

葉緑体チオレドキシンスシステムの多様性と その機能分担

本 橋 健^{*1}

要 旨

植物は生命活動に必要なエネルギーを生産するために、光合成を行う。光合成反応は、光エネルギーを用いてエネルギーと還元力を産生する反応と、それを用いて二酸化炭素を固定する反応に分けることができ、この2つの反応を光依存的に制御する必要がある。光合成電子伝達反応から得られる還元力の一部を用いて、チオレドキシンはこの2つの反応を協調的に制御しており、葉緑体の光合成機能調節因子として重要である。本稿では、植物葉緑体チオレドキシンスシステムの多様性とその機能について、近年明らかとなった内容を我々の研究を中心にまとめ、今後の課題を整理する。

キーワード：植物，光合成，チオレドキシン，機能制御

1. 植物における光合成反応の制御とチオレドキシン

光エネルギーを利用する植物の光合成では、光の当たる昼に光合成電子伝達反応が進む。一方、この反応で生じたエネルギーと還元力を用いて二酸化炭素を固定する反応は酵素反応であるため、単純に光により反応が進行するわけではない。光合成電子伝達と二酸化炭素固定の2つの反応が光の当たる昼に協調的に進むことで植物の光合成は効率よく進むが、そのためには、二酸化炭素固定反応において光依存的に活性を制御するシステムが必要である。

光の当たる昼に二酸化炭素固定反応を活性化させるシステムとして、植物の葉緑体ではチオレドキシンスシステムが利用されている。チオレドキシン (Trx) は WCGPC (Trp-Cys-Gly-Pro-Cys) という2つの保存されたシステイン残基を含むアミノ酸配列をもつ酸化還元タンパク質であり、これらのシステイン残基の酸化還元反応を通じて、標的タンパク質のジスルフィド結合を還元する (図1)。標的タンパク質の多くは、酸化状態 (不活性型) と還元状態 (活性型) で酵素活性が制御されている。

葉緑体では、昼に光が当たり光合成電子伝達反応が進行し、還元力が蓄積するのに対して、夜はこれらの反応は生じない。葉緑体では昼夜での還元力蓄積が大きく異なり、オルガネラのレドックス状態は大きく変化する。チオレドキシンスシステムによる酵素活性制御機構は、昼夜での還元力の大きな差を利用し、二酸化炭素固定反応などに関わる酵素を、昼に活性化し、夜に不活性化するよう酵素活

^{*1} 京都産業大学生命科学部先端生命科学科・京都産業大学植物科学研究センター

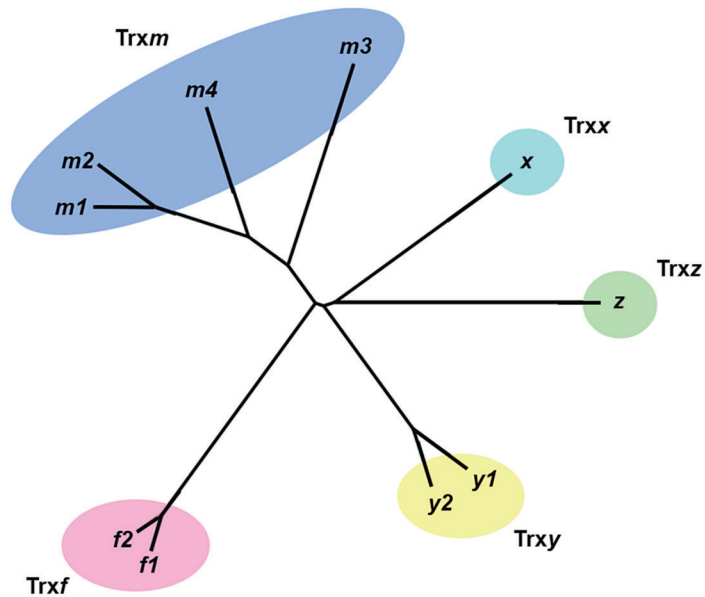


図2 葉緑体チオレドキシンファミリータンパク質の系統樹
(ClustalW: <https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw> により作成)

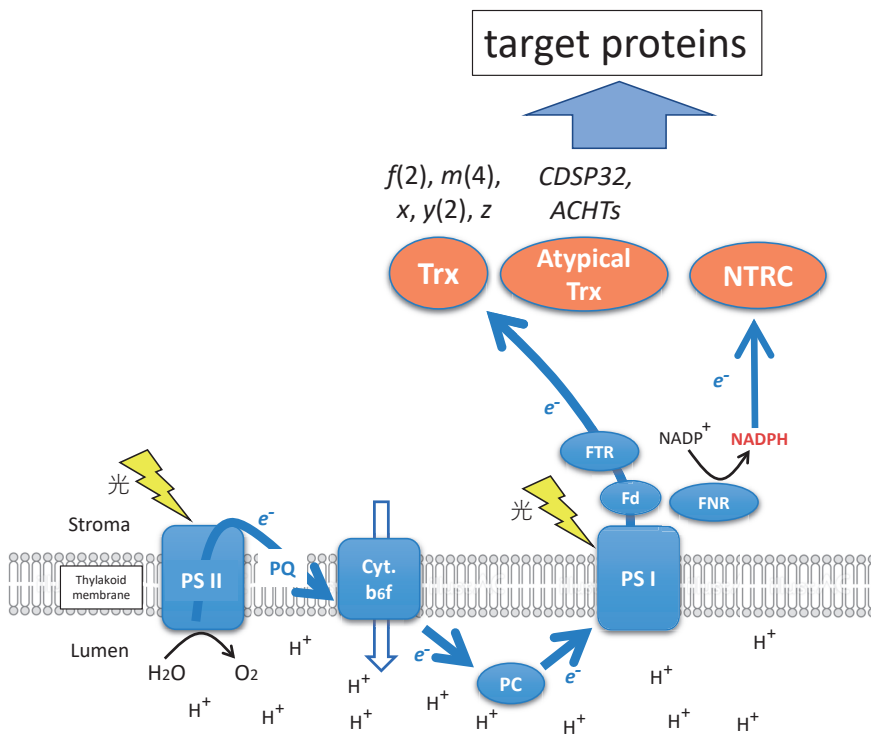


図3 葉緑体における様々なレドックス制御因子とその還元経路

している (図 3)。このタンパク質は、NADPH-dependent thioredoxin reductase C (NTRC) と呼ばれ、NADPH 依存的にジスルフィド結合還元酵素として機能する [1, 2]。チオレドキシンシステムは、当初、光合成電子伝達反応からの還元力の一部を利用して Fd から FTR を介して還元力 (電子) を供給され、その還元力を酵素活性制御に利用していると考えられていた。しかし、NADPH を還元力として利用する NTRC というもうひとつの経路が発見され、大きく変化するレドックス状態を様々な Trx ファミリータンパク質、チオレドキシン様タンパク質が様々な経路を通じて、葉緑体の機能制御に利用していると考えられるようになってきた。

3. 葉緑体チオレドキシンファミリータンパク質の機能分担

これまで紹介したように、葉緑体チオレドキシンシステムは典型的なチオレドキシンファミリータンパク質以外に、多くのチオレドキシン様タンパク質が存在し、機能している。本稿では図 1, 図 2 に示した典型的な葉緑体チオレドキシンファミリータンパク質に絞り、その機能分担について、私たちの近年の研究を中心にまとめる。

5 グループある典型的チオレドキシンファミリータンパク質のうち、*f* 型、*m* 型 Trx に関しては、二酸化炭素固定反応を担うカルビン回路酵素、葉緑体 ATP 合成酵素、NADP 依存リンゴ酸デヒドロゲナーゼなどの光合成関連代謝酵素の光依存的活性化に機能していることがわかってきた。これに対して、*x* 型、*y* 型、*z* 型 Trx の生理機能は長い間わからなかった。

また、これら 5 グループのチオレドキシンについては、ゲノム上に遺伝子の存在は認められるものの植物体内でのタンパク質の存在量は明らかにされておらず、どのチオレドキシンが葉緑体において生理的に重要であるかも不明であった。そこで、私たちはまずこれらの 5 グループ 10 種類のチオレドキシンに対する特異的抗体を作成し、植物葉緑体における存在量を定量した。その結果、*f* 型 22.1%、*m* 型 69.1%、*x* 型 6.3%、*y* 型 1.3%、*z* 型 1.1% であることがわかり、葉緑体では、*f* 型 Trx が約 2 割、*m* 型 Trx が約 7 割を占めることを明らかにした [3]。

次に、葉緑体チオレドキシンファミリータンパク質の植物での生理的役割を調べるため、各チオレドキシングループの欠損変異株を作成し、解析した。それまでの生化学的解析から、カルビン回路酵素のフルクトース 1,6-ビスホスファターゼ (FBPase) をはじめとするカルビン回路酵素の多くは *f* 型 Trx により還元され活性化することが知られていた。また、NADP 依存リンゴ酸デヒドロゲナーゼ (NADP-MDH) は *f* 型、および *m* 型 Trx の両方で活性化されと考えられてきた。カルビン回路酵素の光依存的な活性化は、二酸化炭素固定反応の活性調節に直接結びつくため、*f* 型 Trx の欠失は植物の生育に大きな影響を及ぼすことが予想された。しかし、実際に欠損変異株の解析を進めると、*f* 型 Trx 欠損株は野生株とほぼ同様の成長を示し、カルビン回路の活性化にもほとんど影響を及ぼさないことがわかった [4-6]。これに対して、葉緑体内で約 7 割を占める *m* 型 Trx 欠損株は、カルビン回路酵素の活性化が抑制され、植物の生育が阻害されることがわかった [3]。これらの結果から、植物の葉緑体内では発現量の多い *m* 型 Trx がカルビン回路酵素の活性化を主に担っていると考えら

れる。この研究から、*in vitro* の生化学的研究に加え、欠損変異株を用いる *in vivo* での研究も同時に進めることが重要なことがわかる。

m 型 Trx に関しては、これとは別に光合成の電子伝達経路のひとつである「光化学系 I サイクリック電子伝達経路」の制御に関与し、その制御が植物の成長に必要であることも明らかにした [7]。チオレドキシンは光化学系 I サイクリック電子伝達経路のうち、PGR5/PGRL1 複合体依存の経路に必須な PGRL1 と相互作用し、その活性を直接調節している。このような光合成反応の制御機構について理解が深まると、将来的には光合成機能を改変することで様々な光環境変化に対応できる作物の開発などが期待できる。

研究の歴史が長く、積極的に生理機能の解析が進められてきた *f* 型、および *m* 型 Trx の研究に対して、*x* 型 Trx、*y* 型 Trx の生理機能を明らかにする研究は、ほとんど進んでいなかった。実際、連続光下や通常光での明暗条件において、*x* 型 Trx、*y* 型 Trx の欠損変異株は野生株と同様に生育し、*x* 型、または *y* 型 Trx の欠損の影響は見られない。しかし、自然環境下に近い変動する光環境下で *x* 型・*y* 型変異株を育てると、植物体の生重量は 64% 減少し、光合成に不可欠なクロロフィル含量も 29% 減少していた。詳細な解析により、その原因は *x* 型・*y* 型 Trx 変異体では光合成電子伝達反応が阻害され、光化学系 I タンパク質が光損傷を受けていることがわかった [8]。自然条件に生育する植物は、光に依存して成長するが、いつも一定の光を受けているわけではなく、様々な環境変化により変動する光環境の下で生育している。*x* 型・*y* 型 Trx 欠損株から得られた結果は、光強度が大きく揺らぐ自然状態に近い光環境下で、*x* 型および *y* 型 Trx は光化学系 I タンパク質を保護する役割を持っているようだ。しかし、そのメカニズムについては不明であり、今後の研究で明らかになることが期待される。

4. 今後の展望

本稿では、典型的チオレドキシンファミリータンパク質に焦点を絞り、近年の研究の進展をまとめた。葉緑体におけるレドックス制御因子は、典型的チオレドキシンファミリータンパク質以外に、CDSP32, ACHT などの Atypical チオレドキシンに分類されるチオレドキシン様タンパク質が存在し、これに加えて、還元力の供給源が NADPH である NTRC も重要な機能を担っていることがわかってきた。今後、これらの個々のレドックス制御因子が、葉緑体のレドックスネットワークで、どのような生理機能に関与するのか、また、その寄与度はどの程度なのか、が明らかにされることで、葉緑体レドックス制御機構の全貌が明らかになることが期待される。

5. 参考文献

1. Cejudo, F.J., M.C. Gonzalez, and J.M. Perez-Ruiz, *Redox regulation of chloroplast metabolism*. Plant Physiol, 2021. 186 (1): p. 9-21.
2. Yoshida, K. and T. Hisabori, *Current Insights into the Redox Regulation Network in Plant Chloroplasts*. Plant Cell

- Physiol, 2023. **64** (7): p. 704-715.
3. Okegawa, Y. and K. Motohashi, *Chloroplastic thioredoxin m functions as a major regulator of Calvin cycle enzymes during photosynthesis in vivo*. Plant J, 2015. **84** (5): p. 900-913.
 4. Yoshida, K., S. Hara, and T. Hisabori, *Thioredoxin Selectivity for Thiol-based Redox Regulation of Target Proteins in Chloroplasts*. J Biol Chem, 2015. **290** (23): p. 14278-88.
 5. Naranjo, B., et al., *Type-f thioredoxins have a role in the short-term activation of carbon metabolism and their loss affects growth under short-day conditions in Arabidopsis thaliana*. J Exp Bot, 2016. **67** (6): p. 1951-64.
 6. Okegawa, Y., W. Sakamoto, and K. Motohashi, *Functional division of f-type and m-type thioredoxins to regulate the Calvin cycle and cyclic electron transport around photosystem I*. J Plant Res, 2022. **135** (4): p. 543-553.
 7. Okegawa, Y. and K. Motohashi, *M-Type Thioredoxins Regulate the PGR5/PGRL1-Dependent Pathway by Forming a Disulfide-Linked Complex with PGRL1*. Plant Cell, 2020. **32** (12): p. 3866-3883.
 8. Okegawa, Y., et al., *x- and y-type thioredoxins maintain redox homeostasis on photosystem I acceptor side under fluctuating light*. Plant Physiol, 2023. **193** (4): p. 2498-2512.

Diversity of chloroplast thioredoxin systems and their functions

Ken MOTOHASHI

Abstract

Plants produce energy for their vital activities through photosynthesis. Photosynthetic reactions are divided into light reactions and carbon fixation reactions using the reducing power and ATP generated by light reactions. Thioredoxin cooperatively regulates the carbon fixation reaction by a part of the reducing power derived from photosynthetic electron transfer reactions, and is an important regulator for chloroplast photosynthetic reaction. In this paper, we summarize recent findings on the diversity of chloroplast thioredoxin systems and their functions in plants, focusing on our studies.

Keywords : plant, photosynthesis, thioredoxin, redox regulation

