

平成 30 年 6 月 8 日

報道機関 各位

東北大学学際科学フロンティア研究所
東北大学大学院生命科学研究科

光合成を支える葉緑体チラコイド膜の新しい性質： チラコイド膜を小さな有機物が透過する「通路」を発見

【発表のポイント】

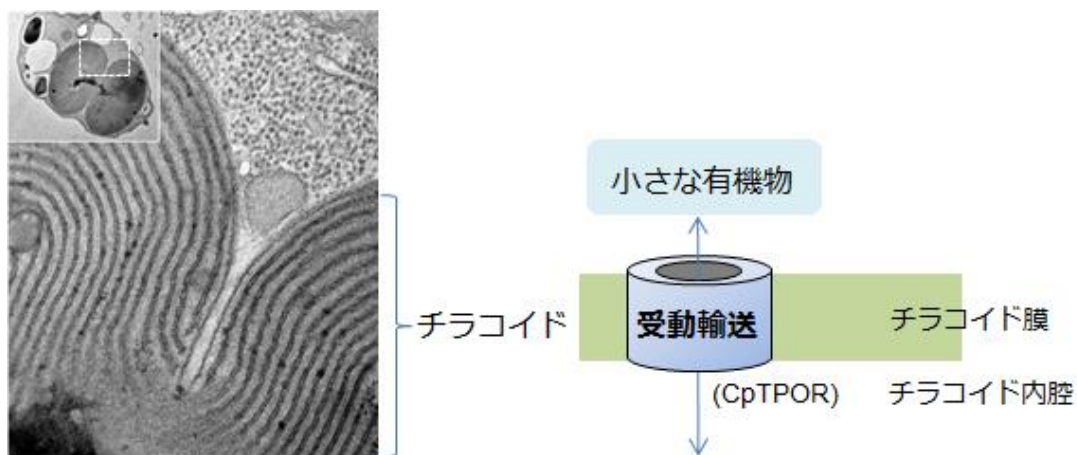
- 光を受容して化学エネルギーに変換する光合成の最初の段階は葉緑体の中のチラコイドと呼ばれる袋状の膜で起こる。
- チラコイドの内側（内腔）では光合成の維持・制御に必須の様々な生理反応が行われる。しかし、それに関連する多様な有機物（光合成装置の分解物など）がなぜチラコイド膜を越えて出入りできるかについては、これまで全く考慮されておらず未解明であった。
- 本研究では、チラコイド膜にアミノ酸等の小さな有機物を無差別に透過する「通路」をつくるタンパク質（チャンネルタンパク質）が存在することを発見し、チラコイド膜が有機物を受動的に輸送する仕組みを持つことを初めて明らかにした。
- 「チラコイド膜の有機物透過」というこれまで全く認識されていなかった現象を解明していくことで、光合成を支える仕組みに関するより詳細な理解が得られるだけでなく、光合成能力の増強や人為的制御を目指した応用的研究にも新たな手掛かりを提供できる。

【概要】

東北大学学際科学フロンティア研究所の児島征司助教は、同大学大学院生命科学研究科の高橋秀幸教授および福井大学学術研究院医学系部門の老木成稔教授、岩本真幸助教と共同研究を行い、植物の葉緑体チラコイド膜に糖やアミノ酸等の小さな有機物を非選択的に透過させる「通路」をつくるタンパク質（チャンネルタンパク質）が存在することを発見しました。光エネルギーを生物体内で使える化学エネルギーへと変換する光合成の最初の段階はチラコイドと呼ばれる葉緑体の中の袋状の膜で起こります。チラコイドの内側（内腔）にはおよそ 80 種類のタンパク質が存在し、主として光合成装置の維持・制御に関する重

要な働きを担うことがわかってきています。一方で、チラコイド内腔の生理機能に関連する多様な有機物（光合成装置の分解物や酵素補因子*¹など）がどのようにしてチラコイド膜を越えて出入りしているかについては、これまで全く注目されておらず、その仕組みは未解明でした。本グループは代表的な光合成生物種であるシアノバクテリア（*Synechocystis* sp. PCC 6803）、藻類（灰色藻 *Cyanophora paradoxa*）、陸上植物（ホウレンソウ *Spinacia oleracea*）のチラコイド膜を調べた結果、いずれも小さな有機物を非選択的に透過するチャンネルタンパク質が存在することを発見し、これらを TPORs (thylakoid pores) と名付けました。さらに、TPOR の詳細機能解析の最初の実例として灰色藻の TPOR (CpTPOR) を精製し、生化学と電気生理学の手法を組み合わせることで調べた結果、CpTPOR の正体は半径約 1.3 nm の小孔を形成するタンパク質であることを突き止めました。本研究は、チラコイド膜が小さな有機物を受動輸送*²する仕組みを持つことを初めて実証し、光合成を支えるチラコイド膜機能の理解に関して「有機物透過」という未開拓の領域が存在することを明確に示しています。今後の研究でチラコイド膜の透過機構をより詳細に解明していくことで、光合成を支える仕組みに関する新たな理解が得られるだけでなく、光合成能力の増強や人為的制御を目指した応用的研究にも新たな手掛かりを提供できると期待されます。本成果は、米国生化学分子生物学会が発行する学術誌 *Journal of Biological Chemistry* の最新号に 5 月 18 日付で掲載されました。

【図】



本研究成果を示す模式図。葉緑体のチラコイド膜には、アミノ酸等の小さな有機物を非選択的に透過する「通路」をつくるチャンネルタンパク質（TPOR と名付けた）が存在することを発見し、チラコイド膜が有機物を受動的に輸送する仕組みを持つことを初めて明らかにした。写真は、灰色藻 *C. paradoxa* の葉緑体チラコイド（左上の白枠を拡大）。灰色藻の TPOR は CpTPOR と名付けた。

【詳細な説明】

葉緑体のチラコイドでは、光エネルギーを生物体内で使える化学エネルギーへと変換する光合成の最初の段階が occurs。その過程では光エネルギーの受容に伴って水素イオンがチラコイド内腔へ輸送され、チラコイド膜をはさんでプロトン駆動力*³が形成し、化学エネルギーの供給源となります。一方、チラコイド内腔は水素イオンの輸送先としての単純な「たまり場」ではなく、そこには約 80 種類のタンパク質が存在することがわかっています。これらは、傷ついた光合成装置の分解除去などの、主として光合成の維持・制御に関わる重要な働きを担うことが近年の研究でわかってきています。一方で、チラコイド内腔の生理機能に付随して発生する様々な有機物（光合成装置の分解物など）や、酵素反応に必要な捕因子などが、どのようにしてチラコイド膜を越えて出入りしているかについては、これまでまったく考慮されておらず、未解明でした。

本グループは当初、葉緑体の誕生過程における膜機能の進化を探る全く別の研究を行っていました。ところが、最も原始的な葉緑体の一つとされる灰色藻 *Cyanophora paradoxa* の葉緑体を調べている途中で偶然に、チラコイド膜がアラビノース（糖の一種）を透過する現象を発見しました。この発見を契機として、チラコイド膜の有機物透過を調べる研究に乗り出しました。

まず、灰色藻 *C. paradoxa* に加え、代表的な光合成生物種であるシアノバクテリア (*Synechocystis* sp. PCC 6803) と陸上植物（ホウレンソウ *Spinacia oleracea*) からチラコイド膜を単離し、人工的に作った膜小胞に組み込んで、糖やアミノ酸を用いて有機物の透過性を解析しました。その結果、いずれの種のチラコイド膜にも小さな有機物を非選択的に透過するチャネルタンパク質が存在することが明らかになりました。これらを TPORs (thylakoid pores) と名付けました。次に、TPOR の詳細機能解析のため、上記の種のなかで最も高い透過性を示した灰色藻のチラコイド膜をドデシルマルトシド（界面活性剤*⁴の一種）を用いて可溶化し、液体クロマトグラフィー*⁵を用いて灰色藻の TPOR (CpTPOR) を単離・精製しました。精製した CpTPOR の生化学的・電気生理学的な機能解析を行った結果、CpTPOR の正体は半径約 1.3 nm の小孔を形成するタンパク質であることを突き止めました。さらに CpTPOR をコードする遺伝子を決定し、塩基配列・アミノ酸配列解析を行った結果、ミトコンドリアの外膜に存在する VDAC と呼ばれるチャネルタンパク質とよく似ていることがわかり、CpTPOR は β -バレルと呼ばれる筒状のチャネルを形成することが予想されました。一方で、CpTPOR の透過性は膜電位に依存しないことなど、機能面で VDAC とは明確な違いがあることもわかりました。

これらの成果は、チラコイド膜が小さな有機物を受動輸送する仕組みを持つことを明確に実証した最初の例となるものです。一方で、なぜチラコイドのプロトン駆動力形成が TPOR によって阻害されないのか、TPOR の機能を人為的に失わせることで光合成がどのような影響をうけるのか、といった重要な疑問にはこれからの研究で答えを出していく必要があります。また、CpTPOR 遺伝子

はシアノバクテリアには存在しないことなど、TPOR が生まれた進化的な道筋に関しても、大きな謎が残されています。本研究から派生するこれらの重要な疑問に答えていくことで、地球上の最も重要な生命現象の一つである「光合成」を支える仕組みに関して、「チラコイド膜の有機物透過」という従来無かった視点から理解を深めていくことができるでしょう。それによって、光合成能力の増強や人為的制御を目指した応用的研究にも新たな手掛かりを提供できると期待されます。本研究は、科学研究費助成事業（科研費課題番号：18H02117, 15K20860, 17K07360, 16H00759, 17H04017）の支援を受けて行われました。

- *1. 酵素補因子：酵素の働きに必須な、タンパク質以外の因子のこと。
- *2. 受動輸送：生体膜を介した物質輸送のうち、膜を隔てた物質の濃度差を駆動力として起こる輸送形態のこと。
- *3. プロトン駆動力：生体膜を隔てたプロトン濃度差と電位差により形成される生体エネルギーのこと。生命活動に必須な ATP の合成など、数多くの反応に利用される。
- *4. 界面活性剤：一つの分子内に親水性の部分と親油性の部分併せ持つ物質の総称。石鹸の主成分として知られ、膜タンパク質を膜から溶け出させて可溶化する作用がある。
- *5. 液体クロマトグラフィー：試料を含む溶液を、固定相と呼ばれる様々な物質が詰められた管の中を通し、固定相との相互作用により生じる試料成分の通過速度の差を利用して、各成分を分離する方法。

【論文題目】

題目：Thylakoid membranes contain a non-selective channel permeable to small organic molecules

著者：Seiji Kojima, Masayuki Iwamoto, Shigetoshi Oiki, Saeko Tochigi, Hideyuki Takahashi

雑誌：Journal of Biological Chemistry

DOI：10.1074/jbc.RA118.002367

お問い合わせ先

(研究に関すること)

東北大学 学際科学フロンティア研究所

助教 児島 征司(こじま せいじ)

電話番号:022-217-5717

Eメール:skojima@ige.tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学 学際科学フロンティア研究所

特任准教授(URA)鈴木 一行(すずき かずゆき)

電話番号:022-795-4353

Eメール:suzukik@fris.tohoku.ac.jp

