V. *et al.* (2004) *EMBO Rep.*, **4**: 900-905.
- 18) 佐藤文彦、伊福健太郎 (2005) 化学と生物 **43**: 177-183.
- 19) 遠藤剛、伊福健太郎、佐藤文彦 (2005) 応用物理 **74**: 360-364.