

研究報告書

「光合成による高効率エネルギー変換と水の酸化機構の解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 22 年 10 月～平成 28 年 3 月

研究者: 杉浦 美羽

1. 研究のねらい

植物やシアノバクテリアなどの光合成生物では、光合成電子伝達系による太陽光エネルギーの化学エネルギーへの変換、および、それに伴う水の酸化反応が非常に効率的に行われている。例えば、我々を含む好気性生物の呼吸に必要な分子状酸素 (O_2) は、光合成電子伝達の最初の段階で同期して起こる「光化学系 II 複合体」による水の酸化反応によって作られているが、地球に無尽蔵に存在する水を基質として用い、年間 10^{11} トンもの酸素を副産物として放出し、我々が生命活動に使ってもなお現在 10^{15} トンもの酸素が地球に余っている事実を見れば、光合成による水の酸化効率の良さは明白である。

光合成では、水を酸化して得た電子をエネルギー変換に用いるため、この反応を担う光化学系 II では、殆どミスなしに 90% 以上の効率で水を酸化する。この分子メカニズムを明らかにすることは、学術的な価値のみならず、新エネルギー生産分野の改革においても非常に重要な課題である。しかし、光合成の水の酸化メカニズムには未だ不明な点が多い。

水の酸化で得た電子は、更に 10 段階以上に及ぶ電子伝達系において効率良く移動するが、電子伝達に関わるコファクターの酸化還元電位がどのように制御されているのか、例えば、コファクター周辺構造と電位の関係などについて不明な点が多い。また、光照射下で水を酸化して酸素を放出する光合成生物は、同時に活性酸素を作ってしまうため、過剰な光励起エネルギーを何らかの方法で消去しなければ、生命の存続を保つことができない。植物の光ストレスの防御機構は複数あると考えられており、それらのいくつかは既に明らかにされているが、酸素を発生する光化学系 II における防御機構については、提唱されている系はあるものの、その実態は明らかにされていない。

本研究では、単離精製した光化学系 II 複合体試料が無傷で、長期間熱安定性を示す特徴をもつ、好熱性シアノバクテリア由来の光化学系 II を材料にして、特に、水の酸化機構、コファクターと酸化還元電位との関係、過剰な光励起エネルギーの消去機構などに焦点をあてて、光化学系 II の構造と機能について、分子レベルで明らかにすることを目的とした。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究では、光合成の初発反応を担う「光化学系 II 複合体」の様々な機能について、分子構造との関係性の詳細を明らかにすることを試みた。

そのためには単離した光化学系 II を材料とし、機能に関連すると推測される部分の構造を人為的に換えた光化学系 II を詳細に調べるのが理想である。私はさきがけ研究の始まる 10 年前に、既に高温で生育する好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* 由来の光化学系 II の遺伝子組換え法を確立していた。本研究では、これを材料に選び、遺伝子組換えによって光化学系 II に部位特異的に変異を導入し、単離精製した光化学系 II 複合体試料を用いて綿密な機能解析を進めた。

研究テーマ A は光化学系 II による水の酸化反応機構を明らかにすることを目的として研究

に取り組んだ。その結果、水の酸化反応の過程で段階的に放出される H^+ の放出速度は、電子受容体 Tyr_z と D1/His190 の水素結合距離によって変化し、電子移動速度を律速すること、光化学系 II 最後のプラストキノン間の電子移動速度がトータルの水の酸化速度を律速することを明らかにした。

研究テーマ B は光化学系 II の電子伝達コファクターである Pheo_{D1}、Q_A、および、Q_B の酸化還元電位とその周辺構造との関係について調べた。Pheo_{D1} は 13' 位の C=O と水素結合するアミノ酸側鎖が、Q_B は近傍にある糖脂質周辺に位置するアミノ酸の性質によって酸化還元電位が異なることが分かった。Q_A は Q_B 周辺構造が変化することによって、構造的に影響を受け、その結果、Q_A の電位も変化することが分かった。これらの組換え体では、電子移動速度が変化し、その結果、光合成機能に影響をもたらしており、効率良い光合成機能を維持するために、コファクター周辺の微細な構造をコントロールして、酸化還元電位を保持していることが分かった。

研究テーマ C は強光などの光ストレス条件下で、光合成機能を維持するために、どのようにして余剰な励起エネルギーを消去しているのかを明らかにすることを目的として、副次的電子移動経路に絞って研究を行った。その結果、Cyt_{b559} が2つの電子移動の橋渡しをして光ストレス条件下でも正常な光合成機能ができるように機能しており、特に、ヘムリガンドアミノ酸が構造と機能の両面から重要であることが分かった。

研究テーマ D は光合成研究において、部位特異的変異体を用いた解析は変異によっては致死するために、変異体や精製試料を得られなくなる。これを解決するために、光合成によるエネルギー生産なしに、細胞外から取り込む糖を代謝して生育できる新しい組換え体と、新たな光合成研究に適した組換え系を確立した。

(2) 詳細

研究テーマ A 「水の酸化機構の解明」

D1 タンパク質は光化学系 II (PSII) を構成するタンパク質サブユニットで、電子伝達コファクターおよび Mn クラスターを結合する。水の酸化機構を理解するには、触媒部位の反応機能だけでなく、反応過程で生じる電子と H^+ の移動速度制御の両面から理解する必要がある。いずれもコファクター分子の周辺構造による酸化還元電位の制御が鍵になっているはずであるが、344 アミノ酸から成る D1 タンパク質のうち、どれが鍵になっているのかを推測し、片っ端から組換え体を作製して調べるのは気の遠くなるアプローチである。ところが、*T. elongatus* は 3 つの D1 遺伝子を持ち、環境に応じて部分構造の異なる D1 を作る。それぞれの D1 はコファクター近傍に部分構造が大きく異なっている部位がある。本研究ではこれらを手がかりに研究を進めるために、まず、それぞれの D1 でのみ PSII を作るように他の D1 遺伝子を破壊した 3 つの *T. elongatus* 組換え体を作製し、単離した PSII (PsbA1-PSII、PsbA2-PSII、PsbA3-PSII) の水の酸化機能の違いを詳細に調べた。

その結果、PsbA2-PSII は PsbA1-PSII の 70%、PsbA3-PSII の 40%の酸化活性しかもって
おらず、PsbA3-PSII は PsbA1-PSII の 170%、
PsbA2-PSII の 250%の高い活性を示した。更
に、酸化側については水の酸化中間体の遷移
キネティクス、水の酸化キネティクス、Tyr_Z から
P₆₈₀ への電子移動速度などについて、還元側
については Q_A から Q_B への電子移動速度、更
に Pheo、Q_A および Q_B の酸化還元電位など
について詳細に解析した。活性の最も低かった
PsbA2-PSII では、4 つの水の酸化過程(図 1)にお

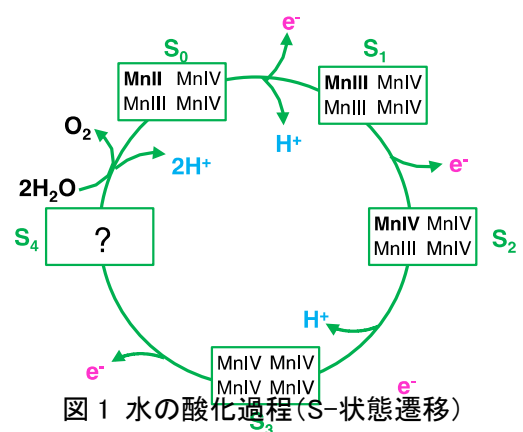


図 1 水の酸化過程(S-状態遷移)

いて、H⁺の移動を伴うS遷移過程であるS₂→S₃、S₃→S₀、S₀→S₁の遷移速度が遅くなっていた
が、S₁→S₂は他のPSIIと同じであった[5.11, 5.3 参照]。PsbA1-PSIIの立体構造を元にしたアミ
ノ酸配列の比較から、この原因がMnクラスターから電子を受け取るTyr_Zとそれと水素結合す
るD1/His190の位置関係の違いにあるのではないかと考えた。これらのアミノ酸は別のαヘ
リックスにあるが、これらをストロマ側で繋ぐループが曲がる173番目のアミノ酸がPsbA1と
PsbA3ではループを曲げやすいProになっているが、PsbA2では直鎖になるMetになっている
(図2)。そこで、PsbA3およびPsbA2のこれらのアミノ酸のみを置換した部位特異的変異体
PsbA3/Pro173Met および PsbA2/Met173Pro を作製し、酸化側を徹底的に調べた。その結
果、PsbA3変異体ではPsbA2-PSIIと同様にH⁺放出を伴うS状態遷移速度が遅くなり、また、
その遷移に伴ってTyr_ZからP₆₈₀⁺への電子移動速度が遅くなっていた。PsbA2変異体では、
PsbA3-PSIIと同様のS状態遷移キネティクスを示し、P₆₈₀への電子移動速度を示した。これら
の構造を調べたところ、Tyr_Zの配向が変わり、水素結合距離が長くなっていたことが分かっ
た。本研究より、水の酸化反応のS状態遷移において、H⁺移動が電子移動を律速しているプ
ロトン共役電子移動(PCET)であり、これは電子受容体であるTyr_Zとそれと水素結合する
D1/His190の距離が速度を律速していることが明らかになった(図3)[5.1, 5.2, 5.5 参照]。

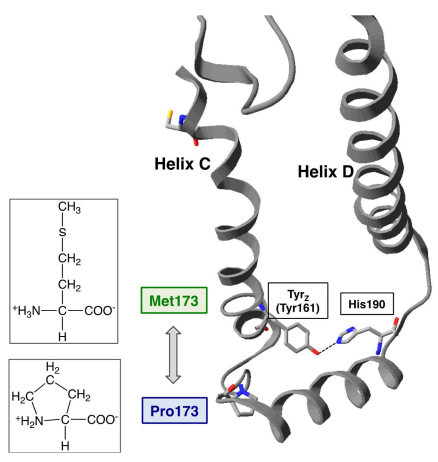


図 2 PsbA3 と PsbA の Tyr_Z-His190 周辺
の異なるアミノ酸

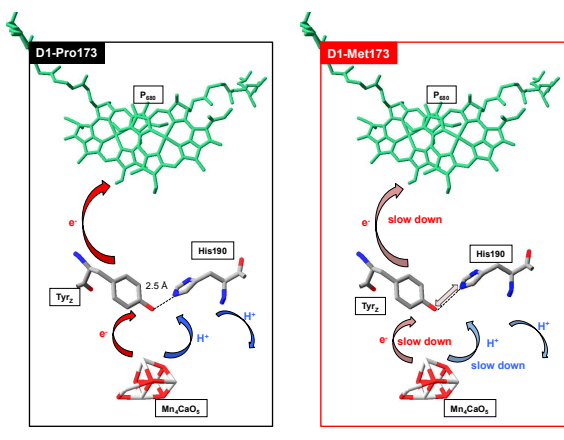


図 3 PsbA3-PS II と PsbA2-PS II の
Tyr_Z-His190 水素結合の変化による電子移
動への影響

研究テーマ B 「光化学系 II 電子伝達コファクターの構造と酸化還元電位との関連」

研究テーマ A で明らかになったように、高い水の酸化活性を示した PsbA3-PSII は、酸化側は PsbA1-PSII と大きな違いは無かったが、還元側の Pheo から Q_B 、とりわけ、 Q_A から Q_B への電子移動速度が速くなっていることが分かった。この原因を調べたところ、PsbA3-PSII の Pheo、 Q_A 、および、 Q_B の酸化還元電位が PsbA1-PSII のそれらよりも高くなっていることに由来することが分かった。 Q_B は 2 電子還元されるため、 Q_A から Q_B への電子移動速度は遅く、水の酸化過程の $S_3 \rightarrow S_0$ と同程度である。従って、水の酸化触媒中心の反応速度のみならず、 $Q_A \rightarrow Q_B$ への電子移動が遅くなると水の酸化速度は遅くなる。PsbA3-PSII ではこの移動速度が速くなったために水の酸化速度が速くなったと考えられる。酸化還元電位を図 4 にまとめた。立体構造を元にしたアミノ酸配列の比較から、Pheo は 13' 位の C=O と水素結合する D1-130 番目のアミノ酸側鎖の違いによって電位が変わったのではないかと仮説をたてた。

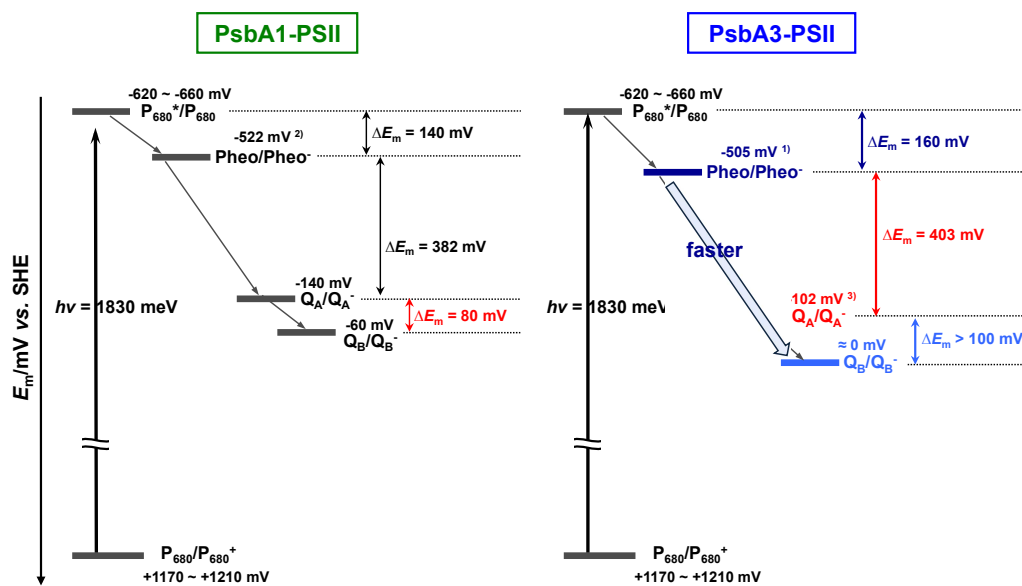


図 4 PsbA1-PS II と PsbA3-PS II の電子伝達コファクターの酸化還元電位の比較と電位差。

そこで、まず Pheo の電位の制御について調べるために、PsbA3-PSII の D1/Glu130 を PsbA1-PSII と同様に Gln に置換した部位特異的変異体(PsbA3/E130Q)を作製して調べたところ、変異体 PSII の電位は PsbA1-PSII と同様の値を示した[5.11, 5.6, 5.8 参照]。一方、 Q_B 周辺構造を比較すると、 Q_B 近傍に位置する D1/212、 Q_B と糖脂質スルホキノボシルジアシルグリセロール(SQDG)との間に位置する D1/270 のアミノ酸が異なっている。SQDG は、揺らぎの大きな Q_B ポケットのコンフォメーション維持に重要な役割を担っていると考えられ、特に D1/270 と SQDG との水素結合数は構造の安定化、つまり、 Q_B の電位維持に重要であると推測できる

[5.4, 5.6 参照]。Q_A 周辺の構造はどの P_{sbA} でできた PSII も同じであるが、図 3 に示すように、P_{sbA1}-PSII と P_{sbA3}-PSII では異なっていた。これは、Q_A が Q_B から水素結合ネットワークでつながっているために、Q_B 周辺のコンフォメーション変化が Q_A 周辺のコンフォメーション変化を引き起こしたと考えられる[5.9, 5.10 参照]。これらを確認するために、それぞれの P_{sbA} の D1/212 および D1/270 を置換した組換え体を作製した。現在、解析途中であるが、少なくとも Q_B に結合するフェノール型除草剤 Bromoxynil による阻害定数は、P_{sbA1}/S270A 組換え PSII は P_{sbA3}(A270)-PSII と同じ、P_{sbA3}/A270S-PSII は P_{sbA1} (S270)-PSII と同じであった。今後、詳細な解析を進めて結論づけたい。

研究テーマ C 「光環境変化に適応する光化学系 II の構造と機能」

光合成生物は強光や UV などの、光合成では使い切れない励起エネルギーが生じる光ストレス環境条件下に曝されることが多くあり、このような環境では、反応性の高い活性酸素種による失活(光阻害)を受ける。そのため、光合成生物は光阻害を回避する防御機構をいくつか備えている。本研究では、エネルギー変換のための「メインの電子伝達経路」と、PSII の別のコファクター間を電子移動させて余剰な励起エネルギーを消費すると提唱されている「副次的電子移動経路」の両面から、光阻害環境への適応メカニズムについて、PSII の構造と機能の観点から詳細に調べた。

メインの電子伝達経路については、P_{sbA3}-PSII が強光条件下でも高い水の酸化機能を保持できるが、P_{sbA1}-PSII は 1 時間以内に Mn が還元されて失活し、続いてタンパク質が分解されることを見いだしたので、これらを材料にして調べた。強光耐性の PSII では、そうでない PSII の P_{heo_{D1}} の酸化還元電位が約 20 mV 高く、また、Q_A および Q_B の電位もそれぞれ約 40 mV、約 60 mV 高かった。そのため、P₆₈₀ とのギブスエネルギー差が大きく、³P₆₈₀ の生成を抑えるために、一重項酸素が作られず、強光耐性になっていることが示唆された[5.11, 5.12 参照]。このように、メインの電子移動においては、コファクターの酸化還元電位の微調整によって光阻害の原因となる ³P₆₈₀ の生成を抑えることによって防御していると考えられる。

一方、副次的電子移動については、この経路を解明することを最終目的とし、本研究では、まず、PSII 複合体の外側に位置する Cyt_{b₅₅₉} の構造と光阻害の関係について詳細に調べた。通常の電子伝達では、P_{heo_{D1}} から Q_A を介して Q_B に渡された電子は光化学系 II の外にあるキノンプールに移動するが、副次的電子移動では Q_B から Cyt_{b₅₅₉} に渡され、クロロフィルやカロテノイドなどを介して P₆₈₀ に電子を移動することが提唱されている。しかし、電子移動に関わるコファクターは特定されておらず、また移動ルートについても明らかになっていない。Cyt_{b₅₅₉} はヘムと 2 つのサブユニットタンパク質(P_{sbE} と P_{sbF})から構成される酸化還元可能なヘムタンパク質で、メインの電子伝達系と副次的電子伝達系を結ぶ重要な電子伝達コファクターであると考えられる。本研究では、Cyt_{b₅₅₉} の構造変化がもたらす光阻害への影響を調べることを目的として、ヘムの第 5 配位座に配位する P_{sbE}/His23、および、その周辺アミノ酸を別のアミノ酸に置換した組換え体 4 つを作製して詳細な構造と機能について調べた。その結果、リガンドを置換した組換え体は、強光条件において光合成機能の阻害が大きく、タンパク質合成は正常に行われ、光化学系 II の組成に影響は無いものの、光化学系 II の集合過程が遅くなることが明らかになった。構造を調べてところ、Cyt_{b₅₅₉} のヘムが非ヘム鉄に変わっており、Cyt_{b₅₅₉} が酸化還元できなくなっていることが分かった(表 1, 図 5)。以上の結果から、Cyt_{b₅₅₉} は光阻

害回避メカニズムに関わる重要なコファクターであることが明らかとなった。更に、リガンド周辺のアミノ酸を置換してヘリックスを曲げて立体構造を変えた組換え Cytb₅₅₉ は、HP 型から IP 型に変わった。強光阻害に関しては、野生型と大きな違いは認められなかったものの、ストレス条件から通常の条件に戻してからの回復が遅くなっていた。このことから、強光阻害回避には IP の Cytb₅₅₉ で対応できるが、構造変化が起こるために立体障害が起こる可能性が示唆された[5.15 参照]。

表 1 野生型と Cytb559 の P_{sbE} 変異体の酸化還元活性及び酸化還元電位

変異体	コファクター	酸化還元活性	ポテンシャル型 (E_m)
WT*3	ヘム鉄	有り	HP (~ +330 mV)
H19F	ヘム鉄	有り	HP (~ +330 mV)
T26P	ヘム鉄	有り	IP (~ +220 mV)
H23A	非ヘム鉄	無し	-
H23M	非ヘム鉄	無し	-

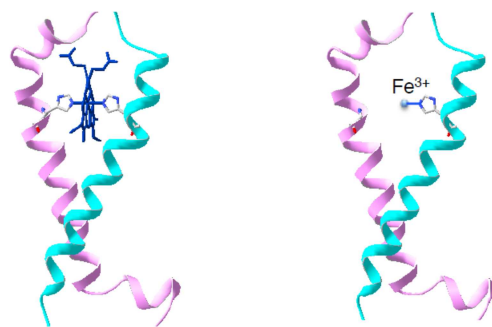


図 5 野生型(左)と P_{sbE}/H23A および H23M(右)のヘム周辺の構造。

研究テーマ D 「光従属栄養で生育可能な *T. elongatus* 遺伝子組換え体による新規組換え系の確立」

これまで、光化学系 II の構造と機能の関係を調べるアプローチとして、*T. elongatus* の光化学系 II のタンパク質に部位特異的に構造変化を施した組換え体を作製し、それから単離・精製した光化学系 II 複合体タンパク質を詳細に解析する戦略を使ってきた。*T. elongatus* から単離した光化学系 II は他の生物では見られないほど、熱安定性が高く、精製試料も無傷(完全な複合体)であるため、光合成研究に *T. elongatus* を使うことは非常に有利である。

しかし、*T. elongatus* は生命活動に必要なエネルギーを、光合成電子伝達系のみによって得ているため、エネルギー合成ができなくなるほど光合成機能を著しく低下させる変異を導入すると、遺伝子を細胞内に導入することはできても、「組換え細胞」を得ることができない。そうすると、その変異が光合成機能の保持に非常に重要である、ということは推測できるものの、「どのように機能が変化したのか」は永遠に謎である。これは、以前から抱えてきた深刻な問

題であり、作製可能な組換え体の種類が制限されるために、光合成機能の本質の理解を妨げてきた。

ところで、光合成を行わない微生物や、一部の光合成生物は、細胞の外からグルコースや酢酸などの炭素源を取り込み、解糖系などの代謝系によって糖を ATP に変換する。*T. elongatus* のゲノムには解糖系に関わる酵素遺伝子は全て揃っているものの、細胞外から糖を取り込む機能が無いために、光合成以外の代謝系で生命活動に必要なエネルギーを得ることができない。

そこで、本研究では *T. elongatus* に糖を取り込む機能を付与した組換え体の構築を試み、更に、*T. elongatus* の光化学系 II の D1 遺伝子(3 つの *psbA* 遺伝子)を完全に破壊し、組換え体の光化学系 II がどのような形で存在するのか、光化学系 I への影響はどうかを調べた。その結果、D1 遺伝子を完全に破壊した組換え体は、糖を含まない培地では生育出来なかったが、糖含有培地で増殖が認められた。光化学系 II による水の酸化機能は認められず、また、 Tyr_D や Q_A 由来のシグナルも全く認められず、この組換え体では光合成の機能が失われていることが分かった。更に、光化学系 II を構成するタンパク質について調べたところ、遺伝子破壊した D1 タンパク質は認められなかったが、少なくともクロロフィルタンパク質である CP47、もう一方の反応中心タンパク質 D2 はチラコイド膜に存在していた。光化学系 I は野生型と同様に存在していた。

光合成研究の発展のためには、この組換え体を宿主細胞に用いて変異を施した D1 遺伝子を入れ、完全な光化学系 II 複合体を作らせなければならない。そのため、D1 遺伝子、および、これまでの研究で致死になることが分かっている変異を施した D1 遺伝子をそれぞれ導入し、組換え体を得た。その結果、光化学系 II 複合体を形成していることが分かった。

今後、この組換え系を用いれば、自由自在に組換え体の作製を試みることによって、これまでではどうしてもできなかった研究を進めることが可能になると期待でき、光合成研究の今後の発展に寄与できると大いに期待できる。

3. 今後の展開

5 年間に渡る本研究によって、光合成による水の酸化機構、光化学系 II の電子伝達制御メカニズム、光阻害防御メカニズムなどについて、構造の観点から多くのことが明らかすることができた。水の酸化については、Mn の酸化過程やキネティクス、 H^+ 放出速度による電子移動の制御について分かってきたものの、依然として、 $S_3 \rightarrow S_0$ における基質の水の結合と酸化過程について不明である。更に、S 状態遷移に伴って酸化される Mn がどの原子であるのかについても不明である。今後、水の酸化過程を完全に明らかにし、また、各 S 状態で酸化される Mn 原子を特定することにより、光合成の水の酸化機構を完全に理解したい。また、この過程を明らかにすると共に、水の酸化速度の鍵となる H^+ のチラコイドルーメンへの放出チャネルについても明らかにしていきたい。

また、光阻害防御に重要な役割を担う「副次的電子移動経路」については、本研究では $Cytb_{559}$ がこれに関わるコファクターであり、その酸化還元電位の変化によって光阻害防御に影響することを明らかにしたが、この電子受容体がどの分子であるのか、副次的電子移動のコファクター分子は何であるのかは、依然として不明である。既に、これらのコファクターであると

考えられる分子の電位を換えた組換え体を作製しており、今後はこれらを詳細に調べることに
よって、副次的電子移動の全貌を明らかにして行きたい。

これまでは、これらの課題を遂行するには、組換え体作製の上で、技術的な問題があった。
研究材料として組換え体の作製を試みても、光合成機能が著しく低下するために(特に水の酸
化に関する組換え体)致死となり、材料を得ることができなかった。しかし本研究で、光合成しな
くても別の経路でエネルギー変換できる好熱性シアノバクテリアの作製と新しい組換え系の方
法を確立できたので、今後はこれを活用して研究を展開して行きたい。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

5 年間に渡る本さがけ研究では、申請時に予定していた水の酸化に関する研究、D1 タン
パク質の構造の酸化還元電位の関連などについて、課題の殆どを遂行することができた。こ
れらに加えて、研究の過程で得られた新しい結果を基に、次々に浮かぶアイデアや次の疑問
を片一端から形にし、水の酸化過程における PCET の制御、プラストキノン Q_B の結合様式の違
いによる Q_A の酸化還元電位への影響、水の酸化における $Q_A \rightarrow Q_B$ の電子移動の律速、
Cyt b_{559} の酸化還元電位の変化による光阻害防御への影響などの成果につなげることができ
た。更に、これまで 10 年近くかけて取り組んできた「光合成によるエネルギー変換なしに生育
可能な好熱性シアノバクテリアの構築と新しい遺伝子組換え系の確立」をようやく成功するこ
うすることができた。これは技術的向上がベースにあるのはもちろんであるが、光合成の基礎研究を
通じて数多くの組換え体を作製する必要があり、これらの過程で新たな技術を開発した経験
の積み重ねであることが大きい。

実に、この 5 年間で作製した好熱性シアノバクテリアの組換え体は 41 で、通常、1 つの組換
え体の作製に要する時間が半年~1 年であることを考えると、数多くの実験を同時並行させ、
精力的に取り組んできたことが今更ながら実感できる。組換え体の作製のみならず、タンパク
質の精製、様々な分析機器を使った解析、分析機器の改造など、精力的に研究を進め、28 報
の査読付の国際誌(このうちの 18 報はインパクトファクターが 4.5 以上)に報告し、合計 13 回
の国内外の学会での招待講演を依頼されるに至った。

これだけの規模で研究を進めるためには大きな研究費が必要であったが、遂行できるだけ
の予算を、さがけ研究で十分にサポートしていただけたことに対して深く感謝したい。また、
本研究は、単独の研究ではできることが限られており、光合成研究に特化した特別な分析装
置を保有し、異なる分野の専門家である国内外の共同研究者の協力があって遂行できたこと、
そのための旅費もさがけにサポートして頂けたことに感謝したい。また、本さがけ研究領
域は、有機化学や無機化学を専門とする研究者が多いため、日頃は頂けないような、全く違う
観点からの質問やアドバイスを頂く機会が多く、これらは私自身を成長させ、光合成を広い視
野で考えることができるようになり、大変貴重な経験になった。本研究で成果が得られるたびに、
精練され計算されつくした自然の化学反応のメカニズムに驚くばかりであった。成果が、今後
の光合成研究のみならず、人工光合成研究に寄与できれば幸いである。

最後に、本研究で特に S 状態遷移キネティクスと P_{680} のエナジェティクスで共同研究を進め
てきたフランス国立科学研究センターの Fabrice Rappaport 博士が、さがけ研究終了

の直前に 49 歳の若さで他界したことに対して心から追悼し、これまでの共同研究と成果に深い感謝を表したい。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

杉浦美羽博士は主に光合成の初発反応を担うタンパク質である光化学系Ⅱ(PSⅡ)に関するそれまでの顕著な研究業績を基礎に、酸素発生中心Mn₄CaO₅、におけるKok cycle の解明、光ストレスの防御作用の解明などについて遺伝子組み換え、分子生物学手法を駆使する意欲的な研究提案により採択された。杉浦博士は好熱性藍藻類、*Themosynechococcus elongatus*(*T. elongatus*)を用いたPSⅡ研究のパイオニアであることから採択時から迅速な研究展開が期待されたが、これまでの研究推進状況を見る限り当初の予測以上の瞠目すべき研究展開を行っていると高く評価できる。なかでもPSⅡを構成するサブユニットであるD1、D2タンパク質の高次構造、空間配置に独創的な視点での着眼に基づき *T. elongatus* の遺伝子改変による徹底した分子論的手法と、分子スペクトルを駆使した実証的な研究姿勢は特筆すべきものでありPSⅡ機能解明の本質に迫りつつあると言える。独壇場とも言える *T. elongatus* の遺伝子改変は国際的にも高く評価されており今後の一層の研究展開が期待される。さきがけ研究期間前半の精力的な研究活動を基礎に、後半は好熱性シアノバクテリアの多数の遺伝子組み換え体を驚異的なスピードで作製し、PSⅡ機能の鍵となる因子を次々に明らかにしている。それらの成果を基礎に国際共同研究も極めて活発に展開しており今後の研究成果が大いに期待できる。更には、光合成によるエネルギー生産なしに、細胞外から糖を取り込み、代謝して生育できる新しい組換え体の作成に挑戦し、遺伝子の細胞への導入にとどまらず、それまで困難であったPSⅡの変異体を得ることのできる手法の開発に成功したことは、次のブレークスルーにつながるものと期待される。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

研究テーマ A 「水の酸化機構の解明」	
1. Sugiura, M., Ogami, S., Kusumi, M., Un, S., Rappaport, F., and Boussac, A. Environment of Tyr _Z in Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> in which PsbA2 is the D1 protein, <i>J. Biol. Chem.</i> , (2012) 287, 13336-13347. IF=4.57	
2. Noguchi, T., Suzuki, H., Tsuno, M., Sugiura, M., and Kato, C., Time-resolved infrared detection of the proton and protein dynamics during photosynthetic oxygen evolution, <i>Biochemistry</i> , (2012) 51, 3205-3214. IF=3.02	
3. Boussac, A., Fabrice, Klaus, B., and Sugiura, M., Charge recombinations in the light-induced S _n Tyr _Z [•] Q _A ^{-•} radical pairs at cryogenic temperatures in the D1 protein variants of Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> .. <i>J. Phys. Chem.</i> , (2013) 117, 3308-3314. IF=3.30	
4. Cox, N., Rapatskiy, L., Su, J.-H., Pantazis, D. A., Sugiura, M., Leonid, K., Dorlet, P., Rutherford, A.W., Neese, F., Boussac, A., Lubitz, L., and Messinger, J., The effect of Ca ²⁺ /Sr ²⁺ substitution on the electronic structure of the oxygen-evolving complex of photosystem II: A combined multi-frequency EPR, ⁵⁵ Mn-ENDOR and DFT study of the S ₂ state, <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , (2011) 133, 3635-3648. IF=12.11	
5. Suzuki, H., Sugiura, M., and Noguchi, T., Determination of the miss probabilities of individual S-state transitions during photosynthetic water oxidation by monitoring electron flow in photosystem II using FTIR spectroscopy, <i>Biochemistry</i> , (2012) 51, 6776-6785. IF=3.02	
研究テーマ B 「光化学系 II 電子伝達コファクターの構造と酸化還元電位との関連」	
6. Sugiura, M., Azami, C., Koyama, K., Rutherford, A. W., Rappaport, F., and Boussac, A., Modification of the pheophytin redox potential in <i>Thermosynechococcus elongatus</i> Photosystem II with PsbA3 as D1., <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , 1837 (2014) 139-148. IF=5.35	
7. Sugiura, M., Iwai, E., Hayashi, H. and Boussac, A., Differences in the interactions between the subunits of Photosystem II dependant on D1 protein variants in the thermophilic cyanobacterium <i>Thermosynechococcus elongatus</i> , <i>J. Biol. Chem.</i> , (2010) 285, 30008-30018. IF=4.57	
8. Hughes, J.L, Nichola, C., Rutherford, A.W., Krausz, E., Lai, T.-L., Boussac, A. and Sugiura, M., D1 protein variants in Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> studied by low temperature optical spectroscopy, <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2010) 1797, 11-19. IF=5.35	
9. Boussac, A., Sugiura, M. and Rappaprt, F., Probing the quinone binding site of Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> containing either PsbA1 or PsbA3 as the D1 protein through the binding characteristics of herbicides, <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2011) 1807, 119-129. IF=5.35	
10. Kato, Y., Shibamoto, T., Yamamoto, S., Watanabe, T., Ishida, N., Sugiura, M., Rappaport, F., and Boussac, A., Influence of the PsbA1/PsbA3, Ca ²⁺ /Sr ²⁺ and Cl ⁻ /Br ⁻ exchanges on the redox potential of the primary quinone Q _A in Photosystem II as revealed by spectroelectrochemistry, <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2012) 1817, 1998-2004. IF=5.35	

研究テーマ C 「光環境変化に適応する光化学系 II 反応中心の構造」

- | |
|--|
| 11. Ogami, S., Boussac, A., and Sugiura, M., Deactivation processes in PsbA1-Photosystem II and PsbA3-Photosystem II under photoinhibitory conditions in the cyanobacterium <i>Thermosynechococcus elongatus</i> , <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2012) 1817, 1322-1330. IF=5.35 |
| 12. Sugirua, M., Kato, Y., Takahashi, R., Suzuki, H., Watanabe, T., Noguchi, T., Rappaprot, F. and Boussac, A., Energetics in Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> with a D1 protein encoded by either the <i>psbA₁</i> or <i>psbA₃</i> gene, <i>Biochim. Biophys. Acta, (Bioenergetics)</i> , (2010) 1797, 1491-1499. IF=5.35 |
| 13. Boussac, A., Koyama, K., and Sugiura, M., The TII0287 protein is a hemoprotein associated with the PsbA2-Photosystem II complex in <i>Thermosynechococcus elongatus</i> . <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2013) 1827, 1174-1182. IF=5.35 |
| 14. Sugiura, M., Harada, S., Manabe, T., Hayashi, H., Kashino, Y. and Boussac, A., , Psb30 contributes to structurally stabilise the Photosystem II complex in the thermophilic cyanobacterium <i>Thermosynechococcus elongatus</i> , <i>Biochim. Biophys. Acta, (Bioenergetics)</i> , (2010) 1797, 1546-1554. IF=5.35 |
| 15. Sugiura, M., Nakamura, M., Koyama, K., and Boussac, A. Assembly of oxygen-evolving Photosystem II efficiently occurs with the apo-Cytb ₅₅₉ alone but the holo-Cytb ₅₅₉ increases the recovery rate of a functional enzyme upon photo-inhibition. <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2015) 1847, 276-285. IF=5.35 |

(2)特許出願

研究期間累積件数:0

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な国際会議等での招待講演

- | |
|--|
| 1. Miwa Sugiura "Comparison of <i>Thermosynechococcus elongatus</i> PSII composed of different D1", International Conference of "Photosynthesis Research for Sustainability", Baku, Azerbaijan (July, 24-30, 2011) 招待講演(プレナリーレクチャー) |
| 2. Miwa Sugiura, Fabrice Rappaport, Yuki Kato, Takumi Noguchi, and Alain Boussac, "Molecular structure and function of <i>Thermosynechococcus elongatus</i> Photosystem II composed of either D1:1 or D1:3", The 15th International Congress of Photosynthesis (August 22-27, 2010, Beijing, China) 招待講演(シンポジウム) |
| 3. Miwa Sugiura "Recent progress in Photosystem II research using mutagenesis of <i>Thermosynechococcus elongatus</i> ", Japanese-Finnish Seminar 2011 Future prospects of photosynthetic organisms: from genomes to environment (March 1-5, 2011, Okayama) 招待講演(シンポジウム) |
| 4. Miwa Sugiura "Overview of structure and function of PSII" 10th International Plat Molecular Biology Congress (October 21-26, 2012, Jeju, Korea) 招待講演(シンポジウム) |
| 5. Miwa Sugiura "Photosystem II complexes composed of different D1 variants", 6th International Symposium on Nanomedicine (November 29-December 1, 2012, Matsue) 招待講演(シンポジウム) |
| 6. Miwa Sugiura "Molecular structures relating regulation of electron transfer in Photosystem II", International Conference of "Photosynthesis Research for Sustainability-2013", Baku, Azerbaijan (June, 5-9, 2013) 招待講演(シンポジウム) |

7. Miwa Sugiura, Shogo Ogami, Mai Kusumi, Sun Un, Fabrice Rappaport, and Alain Bousac "Environment of TyrZ in Photosystem II from Thermosynechococcus elongatus in which PsbA2 Is the D1 Protein", The 16th International Congress of Photosynthesis (August 11-16, 2013, St. Louis, U.S.A.) 招待講演(セッション)
8. Miwa Sugiura "Efficient Photosynthetic Electron Transfer and Water Oxidation in Photosystem II", 7th International Symposium on Nanomedicine (November 7-9, 2013, Kitakyushu) 招待講演 (シンポジウム)
9. Miwa Sugiura " Histidine Hydroxyl Modification on D2-His336 in Photosystem II of Thermosynechococcus vulcanus and Thermosynechococcus elongatus.", International Meeting "Photosynthesis Research for Sustainability – 2014" (2-7, June, 2014, Puschino, Russia) 招待講演 (シンポジウム)
10. Miwa Sugiura " The D1-173 amino acid plays a key role in the structure-function relationship of TyrZ and D1-His190 in Photosystem II I", 8th International Symposium on Nanomedicine (December 4-6, 2014, Matsuyama) 招待講演 (シンポジウム)
11. Miwa Sugiura " Engineered Themosynechococcus elongatus mutant growing under photoheterotrophic conditions", Gordon Research Conference: Photosynthesis: The Dynamics and Regulation of Photosynthesis: From the Origin of Biocatalysis to Innovative Solar Conversion (28 June - 3 July, 2015, Boston, U.S.A.) 招待講演

主要な国内の学会等での招待講演

- | |
|--|
| 1. 杉浦美羽 "光化学系 II 複合体タンパク質の分子構造と機能の関係", 2010 年 ナノ学会第 8 回大会 未来を拓くナノサイエンス:理学、工学、医学への広がり (2010 年 5 月 13 日～15 日、岡崎コンファレンスセンター) 招待講演 |
| 2. 杉浦美羽 "部分構造の異なる反応中心タンパク質 D1 で構成される光化学系 II のエナジェティクスの違い" 大阪大学蛋白質研究所セミナー「分子科学と生理学が解き明かす植物の光エネルギー変換の新展開」(2011 年 3 月 9 日～10 日、大阪大学蛋白質研究所) 招待講演 |
| 3. 杉浦美羽"光合成の高効率エネルギー変換機構と新エネルギー創製への応用", 日本学術振興会 産学協力研究委員会・分子系の複合電子機能第 181 委員会・第 11 回研究会「人工光合成一分子・生体系」(2011 年 7 月 14 日-15 日、東京工業大学)招待講演 |
| 4. 杉浦美羽"光合成研究の最前線と課題"第50回 日本生物物理学会年会 シンポジウム「光合成研究で何が明らかにされ、これから何をできるか? ～光合成研究の最先端とエネルギー創製研究の現状～ (2011年9月16日～18日、兵庫県立大学) 招待講演 |
| 5. 杉浦美羽 "光化学系 II の電子伝達制御に関わる構造環境", 第 85 回日本生化学会大会 シンポジウム「精密構造に基づく生体光エネルギー変換の分子機構」(2012 年 12 月 14 日-16 日、福岡国際会議場) 招待講演 |
| 6. 杉浦美羽 "光化学系 II の電子伝達制御機構" 第 54 回日本植物生理学会年会 シンポジウム「光化学系 II による水分解・酸素発生反応の分子機作」(2013 年 3 月 21 日-23 日、岡山大学)招待講演 |
| 7. 杉浦美羽 "光合成による高効率エネルギー変換機構と光合成太陽電池の開発", 日本電熱学会 第 26 回中四国電熱セミナー(2014 年 9 月 12 日、子規記念博物館愛媛) 招待講演 |
| 8. 杉浦美羽 "光化学系 II の電子伝達とプロトン移動の制御に関わる構造環境" 日本生体エネルギー研究会 第 40 回討論会 シンポジウム「バイオエナジェティクスと産業利用」(2014 年 12 月 11 日～13 日、愛媛大学) 招待講演 |
| 9. 杉浦美羽 "光合成の初発反応を担う光化学系 II の分子構造と機能", 第 95 回日本化学 |

会春期年会 特別企画「バイオ超分子が拓く驚異の物質科学」(2015年3月26日、日本大学)招待講演

10. 杉浦美羽 “好熱性シアノバクテリアを駆使した光合成による水の酸化と電子移動の分子機構についての研究” 第28回日本 Archaea 研究会年会(2015年7月23日～24日、愛媛大学)招待講演

11. 杉浦美羽 “光合成のエネルギー変換と物質変換: 光合成の理解と応用研究はどこまで進んだか?”, マリンバイオテクノロジー学会 「若手の会シンポジウム」(2015年11月20日、東京大学)招待講演

著作物

1. 杉浦 美羽 「酸素発生型光合成タンパク質の構造と機能」 月刊「Bio Industry」 特集 “光合成—エネルギー生産に向けた基礎研究”(シーエムシー出版)、(2013) 30 巻 12 月号 31-39

2. 杉浦 美羽 「第5章 酸素発生型光合成タンパク質の構造と機能」 光合成のエネルギー利用と環境応用(シーエムシー出版)、(2014) pp. 43-52

3. 杉浦 美羽 「光合成による高効率エネルギー変換と水の酸化機構の解明」 化学経済(2011), 58(12)pp.92

4. 杉浦 美羽 光合成研究と産業応用最前線 第5章 酸化還元反応 第2節 光合成による高効率エネルギー変換と水の酸化メカニズム、エヌティーエス(2014) pp.167-176

5. 杉浦 美羽 光合成のエネルギー変換と物質変換 ～人工光合成をめざして 光合成研究を支える研究手法「部位特異的変異導入による光化学系の分子構造と機能の解析」、化学同人(2015) pp. 35

報道、取材など

1. 愛媛新聞 総合欄 2011年9月10日 「光合成しくみ解明に道」

2. JST ニュース ～先駆ける科学人～ Vol. 12 2013年4月1日 「趣味も遊びもすべて研究につながる」

3. 愛媛県 県庁ホームページ 「えひめ男女共同参画のためのロールモデル」 2013年1月15日～

受賞

1. 第16回(2011年度) 日本女性科学者の会「奨励賞」

受賞タイトル: 水の酸化を伴った光合成によるエネルギー変換機構と分子構造に関する研究

2. 国際ソロプチミスト日本財団西日本リージョン松山 女性研究者「クラブ賞」

受賞タイトル: 光合成のエネルギー変換機能を改良した高効率な新規光合成太陽電池の開発 2013年9月

3. The Chemical Conversion of Light Energy Prize 2014 (JST-さきがけ「光エネルギーと物質変換」)

受賞タイトル: Elucidation of Molecular Mechanisms of Highly Efficient Energy Conversion and Water Oxidation by Photosynthesis 2014年3月

アウトリーチ活動

1. サイエンスカフェ@愛大 ～環境・エネルギー問題に挑む新テクノロジー～ 2013年3月16日(愛媛大学愛大ミュージアム) 主催:愛媛大学、日本科学技術振興機構、公益財団法人東京応化科学技術振興財団
2. 第17回 男女参画社会づくり推進県民大会「サイエンス分野における男女共同参画～理系女子のキャリアデザイン～」2012年6月19日(ひめぎんホール) 主催:愛媛県庁(愛媛県県民環境部管理局 男女参画課事業係)