

光合成研究

第18卷 第3号(通卷53号) 2008年12月

Vol. 18 No. 3 December 2008

THE JAPANESE ASSOCIATION FOR PHOTOSYNTHESIS RESEARCH



日本光合成研究会

光合成研究

第 18 卷 第 3 号 (通巻 53 号) 2008 年 12 月

NEWS LETTER Vol. 18 NO. 3 December 2008

THE JAPANESE ASSOCIATION FOR PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

巻頭言 光合成研究会会長を終えるにあたって	伊藤 繁	82
トピックス LysR 型転写因子 CmpR の機能から探るラン藻の CO ₂ 欠乏応答メカニズム	西村崇史	84
解説 葉緑体タンパク質の分解とオートファジー	石田宏幸、和田慎也	89
研究紹介 緑藻クラミドモナスの光化学系 I 複合体の PsaH, I, L, O サブユニットの解析	大西岳人	95
新刊図書		100
光合成の教科書を振り返る — 「光合成とはなにか」まで—	園池公毅	101
事務局からのお知らせ		103
日本光合成研究会会員入会申込書		104
日本光合成研究会会則		105
幹事会名簿		107
編集後記		108

賛助法人会員広告

巻頭言

光合成研究会会長を終えるにあたって

日本光合成研究会会長

伊藤 繁 (名古屋大学大学院理学研究科)

皆様のご協力のおかげで、2期4年間の会長任期を無事終え、09年1月より東大池内昌彦さんに会長職を引き継いでいただきます。この間あまりたいしたことはやりませんでした、役にたつ日本光合成研究会をめざして、活動しました。詳しい報告はまたとしてとりあえずご挨拶をさせていただきます。

やったこと。

- (1) 各年の総会と公開講演会 (名古屋、岡山、東工大、名古屋)

東工大での総会は高宮建一郎元会長の追悼会ともなりました。

- (2) 総会における、ポスター賞の創設 (会員の相互投票による5-7名の表彰)

- (3) ポスター発表者は、会員に限らせていただくこととしましたら、新規会員の申し込みが増えました。会員名簿の管理が少し煩雑ですが会費は安いので好評でした。

- (4) ワークショップ 1期目は2回(神奈川大での生態学WS、東大でのシアノバクテリアWS)。2期目はほかの活動もあり開催できませんでした。

- (5) 会誌のカラー化

表裏表紙および、ページの一部をカラー化しました。伝統ある表紙を変えるにあたっては議論もありましたが、一応好評です。写真は私と印刷発行担当の藤田祐一さんが作成。費用がかかりますが、増えた広告収入でまかなえています。

- (6) 会誌番号の統一ナンバーへの変更をしました。

- (7) 日本学術会議の学術連絡団体としての登録

義務などは増えませんが、学会に準じた扱いとなりました。連絡やアンケートなどは、適当に処理しています(あまり対応していない)。

- (8) 学術情報センターへのHPの移動

上記により、HPを安定無料なサイトに移動できました。

- (9) 常任評議員会、評議員会、総会で承認されたように来期より役員が変わります。2009年1月より、新委員と入れ替わります。

- (10) 北大低温研の田中歩さんを中心にして日本光合成研究会編集で「光合成研究法」という本を作成中、皆様の多大な協力で、来年3月に刊行予定です。

- (11) できなかったこと。(進行中のこと)

会の名称を日本光合成学会とする(次の公開シンポジウム総会での議題)

これについての議論をよろしく

光合成研究に携わる研究室のカタログの作成
(一応決まりましたが進んでいません)

感想

前任の村田紀夫会長から引き継いだ時には、任せて大丈夫なのかと、多くの方々にご心配頂き、色々と貴重なご助言をいただきました。おかげさまで、システムがうまく機能して、会長室、事務局、会誌編集と発行、光生物委員会との連絡、公開シンポジウム、HP など、スムーズに会の運営が行えました。関係者の方々、特に常任幹事の皆様方には、大変感謝しております。かなり任せっぱなしの所もありご苦勞をかけましたが、皆様の自主的な活動と適当な連携にて、十分とまではいきませんでした。改めてお礼申し上げます。

さらに大きかったのは、会員の皆様のシンポジウムやワークショップへの熱心なご参加です。ほかの会（例えば光生物委員会、光合成細菌と色素系の勉強会、関西光合成研究会など）との関係も特徴をいかし、うまくいっているようです。境界領域を目指す日本光合成研究会ですのでさらに多彩な方々の参加があればもっと面白くなるように思います。会員も増え分布も変わりつつあります。大きく世代が代わり、時代が代わり、会も変わる時が来たような予感がします。

若手の方々のご活躍を祈ります。研究費もチャンスも研究課題も仲間も、努力して知恵をしぼって、競い合ったり、助け合ったりする中ででてくるものです。日本光合成研究会（日本光合成学会でもいいとおもいませんか？）という仕掛けをうまく使ってさらに先に進んでいただければ幸いです。

今インドの Indore で Govindjee さんのための光合成国際シンポジウムの会場でテロのニュースを聞きながら、この文を書いています。大昔の 1960 年代の思い出の写真を見せられながら、インドの学生たちは日本にいったら研究を続けられるのか？職が得られるのか？第 2 の Govindjee になれるのかと聞いてきます。経済や政治や色々な条件は違いますが、世の中変わっていないといえれば変わっていない。苦勞は一瞬、楽しみは一生、時の経つのは早いもので、私が皆様と遊べるのも、あと少しとなってきました。楽しく、苦しく、急いで、ゆっくり、競い、助けあい、しっかり、進んでいきましょう。やりたいことがあればこの会をうまく使ってどんどん進めてください。今後ともよろしく。光合成研究って楽しいと思いませんか？

2008 年 12 月 1 日

TOPICS

LysR 型転写因子 CmpR の機能から探るラン藻の
CO₂ 欠乏応答メカニズム

名古屋大学 大学院生命農学研究科

西村崇史

1. はじめに

ラン藻は原核生物でありながら植物と共通の光合成機構を持ち、葉緑体の進化的起源と考えられている生物である。安定な培養系、及び形質転換法が確立されているため、ラン藻は光合成研究のモデル生物として広く用いられている。ただし、ラン藻と植物では炭酸固定の基質である CO₂ を環境中から獲得する機構が大きく異なっている。ラン藻には植物には存在しない独特の無機炭素 (CO₂ または HCO₃⁻) の濃縮機構 (Carbon-Concentrating Mechanism; CCM) が備わっており、効率的な光合成に必要な細胞内無機炭素濃度を維持しているのである¹⁾。ラン藻の CCM は大別すると①輸送体による外界から細胞質への無機炭素の取り込み、②カルボキシゾーム内部における CO₂ 固定、の二段階から成る (図 1)。①の段階では、細胞膜に存在する BCT1、SbtA、BicA といった HCO₃⁻ 輸送体が細胞質に HCO₃⁻ を能動的に輸送している。また、NDH-I 複合体が細胞質の CO₂ を HCO₃⁻ に変換することで細胞質

における高い HCO₃⁻ 濃度を維持するとともに、外界から細胞内への CO₂ の浸透速度を高めている²⁾。②では細胞質に蓄積した HCO₃⁻ は、まずカルボキシゾームと呼ばれるタンパク質性の多面構造体内に入り、内部に局在するカーボニックアンヒドラーゼ (CA) により CO₂ に変換された後、同じく内部に局在するルビスコ (Rubisco) により固定される。ラン藻の Rubisco は植物のものにくらべて O₂ に対する CO₂ の選択性が低いけれども、CCM により Rubisco 周囲の CO₂ 濃度を高めることにより高い CO₂ 固定活性を維持している。カルボキシゾームや CA、Rubisco は外界の CO₂ 濃度が高い条件下でもある程度発現しているが、BCT1、SbtA、NDH-I₃ は CO₂ 充足環境では発現しておらず、CO₂ 欠乏環境にさらすことで速やかに発現が誘導される³⁾。この CO₂ 欠乏ストレス応答は遺伝子発現段階での厳密な転写制御によるものであり、我々はこの転写制御機構の解明を目的に研究を進めている。

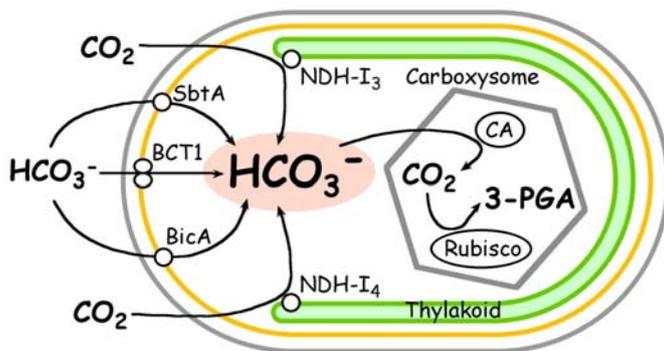


図1 ラン藻の無機炭素濃縮機構のモデル図

ラン藻は外界の無機炭素を複数の機構を使って細胞内に HCO₃⁻ の形で取り込む。細胞質に蓄積した HCO₃⁻ は Carboxysome 内の Carbonic anhydrase (CA) により CO₂ に変換され、Rubisco により固定される。BCT1、SbtA は高親和性 HCO₃⁻ トランスポーター、NDH-I₃ は高親和性 CO₂ 取り込み機構で、いずれも CO₂ 欠乏時に発現する。BicA は低親和性 HCO₃⁻ トランスポーター、NDH-I₄ は低親和性 CO₂ 取り込み機構で、これらは構成的に発現している。

2. *cmpABCD* オペロンの転写制御機構

ABC型の炭酸水素イオントランスポーターBCT1をコードする*cmpABCD*オペロン(以下*cmp*オペロンと略す)は、CO₂欠乏環境で転写量が著しく増加する⁴⁾。この転写制御に関わる因子として、以前にLysR型タンパク質のCmpRが同定されている⁵⁾。CmpRは光合成細菌・化学合成細菌におけるカルビンサイクル関連遺伝子群の転写制御因子であるCbbRのホモログで、CbbRとアミノ酸配列レベルで約30%の類似性を持つ。ラン藻においてCmpRを欠損させると*cmp*オペロンのCO₂欠乏応答性が著しく低下するが⁵⁾、一方でカルビンサイクル遺伝子群の発現には影響しない。したがって、CmpRによる*cmp*オペロンの転写制御機構はラン藻におけるCO₂応答機構を研究する際のよいモデルとなる。

ラン藻 *Synechococcus elongatus* strain PCC 7942 (以降7942と略す)の*cmpA*の上流領域は約0.9kbと比較的長く、CbbRのDNA結合認識配列のコア配列である「TNA-N_{7,8}-TNA」(CbbRモチーフ⁶⁾)を含む推定上のCmpR結合部位が複数存在する(図2、*cmpI*~*cmpVI*)。このことから、*cmp*オペロンのCO₂応答性はCmpRと*cmpA*上流領域の相互作用によるものと推定された。*luxAB*遺伝子をレポーターとしたプロモーター活性の

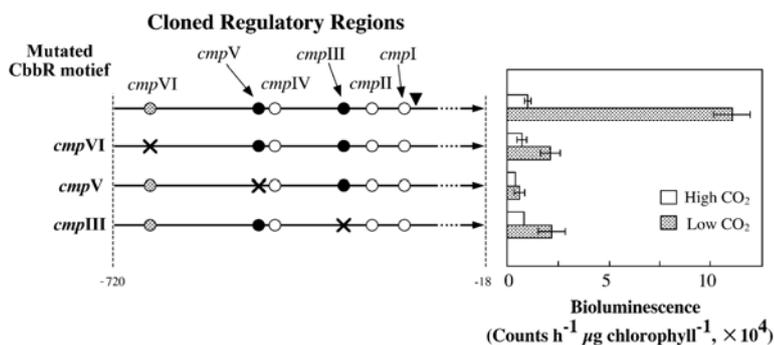


図2 *cmpA*上流領域におけるCO₂欠乏応答性領域の特定を目的としたレポーターアッセイ
*cmpA*上流領域に*luxAB*を繋いだ配列をラン藻 *Synechococcus elongatus* strain PCC 7942のゲノム中に組み込み、高CO₂条件(白)および低CO₂条件(灰)におけるプロモーター活性を生物発光により測定した。*cmpA*上流領域図中の数値は開始コドンのAからの距離、黒の逆三角は転写開始点の位置を表している。丸のシンボルはCbbRモチーフを表す(白;TNA-N₇-TNA、黒;TNA-N₇-TNA-N₇-TNA、灰;TNT-N₇-TNA-N₇-ANA)。塩基置換を導入したCbbRモチーフは×で示した。

測定で、上流側から推定CmpR結合部位を順次欠失させたところ、*cmpI*~*cmpVI*のうち、2つのCbbRモチーフが重複した構造(TNA-N₇-TNA-N₇-TNA)となっている*cmpIII*と*cmpV*、および重複したCbbRモチーフに似た配列*cmpVI*(TNT-N₇-TNA-N₇-ANA)が低CO₂応答に関与する可能性が示された。これらの部位に個別に塩基置換を導入したところ、いずれの場合も低CO₂応答性が著しく低下した(図2)。これらのことから、*cmp*オペロンの低CO₂応答には*cmpIII*、*cmpV*、*cmpVI*のすべてが必要であることが明らかとなった。次に、*cmpA*上流領域とCmpRの相互作用の有無を検証するため、大腸菌で発現させたCmpRタンパク質と*cmpA*上流領域のDNA断片を用いてゲルシフト解析を行った(図3)。CmpRタンパク質を発現させた大腸菌粗抽出液と*cmpA*上流DNA断片を混合すると、DNA-タンパク質複合体由来のシフトバンドが観察されたことから(図3B)、*cmpA*上流領域にCmpRが特異的に結合することが示された。これにより前述の「*cmp*オペロンのCO₂応答性はCmpRと*cmpA*上流領域の相互作用により形づくられる」という推論がより確かなものとなった。おそらく、CmpRは*cmpIII*、*cmpV*、*cmpVI*の各モチーフに結合しDNAを複雑にベンディングさせることで転写誘導に貢献していると考えられる。

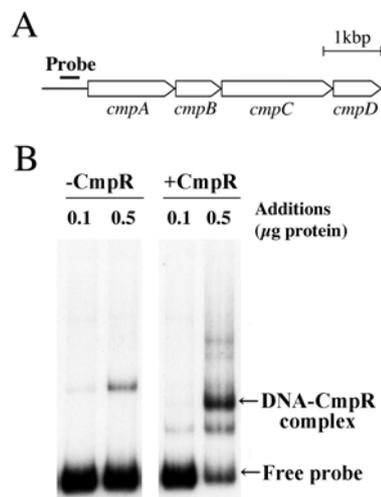


図3 *cmpA*上流領域とCmpRの相互作用の検証
A. *cmp*オペロンの構造。ゲルシフト解析に用いたProbeを傍線で示した。
B. ゲルシフト解析。タンパク質は発現ベクターpTrc99A (-CmpR)およびpTrc99A/*cmpR* (+CmpR)を導入した大腸菌の粗抽出画分を用いた。

3. ラン藻における CO₂ 欠乏シグナルとは？

CCM 関連遺伝子群の CO₂ 応答の第一段階は CO₂ 欠乏ストレスを感受することである。ラン藻が外界の無機炭素濃度の変化を直接感知しているのか、それとも CO₂ 欠乏により細胞内で起こる 2 次的な変化を感知しているのかは長らく不明であった。現在までのところ、環境ストレスシグナル伝達系として一般的な二成分制御系を介した CCM 関連遺伝子群の転写制御機構は知られておらず、CCM 関連遺伝子群の転写に直接関わることが確定しているのは CbbR ホモログ (CmpR、NdhR) のみである (NdhR については後述)。CbbR を含む LysR 型転写因子の特徴として、DNA との結合に影響を与える co-inducer が存在することが挙げられる⁷⁾。co-inducer の多くは代謝中間体分子であり、光合成細菌と化学合成細菌の CbbR では実際に何種かの化合物が同定されている^{8,9,10)}。ラン藻の CbbR ホモログでも co-inducer を介した標的遺伝子上流領域への結合調節が CO₂ 欠乏ストレス感受機構の実体である可能性が考えられたので、CO₂ 欠乏によって細胞内濃度が変化すると予想されるいくつかの代謝中間体分子を選び、各分子が *cmpA* オペロン上流領域と CmpR の結合に与える影響を調べた。NADH、NADPH、cAMP、3-phosphoglycerate (3-PGA)、2-oxoglutarate (2-OG) は添加による影響がみられなかったが、Ribulose 1,5-bisphosphate (RuBP) と 2-phosphoglycolate (2-PG) は添加により顕著な結合促進効果が見られた (図 4A)。RuBP が 1mM 以上の高濃度でのみ効果を示したのに対し、2-PG は 10 μ M 付近の低濃度の狭い範囲で顕著な影

響を示した点で特に注目された (図 4B)。RuBP は Rubisco の触媒する 2 つの反応 (カルボキシラーゼ反応; C 反応、オキシゲナーゼ反応; O 反応) の基質であるのに対し、2-PG は O 反応によってのみ生成する分子である。O 反応は Rubisco 周囲の CO₂ 分圧が低下した時 (相対的に O₂ 分圧が上昇) に起こるため、2-PG の細胞内濃度は CO₂ 欠乏によって上昇すると推定され、実際にラン藻を CO₂ 制限環境に置いた後に細胞内 2-PG 濃度が一過的に上昇する現象が Marcus らによって報告されている¹¹⁾。また、Woodger らは *cmp* オペロンを含む CCM 関連遺伝子群の迅速な CO₂ 欠乏ストレス応答には空気レベルの O₂ の存在、すなわち O 反応が必要であることを報告している¹²⁾。以上の結果を総合すると、ラン藻細胞内では、O 反応によって引き起こされる 2-PG 濃度の上昇が CO₂ 欠乏シグナルとなり、CmpR と *cmpA* 上流領域の結合を促進していると推察される。2-PG と CmpR がどのような相互作用を示すのか、また 2-PG と RuBP 以外に co-inducer となる分子が存在するのか現段階では不明であるが、今回の結果から推察される「2-PG による細胞内 CO₂ 濃度感受機構」は、現時点では最も単純かつ合理的なものと思われる。

4. CCM 関連遺伝子群の転写制御における CmpR の機能とは？

SbtA、NDH-I₃ をそれぞれコードする *sbtA* と *ndhF3D3chpY* (*ndhF3* オペロン) は、*cmp* オペロンと同様に CO₂ 欠乏により転写が著しく誘導される¹³⁾。

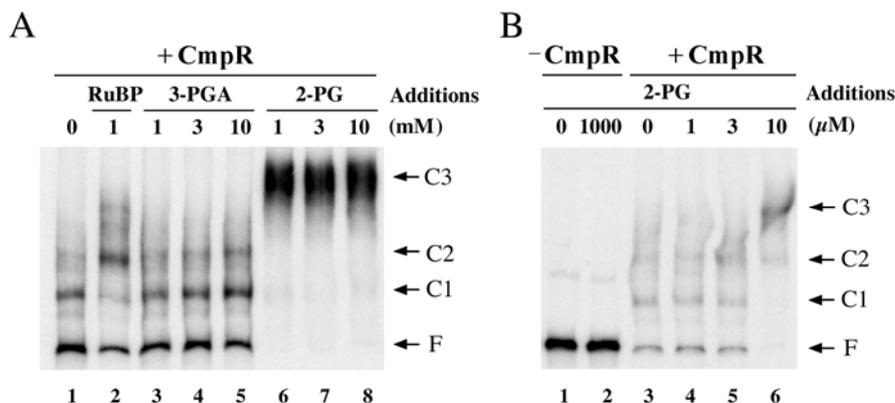


図4 RuBPと2-PGがCmpRのDNA結合活性を高める
 A. 図3の泳動サンプルにRuBP、3-PGA、2-PGを添加した時のシフトバンドの変化。
 B. 2-PGを各終濃度で添加した時のシフトバンドの変化
 FはFree probe、C1-C3はDNA-タンパク質複合体を示す。

CmpR 欠損株でもこれらの転写誘導が起こったことから、CmpR はこれらの転写に必須ではないことがわかったが、詳しく見てみるとやはり CmpR が *sbtA*、*ndhF3D3chpY* の発現調節に関与することを示唆する結果が得られた。図 5 は CO₂ 濃度の異なる条件における *sbtA* と *ndhF3* の発現パターンを半定量的 RT-PCR によって調べたものである。CmpR 欠損株において、*sbtA* は低 CO₂ 条件における発現誘導率が低下し、*ndhF3* は高 CO₂ 条件ですでに一定の発現を示した。どちらの遺伝子についても、CmpR の欠損による発現量の変化は結果的には CO₂ 欠乏ストレス応答性の低下を表しているため、CmpR はラン藻の CCM 関連遺伝子群のグローバルな転写制御因子である可能性が考えられる。*sbtA* と *ndhF3* の各上流領域への CmpR の結合はゲルシフトアッセイにより確かめられた (data not shown)。興味深いことに、*ndhF3* に関しては 2-PG 非存在下でも CmpR が転写開始点付近に結合することがわかった。転写開始点付近への CmpR の結合は転写開始を阻害する効果をもたらすと推察される。実際、図 5 の CmpR 欠損株における *ndhF3* の発現パターンは、CmpR が CO₂ 十分条件下 (つまり 2-PG 非存在下) でリプレッサーとして機能していることを支持している。そうすると次に、2-PG は CmpR の *ndhF3* に対する抑制効果をどうやって解除するのか、という疑問が生じてくる。現在、2-PG、CmpR、*ndhF3* 上流領域の相互作用を調べており、最近になって 2-PG 依存的な CmpR 結合サイトが *ndhF3* 上流に存在することを示唆する結果を得た。化学合成細菌では co-inducer が CbbR の結合部位を移動させるという現象が報告されているので^{10, 14}、ラン

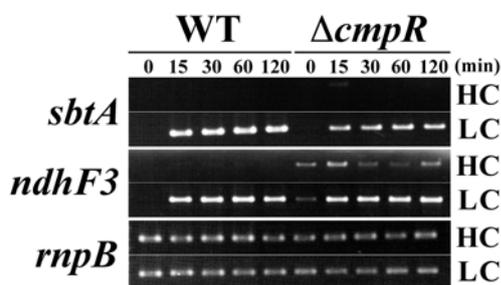


図5 *sbtA*、*ndhF3*の半定量的RT-PCR解析
2%CO₂を含む空气中で培養したラン藻 7942 株の野生株 (WT) と CmpR 欠損株 (Δ *cmpR*) をそれぞれ 2 つに分け、一方は引き続き 2%CO₂を含む空气中で培養し (HC) もう一方は CO₂を除いた空气中で培養した (LC)。CO₂濃度を変えて培養を再開した時点をも 0min とし、経時的に回収したラン藻細胞から RNA を抽出した。*rnpB* は構成的発現の指標である。

藻にも同様に co-inducer による結合部位のスライド機構が存在するのかもしれない。これらの解明にはさらなる研究が必要であるが、CmpR には 2-PG 依存性の異なる二種類の結合配列があり、これらが使い分けられていることは確実のようである。

5. 今後の展望

ラン藻の CbbR ホモログは、現在までに 3 つ同定されている。1 つは CmpR であり BCT1 をもつラン藻が持つ。2 つ目は CmpR とよく似た NdhR であり、NDH-I₃ をもつ数種のラン藻で同定されているが^{13, 15, 16}、例外として 7942 は NdhR を持っていない。3 つ目は Rubisco をコードする *rbcLS* の転写因子と推定されている RbcR である。CmpR と NdhR については転写制御のターゲットがほぼ明らかになりつつある。上述のように、CmpR はラン藻 7942 では *cmp* オペロンと、おそらく *sbtA*、*ndhF3D3chpY* の転写を制御している。一方、ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 (以降 6803 と略す) では CmpR は *cmp* オペロンの活性化にのみ特化しており⁵、NdhR が *sbtA*、*ndhF3D3chpY* の転写因子として作用している^{13, 16}。マイクロアレイ解析と半定量的 RT-PCR 解析から、*sbtA* と *ndhF3* の CO₂ 欠乏応答性は CmpR または NdhR を破壊しても完全には失われないことが明らかとなっており (図 5 参照)、このことは、ラン藻 7942 と 6803 の CCM 関連遺伝子群の転写誘導因子は CmpR と NdhR だけではないことを示している。RbcR はこの未同定の転写因子として有力な候補だが、RbcR の完全な欠損株を作ることができず、大腸菌における大量発現も成功していないため、*in vitro* 系の生化学的解析もされていない。今後、アンチセンス法による *rbcR* の不活性化等の研究を行ってこの遺伝子の機能を解明する必要がある。また、最近になって CO₂ 欠乏ストレスによって発現量が増加する non-coding RNA が見つかったため、その機能解析も急務である。これらの機能が明らかになり、それが CCM 関連遺伝子群の転写制御に関わるものであれば、ラン藻の CO₂ 欠乏応答機構の全容解明が大きく近づくであろう。ラン藻 CCM 研究の究極的な目標は植物への CCM の導入による CO₂ 固定能力の向上である。本研究をさらに推し進めることで、ラン藻の環境適応機構の知見を深めるとともに、前述の目標達成への一助としたい。

参考文献

1. Price, G. D., Badger, M. R., Woodger, F. J., and Long, B. M. (2008) Advances in understanding the cyanobacterial CO₂-concentrating-mechanism (CCM): functional components, Ci transporters, diversity, genetic regulation and prospects for engineering into plants, *J. Exp. Bot.* 59, 1441-1461.
2. Kaplan, A., and Reinhold, L. (1999) CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50, 539-570.
3. Price, G. D., Sültemeyer, D., Klughammer, B., Ludwig, M., and Badger, M. R. (1998) The functioning of the CO₂ concentrating mechanism in several cyanobacterial strains: a review of general physiological characteristics, genes, proteins and recent advances, *Canadian Journal of Botany* 76, 973-1002.
4. Omata, T., Price, G. D., Badger, M. R., Okamura, M., Gohta, S., and Ogawa, T. (1999) Identification of an ATP-binding cassette transporter involved in bicarbonate uptake in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC 7942, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 13571-13576.
5. Omata, T., Gohta, S., Takahashi, Y., Harano, Y., and Maeda, S. (2001) Involvement of a CbbR homolog in low CO₂-induced activation of the bicarbonate transporter operon in cyanobacteria, *J. Bacteriol.* 183, 1891-1898.
6. Shively, J. M., van Keulen, G., and Meijer, W. G. (1998) Something from almost nothing: carbon dioxide fixation in chemoautotrophs, *Annu. Rev. Microbiol.* 52, 191-230.
7. Shell, M. A. (1993) Molecular biology of the LysR family of transcriptional regulators, *Annu. Rev. Microbiol.* 47, 597-626.
8. van Keulen, G., Girbal, L., van den Bergh, E. R. E., Dijkhuizen, B. L., and Meijer, W. G. (1998) The LysR-type transcriptional regulator CbbR controlling autotrophic CO₂ fixation by *Xanthobacter flavus* is an NADPH sensor, *J. Bacteriol.* 180, 1411-1417.
9. Terazono, K., Hayashi, N. R., and Igarashi, Y. (2001) CbbR, a LysR-type transcriptional regulator from *Hydrogenophilus thermoluteolus*, binds two cbb promoter regions, *FEMS Microbiol. Lett.* 198, 151-157.
10. Dubbs, P., Dubbs, J. M., and Tabita, F. R. (2004) Effector-mediated interaction of CbbR_I and CbbR_{II} regulators with target sequences in *Rhodobacter capsulatus*, *J. Bacteriol.* 186, 8026-8035.
11. Marcus, Y., Harel, E., and Kaplan, A. (1983) Adaptation of the cyanobacterium *Anabaena variabilis* to low CO₂ concentration in their environment, *Plant Physiol.* 71, 208-210.
12. Woodger, F. J., Badger, M. R., and Price, G. D. (2005) Sensing of inorganic carbon limitation in *Synechococcus* PCC 7942 is correlated with the size of the internal inorganic carbon pool and involves oxygen, *Plant Physiol.* 139, 1959-1969.
13. Wang, H. L., Postier, B. L., and Burnap, R. L. (2004) Alterations in global patterns of gene expression in *Synechocystis* sp. PCC 6803 in response to inorganic carbon limitation and the inactivation of *ndhR*, a LysR family regulator, *J. Biol. Chem.* 279, 5739-5751.
14. van Keulen, G., Ridder, A. N., Dijkhuizen, L., and Meijer, W. G. (2003) Analysis of DNA binding and transcriptional activation by the LysR-type transcriptional regulator CbbR of *Xanthobacter flavus*, *J. Bacteriol.* 185, 1245-1252.
15. Figge, R. M., Cassier-Chauvat, C., Chauvat, F., and Cerff, R. (2001) Characterization and analysis of an NAD(P)H dehydrogenase transcriptional regulator critical for the survival of cyanobacteria facing inorganic carbon starvation and osmotic stress, *Mol. Microbiol.* 39, 455-468.
16. Woodger, F. J., Bryant, D. A., and Price, G. D. (2007) Transcriptional regulation of the CO₂-concentrating mechanism in a euryhaline, coastal marine cyanobacterium, *Synechococcus* sp. strain PCC 7002: role of NdhR/CcmR, *J. Bacteriol.* 189, 3335-3347.

解説

葉緑体タンパク質の分解とオートファジー

東北大学大学院農学研究科

石田宏幸、和田慎也

1. はじめに

葉が老化するにつれて光合成能力は徐々に低下していく。これは、光合成を行うオルガネラである葉緑体自身の機能低下と細胞あたりの葉緑体数の減少によるものが大きい。C₃型の草本植物では、葉の全窒素の実に75–80%が葉緑体に分配され、その大部分がタンパク質として主に光合成を担っている¹⁾。中でも光合成の律速因子の1つであるRubiscoは単一タンパク質として葉の全窒素の何と12–30%を占めている。Rubiscoを含めた多くの葉緑体ストロマタンパク質は葉の老化時に盛んに分解され、それらを構成していた窒素は生長部位へ転流し再利用され、最終的には子実へ蓄えられる。またタンパク質の分解により派生するアミノ酸は呼吸に必要なエネルギー源として重要な炭素骨格を供給している。植物にとって葉緑体タンパク質の分解と窒素のリサイクルは土壌に不足しがちな窒素を有効利用し、生長の恒常性を確保するとともに、獲得した窒素を次世代へと引き継ぐ重要な機構である。

2. 1980年代のパイオニア研究—葉緑体と液胞の関係—

液胞は葉緑体とともに植物に特徴的なオルガネラである。葉などの栄養器官では液胞が細胞体積の80%以上を占めている。実際、顕微鏡を覗くと、葉肉細胞の体積の大半は液胞であり、それに追いやられるかのように周りを取りまく細胞質の大部分は葉緑体で埋め尽くされている。栄養器官型の液胞は、糖や重金属イオンなど様々な低分子の可溶性物質を貯蔵するとともに、プロテアーゼをはじめ種々の加水分解酵素を蓄積するのも特徴的である。

1980年代前半に、葉緑体タンパク質は、葉緑体ごと液胞に取り込まれ、分解、リサイクルされるという説が提唱された²⁾。その根拠は、細胞を分画してRubiscoに対する分解活性を測定すると、そのほぼ100%が液

胞に存在すること、葉の老化時に葉緑体数とタンパク質の減少が同時におこること、そして電顕によって葉緑体が液胞に取り込まれているような像がみられること、などである。しかし、葉の老化過程におけるRubisco量の減少と葉緑体数の減少の関係について詳細に調べると、両者は必ずしもパラレルに起こるわけではない(図1)^{3,4)}。Rubiscoは、クロロフィルの分解が進み葉が黄色くなる、いわゆる「可視的老化」が起こる前に盛んに分解される。一方、この老化初期から中期にかけての時期には、葉緑体数の減少はわずかであり、細胞には光合成機能が低下した葉緑体が残ることとなる。葉緑体数の減少が著しいのは、大部分のRubiscoが分解された後の老化後期である。よって葉緑体「丸ごと」の分解だけではRubisco分解を説明できず、他にも葉緑体内での分解経路、あるいはタンパク質を特異的に葉緑体外に排出して分解する経路が存在すると考えら

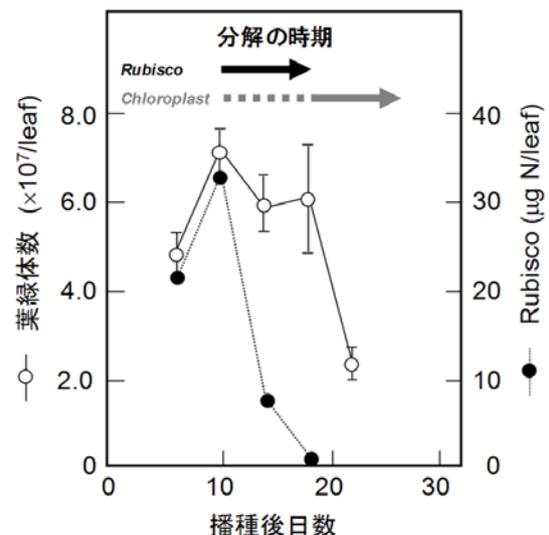


図1 コムギ第一葉における葉緑体数とRubisco量の変動の関係
Mae et al. (1984)³⁾に基づき著者の許可を得て作図。

れてきた。これまでに葉緑体DNA結合性タンパク質、CND41が、Rubiscoを特異的に分解する葉緑体プロテアーゼとして同定されている⁵⁾。そしてごく最近のレビューでも、葉緑体内における特異的なRubisco分解経路の重要性が述べられている⁶⁾。

3. Rubisco-containing body (RCB)⁷⁾

それでは、Rubiscoが葉緑体外に排出されて分解される可能性についてはどうであろうか。この問題は長らく手付かずのまま残されていた。ダイズの老化葉においてplastoglobuliが葉緑体包膜から排出される様子やクラミドモナスの葉緑体包膜の突出像を示す電顕像が発表されたことに刺激され、私達は免疫電顕で老化葉におけるRubiscoの細胞内局在性について調べることにした。その結果、コムギ老化葉では直径0.5-1 μmのRubiscoを含む構造体(Rubisco-containing body、RCBと命名)が細胞質や時には液胞に存在し、その数が老化初期に増加することを見出した。RCBにはRubiscoのほか同じくストロマに局在するグルタミン合成酵素も含まれていたが、チラコイド膜タンパク質については調べた限りで含まれていなかった。RCB内部の電子染色の強度は葉緑体ストロマのそれと酷似していることから、RCBにはおそらくストロマ成分が非選択的に取り込まれていると予想された(その意味ではRCBという名前は必ずしも適切でない)。また形態観察から、RCBは葉緑体包膜に由来すると思われる二重膜を持ち、さらに細胞質ではオートファゴソーム(自食胞、後述)によく似た電子密度の低い構造体に囲まれていることがわかった。この結果から、RCBとオートファジーの関連性が浮かび上がった。

4. オートファジーのメカニズム

オートファジーは出芽酵母の栄養飢餓時に誘導される、細胞内のバルクなタンパク質分解を担う経路であり、真核生物に普遍的に存在する。膜動態の違いから大きく分けて2つの経路が存在し、それらはマクロオートファジー、マイクロオートファジーと呼ばれる⁸⁾。マクロオートファジーでは、オルガネラを含めた細胞質成分が二重膜構造体、オートファゴソームに取り囲まれ、隔離される。オートファゴソームの外膜は液胞膜と融合し、液胞内部に放出された内膜とその内容物(合わせてオートファジックボディと呼ばれる)が

種々の加水分解酵素によって分解される。酵母のオートファジー変異株を用いた分子遺伝学的な解析から、これまでに多数のオートファジーの進行に必須な遺伝子、ATG群が同定されている。一方、マイクロオートファジーでは液胞膜が陥入することで直接的に基質を取り込み、液胞ルーメン内に放出、分解する。これら2つのオートファジーは形態学的には区別されるが、それらの進行過程に必要な遺伝子群は大部分重複している。

植物においても古くから、形態学的にオートファジーの存在が示唆されていた⁹⁾。そして、近年のゲノム解析の進展により、酵母で発見されたATG遺伝子群のホモログがモデル植物シロイヌナズナにも存在すること、そしてそれらの遺伝子群は植物においても酵母と同様に機能していることが明らかにされた¹⁰⁾。

5. RCBはオートファジーによって液胞に輸送される¹¹⁾

前教授らは一貫してコムギを材料にRubisco分解機構の研究をしており、当然、石田(以下、私)もコムギ一筋であった。RCBも最初はコムギ老化葉で見つかった。次のステップとしてRCBとオートファジーの関係を明らかにしたいと思っていた私は、これまでの電顕観察と生化学的な解析に大きな限界を感じた。しかし私には華麗な遺伝学や細胞生物学のバックグラウンドは全くなかった。2002年に初めてモデル植物シロイヌナズナでATG遺伝子の欠損変異体に関する論文が、オートファジーの総本山である大隅研究室から発表された¹²⁾。タイミングが良いことに、基生研で院生向けのバイオサイエンストレーニングコース「オートファジーのモニタリング方法」が開かれることを知り、希望者殺到で助手の私は受講できないのでは、と不安な思いで応募した。しかし幸運なことに、このトレーニングコースへの参加が許され、様々な真核生物のオートファジーを、最新の可視化技術を使い自分自身の目でモニターすることが出来、非常に新鮮であった。意外にも、このトレーニングコースの純粋な応募者は私1人で、他の受講者は「格好がつかない」ということで呼ばれた北大の院生の方々であった(大隅先生、談)。さらに私が幸運だったのはこのトレーニングコースに参加した3ヶ月後、文科省の競争的奨学金により、留学の機会を与えられたことである。私は迷わず、GFPを使って植物のオルガネラ動態を解析した先駆者であ

る Hanson 教授にメールを打った。Hanson 研究室ではペチュニア花卉の老化に関わる遺伝子の研究に参画する傍ら、GFP のイロハを学ぶことができた¹³⁾。話がおおきく回顧録にそれてしまったが、こうした経緯で材料をコムギからナズナにかえて得られた結果が以下の通りである。

葉緑体ストロマに移行する GFP を発現する形質転換体の葉を、液胞の分解活性を抑制するため H⁺-ATPase の阻害剤、コンカナマイシン A を加え暗所で一晚インキュベートすると、液胞内に GFP 蛍光を持つ直径 1 μm 程度の小胞が蓄積した。この GFP 小胞はクロロフィル蛍光を持たず、また二重免疫電顕の観察から Rubisco を含むことが示された。また Rubisco を直接 GFP でラベルした場合にも液胞内に GFP 小胞の蓄積がみられた。よって生きた葉でも RCB を可視化できることがわかった (図 2)。この *in vivo* での RCB 可視化系を使い、いろいろ解析したところ、RCB は成熟葉や老化初期の葉では見られたが展開中の若い葉ではその蓄積量はわずかであった。そしてオートファジーに必須の遺伝子 *ATG5* の欠損変異体では葉齢に関わらず RCB が全く検出されなかった。またオートファゴソームのマーカール GFP-ATG8 と、葉緑体ストロマにターゲットされる赤色蛍光タンパク質 DsRed を両方発現す

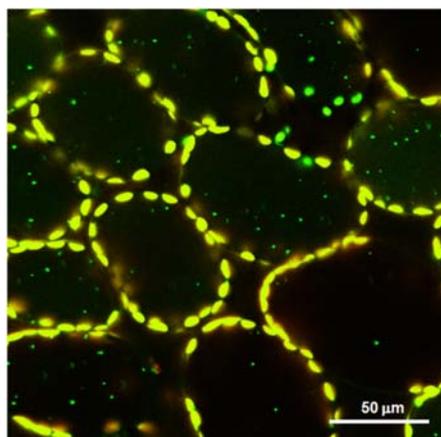


図 2 生葉で可視化された RCB
葉緑体ストロマに移行する GFP を発現する形質転換体の葉をコンカナマイシン A の存在下で暗所、一晚インキュベートし、共焦点レーザー顕微鏡で葉肉細胞を観察した。GFP は葉緑体に加えて、液胞内をランダムに動く小胞 (二重免疫電顕で RCB と判明) にも確認される。写真は GFP 蛍光を緑、クロロフィル自家蛍光を赤で示した際のマージ画像で、両蛍光を持つ葉緑体は黄色で示される。一方、RCB は GFP 蛍光のみを示し、葉緑体とは明確に区別される。

る形質転換体を作成したところ、両者の蛍光は液胞内の小胞において共局在した。すなわち RCB はオートファゴソームを介したマクロオートファジーによって液胞に輸送、分解されているものと結論された。

6. 個別暗処理葉では RCB に加え葉緑体のオートファジーが確認される¹⁴⁾

一般に、葉の老化は個体や切離葉を暗所におくと誘導されることがよく知られる。しかしシロイヌナズナにおいては着生葉を個別に暗処理した際には明確な老化誘導が起こるが、個体全体を暗処理した着生葉では逆に老化の進行が阻害される¹⁵⁾。また個別暗処理葉ではごく短期間に葉緑体のサイズと数の減少が起こることが確認されている¹⁶⁾。そこで和田は、老化のモデル系として個葉暗処理をシロイヌナズナ野生体とオートファジー変異体に施し、オートファジーと葉緑体分解の関係についてより詳しく検証した。個別暗処理葉では、野生体とオートファジー変異体の両方で、老化の遺伝子マーカーである *SAG12* や *SEN1* の発現が上昇し、また *RBCS* や *CAB* など光合成関連遺伝子の顕著な発現低下が確認された。また個別暗処理葉では、両植物で、全窒素、可溶性タンパク質、Rubisco、クロロフィルなどの量が対照に比べて大きく減少していた。よってオートファジー変異体においても野生体と同様に個葉の暗処理で老化が誘導されることが確認された。すでに報告されているように、野生体においては暗処理開始から 5 日間で葉緑体のサイズと細胞あたりの数の有意な減少が認められた。一方、オートファジー変異体では暗処理期間を通して葉緑体数は減少せず一定に推移した。また葉緑体サイズについても、処理後 1 日目でデンプン分解によると思われる急激な減少が見られたが、その後は一定に推移し、野生体とは有意な差が見られた。

葉緑体成分の液胞への移行を可視化するため、先に作成した葉緑体ストロマ移行型 DsRed を発現する形質転換体に個葉暗処理を施した。先の石田らの研究では、RCB を可視化するためにはコンカナマイシン A によって液胞の分解活性を抑制する必要がある。しかし個別暗処理葉では、阻害剤を加えずとも切離直後の葉で RCB が検出された。また液胞内部には一様に DsRed 蛍光がみられ、暗処理で葉緑体成分のオートファジーが活発に起こっていることが推察された。加えて、暗

処理3日目以降の葉では、液胞内に葉緑体が確認された。一方、オートファジー変異体ではRCB、ストロマ移行DsRed、葉緑体の液胞への蓄積は、いずれも全く確認されなかった。以上の結果は、これまで電顕観察から示唆されてきた葉緑体の液胞への移行を生葉で直接示すとともに、その経路がオートファジーによるものであることを明確に示すものである。同時にオートファジーにより葉緑体の一部が小胞RCBとして切り取られ分解されることが葉緑体サイズの縮小を引き起こしている可能性を示唆している(図3)。

酵母では核膜やERはオートファジーにより部分的に分解される例が知られるが、ミトコンドリアやペルオキシゾームなどの球形オルガネラは基本的には「丸ごと」分解されると理解されている¹⁷⁻¹⁹。葉緑体を「部分的」あるいは「丸ごと」に区別して分解する機構は、オートファジーというバルクの分解系を用いながら、非常にユニークな機構であるとも言える。これは植物の独立栄養性を支え、なおかつ光合成以外にも様々な代謝にかかわる葉緑体に特異なオートファジーの機構、なのかもしれない。

7. オートファジー能が欠損しても Rubisco 分解や窒素転流は正常に起こる

Rubiscoは、PSIIの反応中心を構成するD1タンパク質のように常に活発に代謝回転しているわけではなく、葉(葉緑体)の発達時に盛んに合成され、老化とともに分解が始まる²⁰。そして、おそらく多くの光合成系ストロマトンパク質の代謝回転もRubiscoと同様であろう。ストロマトンパク質を一様に取り込み、液胞に輸送するRCB経路は、ストロマトンパク質のバルク分解を担うメカニズムとしてはかなり好都合のように思える。実際、オートファジー変異体では、自然老化過程において「可視的老化」、すなわちクロロフィルの分解が亢進される。また同変異体では窒素飢餓や個体全体の暗処理を長期間かけた際の生存率が大きく低下する。よって、オートファジーが葉の老化の正常な進行や飢餓条件下での葉緑体タンパク質のリサイクルに一定程度の貢献をしていることは間違いない。しかし期待に反して、オートファジー変異体におけるRubiscoの消長は、自然老化初期には野生体と比較して若干抑制がかかるものの、老化期全体を通せば大きな変化はない。また変異体では窒素の転流自体も阻害されない。

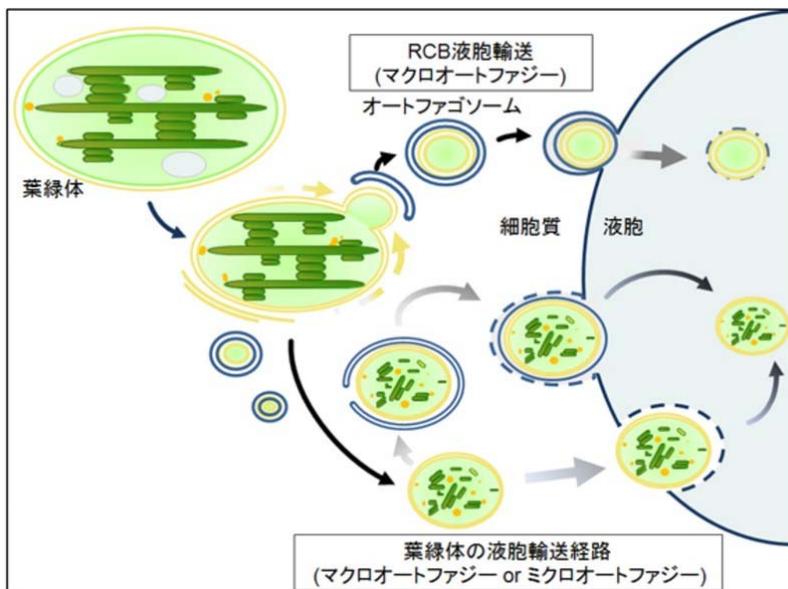


図3 個別暗処理葉におけるオートファジーを介した葉緑体とRCBの液胞への輸送モデル
葉緑体は、RCBの形成に包膜を消費するため、サイズが減少していくと考えられる。また付随して、葉緑体は楕円形から球状に変形することから、内部の骨格となるデンプン顆粒や、チラコイド膜の分解が生じていると思われる。RCBは、細胞質においてオートファゴソームによって隔離され、マクロオートファジーによりすみやかに液胞内へ放出される。一方で葉緑体を液胞へ輸送する経路は、これまで観察されてきたオートファゴソームのキャパシティを考慮すると、収縮後の葉緑体であっても取り込みは難しいと考えられる。そのため、葉緑体の輸送は、マクロオートファジーの他に、液胞膜の陥入によるミクロオートファジーによる可能性が考えられる。

この結果は、野生体の自然老化葉における RCB 経路の寄与が、あるとしても非常に小さいか、あるいはオートファジーを欠損した変異体では、RCB 経路を補完する別の分解系が亢進されている、という2つの可能性を示唆している。

8. おわりに

葉の老化は遺伝的なプログラム (aging) のほかに、栄養飢餓、遮光、その他さまざまな外的要因に影響を受け進行する極めて複雑なプロセスである。現在、私たちは RCB/葉緑体のオートファジーに関わる分子実態をさらに詳細に解析すると同時に、様々な条件下における本経路の定量解析を進めている。しかし、結局のところ、葉緑体内の特異的な分解系を含めたすべての役者がそろって、どの経路がどれだけ葉緑体タンパク質のリサイクルを担っているのか、といった問いに答えることは難しい。せっかく見つけた RCB 経路を大切に思い、育てつつも、「葉の老化とタンパク質分解」の本質にせまる、新たな研究の展開が必要となろう。

本稿は、吉本光希博士 (理化学研究所)、大隅良典教授 (基礎生物学研究所)、Daniel Reisen 博士 (Bitplane AG)、Maureen Hanson 教授 (Cornell 大学)、西澤直子教授 (東京大学) ならびに東北大学植物栄養生理学研究室、千葉啓、泉正範、谷野祐一、牧野周教授、前忠彦名誉教授、各氏との共同研究の成果について解説したものである。

参考文献

- Makino, A., and Osmond, B. (1991) Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat, *Plant Physiol.* 96, 355-362.
- Wittenbach, V. A., Lin, W., and Herbert, R. R. (1982) Vacuolar localization of proteases and degradation of chloroplasts in mesophyll protoplasts from senescing primary wheat leaves, *Plant Physiol.* 69, 98-102.
- Mae, T., Kai, N., Makino, A., and Ohira, K. (1984) Relation between ribulose biphosphate carboxylase content and chloroplast number in naturally senescing primary leaves of wheat, *Plant Cell Physiol.* 25, 333-336.
- Ono, K., Hashimoto, H., and Katoh, S. (1995) Changes in the number and size of chloroplasts during senescence of primary leaves of wheat grown under different conditions, *Plant Cell Physiol.* 36, 9-17.
- Kato, Y., Murakami, S., Yamamoto, Y., Chatani, H., Kondo, Y., Nakano, T., Yokota, A., and Sato, F. (2004) The DNA-binding protease, CND41, and the degradation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in senescent leaves of tobacco, *Planta* 220, 97-104.
- Feller, U., Anders, I., and Mae, T. (2008) Rubiscolytics: fate of Rubisco after its enzymatic function in a cell is terminated, *J. Exp. Bot.* 59, 1615-1624.
- Chiba, A., Ishida, H., Nishizawa, N. K., Makino, A., and Mae, T. (2003) Exclusion of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from chloroplasts by specific bodies in naturally-senescent leaves of wheat, *Plant Cell Physiol.* 44, 914-921.
- Klionsky, D. J., and Ohsumi, Y. (1999) Vacuolar import of proteins and organelles from the cytoplasm, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 15, 1-32.
- Moriyasu, Y., and Ohsumi, Y. (1996) Autophagy in tobacco suspension-cultured cells in response to sucrose starvation, *Plant Physiol.* 111, 1233-1241.
- Yoshimoto, K., Hanaoka, H., Sato, S., Kato, T., Tabata, S., Noda, T., and Ohsumi, Y. (2004) Processing of ATG8s, ubiquitin-like proteins, and their deconjugation by ATG4s are essential for plant autophagy, *Plant Cell* 16, 2967-2983.
- Ishida, H., Yoshimoto, K., Izumi, M., Reisen, D., Yano, Y., Makino, A., Ohsumi, Y., Hanson, M. R., and Mae, T. (2008) Mobilization of Rubisco and stromal-localized fluorescent proteins of chloroplasts to the vacuole by an ATG gene-dependent autophagy process, *Plant Physiol.* 148, 142-155.
- Hanaoka, H., Noda, T., Shirano, Y., Kato, T., Hayashi, H., Shibata, D., Tabata, S., and Ohsumi, Y. (2002) Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an Arabidopsis autophagy gene, *Plant Physiol.* 129, 1181-1193.
- Xu, Y., Ishida, H., Reisen, D., and Hanson, M. R. (2006) Upregulation of a tonoplast-localized cytochrome P450 during petal senescence in *Petunia inflata*, *BMC Plant Biol.* 6, 8.

14. Wada, S., Ishida, H., Izumi, M., Yoshimoto, K., Ohsumi, Y., Mae, T., and Makino, A. Autophagy plays a role in chloroplast degradation during senescence in individually darkened leaves, *Submitted*.
15. Weaver, L. M., and Amasino, R. M. (2001) Senescence is induced in individually darkened Arabidopsis leaves but inhibited in whole darkened plants, *Plant Physiol.* *127*, 876-886.
16. Keech, O., Pesquet, E., Ahad, A., Askne, A., Nordvall, D., Vodnala, S. M., Tuominen, H., Hurry, V., Dizengremel, P., and Gardestrom, P. (2007) The different fates of mitochondria and chloroplasts during dark-induced senescence in Arabidopsis leaves, *Plant Cell Environ.* *30*, 1523-1534.
17. Takeshige, K., Baba, M., Tsuboi, S., Noda, T., and Ohsumi, Y. (1992) Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction, *J. Cell Biol.* *119*, 301-311.
18. Roberts, P., Moshitch-Moshkovitz, S., Kvam, E., O'Toole, E., Winey, M., and Goldfarb, D. S. (2003) Piecemeal microautophagy of nucleus in *Saccharomyces cerevisiae*, *Mol. Biol. Cell* *14*, 129-141.
19. Hamasaki, M., Noda, T., Baba, M., and Ohsumi, Y. (2005) Starvation triggers the delivery of the endoplasmic reticulum to the vacuole via autophagy in yeast, *Traffic* *6*, 56-65.
20. Mae, T., Makino, A., and Ohira, K. (1983) Changes in the amounts of ribulose bisphosphate carboxylase synthesized and degraded during the life span of rice leaf (*Oryza sativa* L.), *Plant Cell Physiol.* *24*, 1079-1086.

研究紹介

緑藻クラミドモナスの光化学系 I 複合体の

PsaH, I, L, O サブユニットの解析

岡山大学大学院自然科学研究科

大西岳人

はじめに

酸素発生型光合成の電子伝達系には2つの光化学系（光化学系1および2）が機能している。高等植物および藻類の光化学系I (PSI)は、14 - 15のサブユニットから構成されるコア複合体に、4-9種の集光性アンテナタンパク (LHCI) が結合し、PSI-LHCI 超分子複合体を形成している。これまでにシアノバクテリアのPSI複合体とエンドウのPSI-LHCI複合体の結晶構造が解析された^{1, 2)}。図1に示したのは、PSI-LHCIのサブユニット構造である。PSIの反応中心の電子伝達成分P700、A₀、A₁、F_XはPsaAとPsaBから構成されるヘテロ二量体に結合し、最終電子受容体のF_AとF_BはPsaCに結合する。その他に、高等植物には11の小型サブユニットPsaD、E、F、G、H、I、J、K、L、Nが、シアノバクテリアには9の小型サブユニットPsaD、E、F、I、J、K、L、M、Xが存在する。PsaC、D、Eはコア複合体のストロマ側に配置し、フェレドキシンとの結合部位を形成している。PsaFはプラストシアニンとの

結合部位の形成しており、PsaJはPsaFに隣接している。PsaNはコア複合体のルーメン側にPsaFに近接した位置に存在する。PsaGとPsaKはPSIコアに結合するLHCI4量体の両端にそれぞれ存在し、LHCIのコア複合体への結合を安定化している³⁾。コア複合体のLHCI結合部位の反対側に位置するPsaH、I、Lの機能は、PSIのダイナミックな構造と機能調節に関与しているという興味深い結果が最近の研究から明らかにされつつある。PsaH、PsaL、PsaIはそれぞれ1、3、1本の膜貫通ヘリックスをもち、隣り合って存在する。シアノバクテリアでは、PsaHを欠くこの領域がPSIコア複合体の3量体形成に関与していると考えられている⁴⁾。高等植物では、PsaHとPsaLがステート遷移に伴うLHCIIの結合に関与するらしい⁵⁾。さらにシロイヌナズナのPSI標品で発見された約10kDaのPsaOはPsaLと化学架橋し、ステート遷移に伴うLHCIIの結合に関与することも示唆された^{6, 7)}。

我々はゲノム解析が進展し、分子遺伝学や生化学的

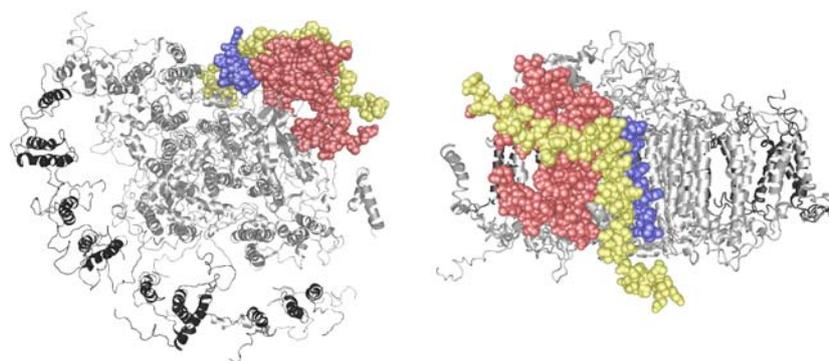


図1 エンドウ (*Pisum sativum*) のPSIの結晶構造²⁾

PsaA-G, J, K, Nは明るい灰色で、LHCIは濃い灰色で、PsaHは黄で、PsaIは青で、PsaLは赤で表している。左はストロマの上側から見た構造で、右はPsaH, I, Lの横側から見た構造。PsaL (赤)とPsaI (青)がコアに隣接し、PsaH (黄)はその外側に存在する。

な解析が容易なモデル生物である緑藻クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) を用いて、PSI コア複合体の構造と機能の解析を進めてきた⁸⁾。その過程で、ほとんどすべての PSI と LHCI サブユニットに対する抗体を作製した。今回は、PSI 複合体の構造と機能のダイナミクスを解析するため、PsaH, I, L, O に着目して解析を進めたので報告する。

PsaO の生化学的な解析

PsaO の SDS-PAGE における泳動度が PsaN とほぼ同じであるため、PSI 標品に PsaO が存在することは見逃されてきた。ところが、シロイヌナズナの PsaN 欠損株から単離した PSI 標品のサブユニット組成の解析で PsaO の存在が初めて見出された⁶⁾。2本の膜貫通ヘリックスをもつと考えられ、シロイヌナズナの PsaL および PsaH 欠損株の解析と化学架橋の実験から、PsaO は PsaL と近接すると考えられている⁷⁾。しかし、エンドウの PSI-LHCI の結晶構造には PsaO の存在部位が明らかにされていない²⁾。PSI 複合体の周辺部に存在するため、構造解析ができなかったのかもしれない。もしくは、比較的遊離しやすいサブユニットなので、精製の過程で失われたのかもしれない。

クラミドモナスのゲノムのデータベースには *psaO* 遺伝子と相同な遺伝子が存在する⁹⁾。そこで、PsaO に対する抗体を用いて、チラコイド膜タンパク質のウェスタン分析を行った。その結果、PsaO はチラコイド膜に存在することが分かった (図2)。更に、PSI 欠損株

(Δ -PsaA/B)のチラコイド膜における PsaO の蓄積量を調べた。欠損株には PsaH, I, L は検出されなかった (5-10%以下) が、PsaO は野生株の 30%まで減少したが蓄積していた(図2)。一般的に、反応中心が欠損すると周辺に結合する他の PSI サブユニットは安定に蓄積しないことが知られている¹⁰⁾。したがって、クラミドモナスにおいても PsaO は PSI の構成サブユニットであり、反応中心が欠損したことにより不安定になり蓄積量が大きく減少したと考えられる。しかし、野生株のチラコイド膜をドデシルマルトシドで可溶化し、ショ糖密度勾配超遠心でクロロフィルタンパク質を分離すると、PsaO は PSI 複合体が分離される A-3 には検出されず、遊離したタンパク質が分離されるショ糖密度勾配の上部に検出された (図3)。この結果は、PsaO が PSI サブユニットであるとしても、PSI コアとの結合は弱く、界面活性剤による可溶化の過程で容易に遊離することを示している。

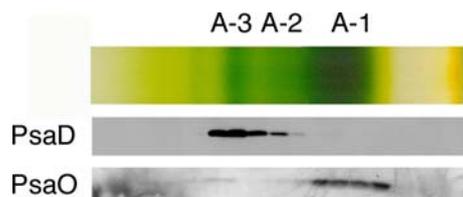


図3 ショ糖密度勾配超遠心で分離した PSI 標品の分析
チラコイド膜を1%のドデシルマルトシドで可溶化後、0.4-1.3M のショ糖密度勾配超遠心でタンパク複合体を分離した。各画分のポリペプチドは SDS-PAGE で分離して、ウェスタン分析を行った。PSI は A-3 の緑のバンドに、PsaO は A-1 の緑のバンド付近の画分に分離する。

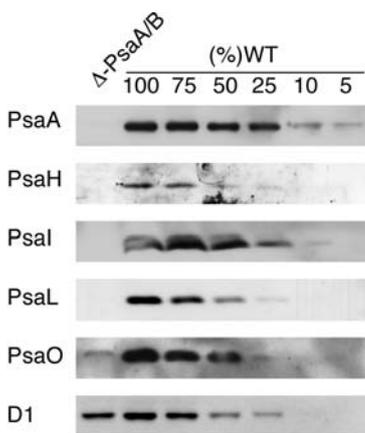


図2 PsaA/B 欠損株のチラコイドに存在するポリペプチドの分析
SDS-PAGE でチラコイド膜のペプチドを分離して PSI の5種と PSII の D1 に対する抗体を用いてウェスタン分析を行った。右は野生株のチラコイドの 100%、75%、50%、25%、10%、5%の希釈系である。

そこで PsaO の結合強度を調べるために、チラコイド膜をカオトロピック試薬で処理し、サブユニットの遊離を調べた。野生株のチラコイド膜を 2M KSCN で 30分処理してから、遠心でチラコイド膜を回収し、ウェスタン分析で各 PSI サブユニットの蓄積量を調べた (図4)。PSI 反応中心サブユニットの PsaA は 11本の膜貫通ヘリックスを持ち、膜に強固に結合しているので遊離しなかった。PsaI と PsaL は反応中心に安定に結合しているためか、ほとんど遊離しなかった。これに反して、PsaH は KSCN 処理では完全に遊離した。PsaH の疎水領域は PsaI と PsaL と隣接しているが、KSCN はその結合を容易に切断すると考えられる。PsaO は約 50%が遊離し、チラコイド膜への結合はやや弱いことが分かった。

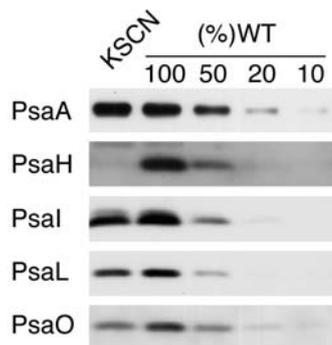


図4 カオトロピック試薬 KSCN による PSI サブユニットの遊離
野生株のチラコイド膜を 2M KSCN で 30 分処理、遠心でチラコイド膜画分を回収し、SDS-PAGE でペプチドを分離してウェスタン分析を行った。右は野生株のチラコイドの 100%、50%、20%、10% の希釈系である。

以上の結果は、クラミドモナスの PsaO が PSI サブユニットであることを示すには不十分である。そこで、PsaO と PSI サブユニットとの化学架橋を試みた。チラコイド膜を 0.1mg/ml Disuccinimidyl suberate (DSS) および 1mg/ml Dimethyl suberimidate-2HCl (DMS) で処理した後、ポリペプチドを可溶化し、SDS-PAGE で分離し、架橋産物をウェスタン分析で同定した(図 5)。両者とも架橋距離は約 11 Å でタンパクのアミノ基同士を架橋する。DSS を用いると PsaO と PsaL が架橋した産物が検出された。さらに DMS を用いると PsaO と PsaH の架橋産物が検出された。したがって、PsaO は PSI サブユニットである PsaL と PsaH に隣接することが分かった。カオトロピック試薬で処理したときに、PsaH が完全に遊離しても PsaO が残っていたので、PsaO は PsaH が遊離しても PSI と結合できる位置に存在すると考えられる。シアノバクテリアの PSI 複合体には PsaI の近傍に PsaM が存在する。更に、一部の藻類は PsaO と PsaM をもつことが知られている。したがって、PsaI の近傍に PsaO が存在するとは考えにくい。したがって、PsaO の 2 本の膜貫通ヘリックスと PsaH の膜貫通ヘリックスの間に PsaL の膜貫通ヘリックスが存在するのではないかと考えられる。PsaH の膜貫通ヘリックスは、PsaI と PsaL のヘリックスの間に位置し、N 末端側の親水領域は、PsaL の膜貫通領域のストロマ側の縁を回り込むように伸び、PsaD の N 末端近傍にまで達している (図 1 右)。したがって、PsaO は PsaH の N 末端と隣接することになるので、化学架橋されたのであろう。

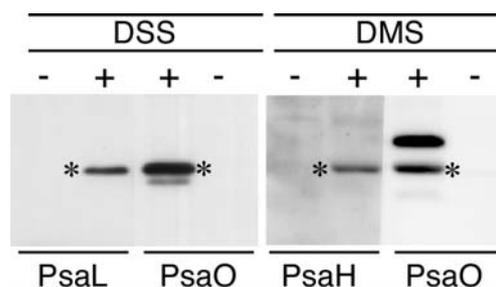


図5 化学架橋による PsaO の存在部位の同定
野生株のチラコイド膜に DSS および DMS で、架橋処理した後、SDS-PAGE で分離して、ウェスタン分析を行った。-は架橋処理をしていないチラコイド、+は架橋処理したチラコイドを示す。*は目的の架橋産物。

クラミドモナスには構造と機能の異なる 2 種類の PSI が存在する

ステート遷移は、PSI と PSII の間に励起エネルギーを再分配する機構で、2つの光化学系の活性のバランスを補正し、電子伝達活性を効率化する機構である。アンテナ複合体 (LHCII) が PSI と PSII の間を移動し、2つの光化学系のアンテナサイズを変化させると考えられている¹¹⁻¹³⁾。ステート遷移の活性が高いクラミドモナスは、ステート遷移の分子機構を解析する上ですぐれたモデル生物である¹⁴⁾。

クラミドモナスにおいてステート遷移に関与する PSI サブユニットを解析するため、ステート 1 および 2 に固定した細胞から単離したチラコイド膜を可溶化し、シヨ糖密度勾配超遠心法分離し、PSI 複合体および PsaD と PsaH の分布をウェスタン分析で調べた(図 6)。ステート 1 のチラコイド膜からは、3本のクロロフィルタンパク質のバンド (A-1、A-2、A-3) が分離された。A-1 は LHCII、A-2 は PSII コア複合体、A-3 は PSI-LHCI をそれぞれ含む。一方、ステート 2 のチラコイド膜からは上記の 3本に加えて、PSI-LHCI/II を含む A-3' が A-3 よりシヨ糖密度が高い画分に分離された¹⁵⁾。確かに、ステート 1 では PsaD は A-3 にだけ分離するが、ステート 2 では A-3 に加えて A-3' にも分離する。

ステート 1 のチラコイド膜における PsaH の分布を解析すると、チラコイド膜の可溶化と精製の過程で遊離することなく A-3 に分離される PSI 複合体と結合していた。しかし、ステート 2 では PsaH は予想外の分布を示すことが分かった。つまり、A-3 には存在せず

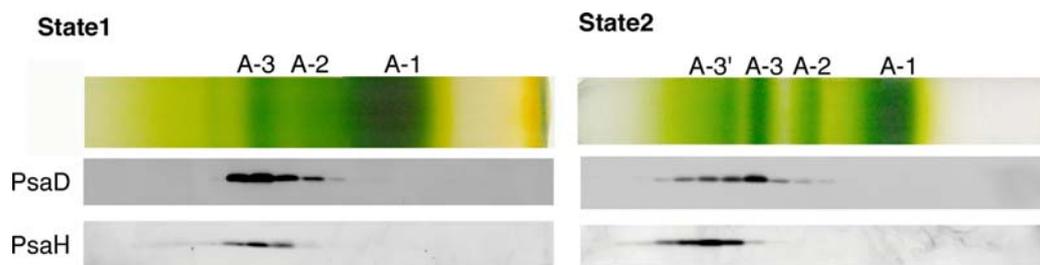


図6 ステート遷移によるタンパクの大きさの変化
ステート1と2に固定した細胞から単離したチラコイド膜を1%のドデシルマルトシドで可溶化後、0.4-1.3Mのショ糖密度勾配超遠心でタンパク複合体を分離した。各画分のポリペプチドはSDS-PAGEで分離して、ウェスタン分析を行った。

A-3'にのみ存在した。この結果は、クラミドモナスのチラコイド膜には少なくとも2種類のPSI複合体が存在することを示している。そして、PsaHを保持するPSI複合体のみが、ステート2のときにLHCII (CP26、CP29、Lhcbm5)を結合すると考えられる¹⁵⁾。しかし、ステート1の時は、すべてのPSI複合体はLHCIIを結合せずA-3画分に分離されるので、PsaHを保持したPSI複合体とPsaHを保持しないPSI複合体が混在していると考えられる。この結果は、ステート2のときにPsaHとLHCIIが化学架橋するという報告と一致する¹⁶⁾。

クラミドモナスにおいて一部のPSI複合体にPsaHが存在しないのは、PsaHの合成がPSI複合体の合成に比べて遅いからであると考えられる。もしそうであるなら、PSI複合体の活発な合成が終了した培養の定常期の細胞では、PsaHの蓄積量が追いつくはずである。しかし、対数増殖期と定常期の細胞のPsaHをウェスタン分析により解析したところ、蓄積量に差は認められなかった (data not shown)。したがって、PsaHの蓄積量を少なく調節する分子機構がクラミドモナスには備わっているのかもしれない。このような調節機構の存在を調べることは今後の興味深い課題である。

まとめ

強光下では代謝回転の速いPSII複合体に比べ、PSI複合体の構造は安定で変化しないと考えられてきた。しかし、PSIはステート遷移に伴い、LHCIIを可逆的に結合したり、直線的電子伝達系と循環的電子伝達系の切り替え機能を果たしたりするため、その構造と機能がダイナミックに変化することが分かってきた。特

に、PsaH, PsaI, PsaLおよびPsaOが形成するクラスターは、PSIの構造と機能の制御に大きく関わっていると考えられる。このような観点から、この部分の構造と機能の解析は、重要となると考えられる。

参考文献

1. Jordan, P. et al. (2001) Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution, *Nature* 411, 909-917.
2. Amunts, A., Drory, O., and Nelson, N. (2007) The structure of a photosystem I supercomplex at 3.4Å resolution, *Nature* 447, 58-63.
3. Moseley, J. L., Allinger, T., Herzog, S., Merchant, S., and Hippler, M. (2002) Adaptation to Fe-deficiency requires remodeling of the photosynthetic apparatus, *EMBO J.* 21, 6709-6720.
4. Chitnis, V. P., and Chitnis, P. R. (1993) PsaL subunit is required for the formation of photosystem I trimers in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803, *FEBS Lett* 336, 330-334.
5. Lunde, C., Jensen, P. E., Haldrup, A., Knoetzel, J., and Scheller, H. V. (2000) The PSI-H subunit of photosystem I is essential for state transitions in plant photosynthesis, *Nature* 408, 613-615.
6. Knoetzel, J., Mant, A., Haldrup, A., Jensen, P. E., and Scheller, H. V. (2002) PSI-O, a new 10-kDa subunit of eukaryotic photosystem I, *FEBS Lett.* 510, 145-148.
7. Jensen, P. E., Haldrup, A., Zhang, S., and Scheller, H. V. (2004) The PSI-O subunit of plant photosystem I is involved in balancing the excitation pressure between the two photosystems, *J. Biol. Chem.* 279,

- 24212-24217.
8. 高橋 裕, 福澤 秀 (2000) モデル生物として注目される緑藻クラミドモナス, *蛋白質 核酸 酵素* 45, 1937-1945.
 9. Merchant, S. S. et al. (2007) The Chlamydomonas Genome Reveals the Evolution of Key Animal and Plant Functions, *Science* 318, 245-251.
 10. Girard-Bascou, J., Choquet, Y., Schneider, M., Delosme, M., and Dron, M. (1987) Characterization of a chloroplast mutation in the *psaA2* gene of *Chlamydomonas reinhardtii*, *Curr. Genet.* 12, 489-495.
 11. Finazzi, G. (2005) The central role of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in revealing the mechanism of state transitions, *J. Exp. Bot.* 56, 383-388.
 12. Rochaix, J. D. (2002) *Chlamydomonas*, a model system for studying the assembly and dynamics of photosynthetic complexes, *FEBS Lett.* 529, 34-38.
 13. Rochaix, J. D. (2007) Role of thylakoid protein kinases in photosynthetic acclimation, *FEBS Lett.* 581, 2768-2775.
 14. Delepelaire, P., and Wollman, F. A. (1985) Correlations between Fluorescence and Phosphorylation Changes in Thylakoid Membranes of *Chlamydomonas-Reinhardtii* In vivo - a Kinetic-Analysis, *Biochimica Et Biophysica Acta* 809, 277-283.
 15. Takahashi, H., Iwai, M., Takahashi, Y., and Minagawa, J. (2006) Identification of the mobile light-harvesting complex II polypeptides for state transitions in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 477-482.
 16. Zhang, S., and Scheller, H. V. (2004) Light-harvesting complex II binds to several small subunits of photosystem I, *J. Biol. Chem.* 279, 3180-3187.

新刊図書

Photosynthesis. Energy from the Sun 14th International Congress on Photosynthesis

Allen, J.F.; Gantt, E.; Golbeck, J.H.; Osmond, B. (Eds.)

Springer, 2008, XXXVIII, 1602 p. In 2 volumes, not available separately, Hardcover

ISBN: 978-1-4020-6707-5

<http://www.springer.com/life+sci/plant+sciences/book/978-1-4020-6707-5>

Table of contents:

Bioenergy and photosynthesis.- Reaction centers.- Structure and function of light harvesting complexes.- Oxygen evolution.- Electron transport operation, organisation and regulation.- Assembly and repair of pigment-protein complexes.- Membrane dynamics and organization.- CO₂ diffusion, gas exchange and the role of stomata.- CO₂-concentrating mechanisms.- CAM and C4.- The C3 cycle Limitation and regulation.- Starch and sucrose.- Interactions between electron transport and stromal reactions.- Metabolic integration.- Regulation of light harvesting.- Metabolite transport and intracellular interactions.- Biogenesis of photosynthetic apparatus.- Origin and evolution of photosynthetic systems.- Organelle communication.- Photosynthesis A fundamental tool for modern agriculture and forestry.- Artificial photosynthesis.- Perception of the environment and signalling.- Global climate change.- Photosynthetic mechanisms under stress regulation and improvement.- Photosynthesis education.

Photosynthetic Protein Complexes

A Structural Approach

Fromme, Petra (Ed.)

Wiley-VCH, Weinheim, 2008, XXVI, 360 Pages, Hardcover

ISBN-10: 3-527-31730-9

ISBN-13: 978-3-527-31730-1

<http://www.wiley-vch.de/publish/en/books/forthcomingTitles/LS00/3-527-31730-9/?sID=5e7f5ea6d660ea82f7652adb94212f71>

Contents:

Overview on Photosynthesis (Fromme, Grotjohann); Structure and Function of Cyanobacterial Photosystem I (Krauß); A Glimpse into the Atomic Structure of Plant Photosystem I (Amunts, Drory, Nelson); Structure and Function of Photosystem II (Shen, Henmi, Kamiya); Current Models and Mechanism of Water Splitting (McCarrick, Britt); Supercomplexes of Photosystem I and II with External Antenna Complexes in Cyanobacteria and Plants (Dekker, Boekema); Structure, Spectroscopy, and Function of the Cytochrome b6f Complex: Heme cn and n-side Electron and Proton Transfer Reactions (Cramer, Baniulis, Yamashita, Zhang, Zatsman, Hendrich); Plastocyanin and Cytochrome c6: the Soluble Electron Carriers between the Cytochrome b6f Complex and Photosystem I (Díaz-Quintana, Hervás, Navarro, De la Rosa); The Structure of the H⁺-ATP-Synthase from Chloroplasts (Böttcher, Gräber); Structure of the Light Harvesting Complex II (Liu, Chang); Structure of the Phycobilisome Antennae in Cyanobacteria and Red Algae (Adir); Reaction Centers from Purple Bacteria (Allen, Williams); Anoxygenic type I Photosystems and Evolution of Photosynthetic Reaction Centers (Hohmann-Marriott, Blankenship); The Structure of Purple Bacterial Antenna Complexes (Cogdell, Gardiner, Gabrielsen, Southall, Roszak, Isaacs, Fujii, Hashimoto); Ferredoxin in Photosynthesis (Fromme).

新刊図書

光合成とはなにか — 生命システムを支える力 —

園池公毅 (著)

ブルーバックス B-1612

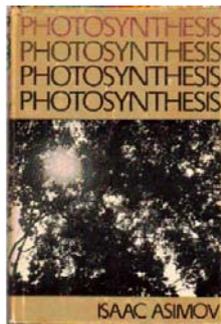
講談社 ¥ 987 (税込) ISBN: 978-4-06-257612-3

光合成の教科書を振り返る — 「光合成とはなにか」まで —

東京大学大学院新領域創成科学研究科 園池公毅

この9月に出版した「光合成とはなにか」という本について著者の口上を述べよ、との野口編集長の仰せなので、それにこと寄せて、少し昔の教科書を振り返ってみることにした。

海外では、Hall と Rao による "Photosynthesis" (Cambridge University Press, 1999) などの正統的な教科書の他に、一般向けの面白い本がいくつか出ている。例えばSF作家として有名なアイザック・アシモフによる "Photosynthesis" (Basic Books)。この人は、「銀河帝国の興亡」といったSFから、「黒後家蜘蛛の会」などのミステリ、そして科学解説書を山ほど書いた人であるが、ボストン医科大学の生化学の准教授でもあった。1968年に書かれたこの本は、エネルギーによって物質が循環するという側面から光合成を一般向けに解説したもので、おそらくは高校生ぐらいから読める素晴らしい本で、その平易な語り口は今回の本を書くにあたって大いに参考になった。

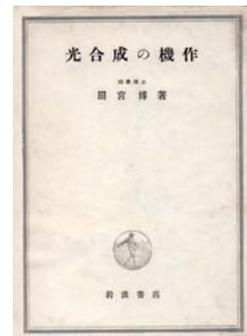


そしてとてつもなく異色なのが Wilbert Veit, Jr. という人の書いた "The Music of Sunlight" (Sunlight Books) という本である。2000年に出版された本で、内容は、光合成におけるトムキンスものといった感じである。ガモフの有名な物語では、良識あるトムキンス氏が奇妙な物理の世界



に引き込まれていく中で相対性理論や量子力学が紹介されるが、本書では、しゃべる形容詞の8割が "cool" という男の子 (中学生ぐらいか?) が、電子となって光合成の電子伝達の世界を経験するというもので Govindjee や John Whitmarsh の名前が助言者として載っている。主人公がシトクロム *b₆f* 複合体上を通る際に、一度目はQサイクルによってプラストキノールに戻ってしまい、二度目によりやくプラストシアニンに行くところなど、尋常ではないこだわりぶりが細部に見られる。一体このような本を誰が読むのか、という疑問は禁じ得ないが、このような本が出版されるところが懐の深さだろう。

一方、日本では、やはり正統的な教科書が主流である。古いところから田宮博著「光合成の機作」。これは岩波書店から戦前の1943年に出た本で、内容よりもまずその文体が今となっては興味深い。「光合成は生物によって行なはれるものであるに違ひないが、自然科学者はこれを玄妙不可思議な「生命」現象として祭壇に祭り上げる必要は毛頭ない」、「然し吾々の解析が進むにつれて未知の事實は次々と現はれ、自然は愈々その技術の諜察を拒むが如く見える」といった調子である。内容的にも、ようやく Hill 反応が発見されたばかりで Z スキームもカルビン回路もわかっていなかった時代の本である。記述されていることが、現在の何に対応するのかもよくわからない場合が少なくない。



同じ「光合成の機作」という題名の本が共立出版から藤茂宏先生などの編集で1979年に出ているが、こちらは当時の最先端の研究を網羅した和文総説集である。20のトピックが取り上げられており、今、そのトピックを見ると、村田紀夫先生



による「クロロフィルの存在状態とクロロフィルフォーム」、山下魏先生による「トリス処理をめぐる諸問題」など、当時の研究の興味の方向性が思い出されてなつかしい。ちょうど筆者が大学院生のころに、高橋裕一郎さんなどのおなじ加藤研究室の大学院生に、当時研究室の助手だった佐藤和彦さんと山岸明彦さん、隣の村田研究室の宮尾光恵さん、東京理科大学の榎並勲さんも加えてこの本を輪講したものだだった。

藤茂先生の本といえば、裳華房から1973年に出た「光合成」およびUP Biologyから1982年に出た「光合成」がある。前者は実は読んでいないのだが、後者は愛読した。その副題に「明反応研究の流れ」とあるように研究の歴史的展開を主軸にしている面白い。「藤茂節」とでも呼びたい独特の調子が全編を貫いている。おもて表紙の見返しには光合成研究の「系統樹」が載せられていて楽しい。UP Biologyには西田晃二郎先生が1986年に「光合成の暗反応」を書いておられ、こちらは正統的で、発見の歴史的経緯を踏まえたわかりやすい教科書であった。

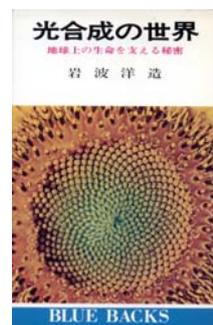


この他、加藤栄先生の「光合成入門」（共立出版、1973年）が光合成全般を扱った教科書の中では良く項目が整理されており、極めて平易でわかりやすい。一方、これと対極にあるのが、西村光雄先生の「光合成」（岩波書店、1987年）で、その内容の詳細なことは他の教科書と比べても群を抜いているように思う。生物物理的な側面も比較的詳しく書き込んであり、学部学生には歯が立たないかも知れないが、研究室にリファレンスとして置いて



ておきたい本であった。他に、朝倉書店の植物生理学講座のシリーズがあるが、これは、皆さんおなじみだと思うので、特に内容には触れない。これらの日本語教科書はいずれも読者の対象は大学院生か、せいぜい専門学部生以上であろう。そこで、大学1、2年生からすらすら読めることを目指して書かれたのが「光合成の科学」（東京大学出版会、2007年）である。東京大学の佐藤直樹さんが音頭を取って、駒場の先生を中心として出版された。筆者も著者の一人であるが、「学生が一人で読める教科書」としては成功したのではないかと思っている。

一方、一般向けの光合成の本となると、過去に唯一あったのが岩波洋造先生の「光合成の世界」（講談社ブルーバックス、1970年）である。40年近く前の本でありながら、一般向けの啓蒙書として読む限りにおいてはそれほど古い印象を与えない。



岩波先生は写真を趣味にしていたようで、光化学反応と酵素反応の温度依存性の違いを、写真の感光の反応と現像の反応にたとえて説明するところなどは、なるほどと感心させる。内容自体はかなり多岐にわたり、光合成を縦軸に、植物の生き方をさまざまに切り取っている。

しかし、40年前の情報に基づいた本しかないというのは、いかんせん寂しいということで、今年、同じ講談社ブルーバックスから出したのが「光合成とはなにか」という本である。高校生でも読める文章で、かつ、教科書として基本的な事実は押さえること、というのが編集



部からの要請であった。上記の教科書の語り口を参考にしながら取り組んだが、やはりこの二つの両立は難しく、結局、高校生にはやや難しい本に仕上がったかも知れない。ただ、内容的にはその分、かなり書き込んだので、学部の講義に使ってもよいような内容となっている。千円札でお釣りが来る教科書とも言えるので、一度ご覧頂ければ幸いです。

*** Information ***

事務局からのお知らせ

第9回日本光合成研究会シンポジウム・総会のお知らせ

第9回日本光合成研究会シンポジウム及び総会を、2009年5月29日(金)～30日(土)、東大駒場キャンパスにて行います。総会では、日本光合成研究会から日本光合成学会への移行の是非について議論を行う予定です。皆様、是非ご参加下さい。

★日本光合成研究会役員の新任のお知らせ

平成20年12月付けで、大岡宏造(大阪大学)、藤田祐一(名古屋大学)、野口 巧(筑波大学)、鈴木祥弘(神奈川大学)、高橋裕一郎(岡山大学)が任期満了につき常任幹事を退任いたします。

★入会案内

本会へ入会を希望される方は、会費(個人会員年会費:¥1,500、賛助法人会員年会費:¥50,000)を郵便振替(加入者名:日本光合成研究会、口座番号:00140-3-730290)にて送金の上、次ページの申し込み用紙、または電子メールにて、氏名、所属、住所、電話番号、ファックス番号、電子メールアドレス、入会希望年を事務局までお知らせください。

★会費納入のお願い

宛名シールの下に、会費未納の年が印字されています。お手元の封筒の宛名シールに記載された年をご確認の上、会費納入にご協力をお願いいたします。

記事募集

日本光合成研究会では、会誌に掲載する記事を会員の皆様より募集しています。募集する記事の項目は以下の通りです。

- トピックス: 光合成及び関連分野での纏まりのよいトピックス的な記事。
- 解説: 光合成に関連するテーマでの解説記事。
- 研究紹介: 最近の研究結果の紹介。特に、若手、博士研究員の方々からの投稿を期待しています。
- 集会案内: 研究会、セミナー等の案内。
- 求人: 博士研究員、専門技術員等の募集記事。
- 新刊図書: 光合成関係、または会員が執筆・編集した新刊図書の紹介。書評も歓迎いたします。

記事の掲載を希望される方は、会誌編集担当まで御連絡下さい。

日本光合成研究会会員入会申込書

平成 年 月 日

日本光合成研究会御中

私は日本光合成研究会の趣旨に賛同し、平成 年より会員として入会を申し込みます。

[]内に会員名簿上での公開承諾項目に○印をつけてください

[] 氏名 (漢字) (必須)

氏名 (ひらがな)

氏名 (ローマ字)

[] 所属

[] 住所 1

〒

[] 住所 2 (自宅の方または会誌送付先が所属と異なる場合にのみ記入)

〒

[] TEL1

[] TEL2 (必要な方のみ記入)

[] FAX

[] E-mail

個人会員年会費 1,500 円 (会誌、研究会、ワークショップなどの案内を含む)

賛助法人会員年会費 50,000 円 (上記と会誌への広告料を含む)

(振込予定日:平成 年 月 日) (会員資格は1月1日~12月31日を単位とします)

* 複数年分の会費を先払いで振り込むことも可能です。その場合、通信欄に (何年度~何年度分)とお書き下さい。

連絡先

〒464-8602 名古屋市千種区不老町

名古屋大学理学部物理教室 光生体エネルギー研内

日本光合成研究会

TEL/FAX: 052-789-2883

E-mail: photosyn@bio.phys.nagoya-u.ac.jp

郵便振替口座 00140-3-730290

日本光合成研究会会則

第1条 名称

本会は日本光合成研究会（The Japanese Association for Photosynthesis Research）と称する。

第2条 目的

本会は光合成の基礎および応用分野の研究発展を促進し、研究者相互の交流を深めることを目的とする。

第3条 事業

本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催などの事業を行う。

第4条 会員

1. 定義

本会の目的に賛同する個人は、登録手続を経て会員になることができる。また、団体、機関は、賛助会員になることができる。

2. 権利

会員および賛助会員は、本会の通信および刊行物の配布を受けること、本会の主催する行事に参加することができる。会員は、会長を選挙すること、役員に選出されることができる。

3. 会費

会員および賛助会員は本会の定めた年会費を納めなければならない。

第5条 組織および運営

1. 役員

本会の運営のため、役員として会長1名、事務局長1名、会計監査1名、常任幹事若干名をおく。役員任期は2年とする。会長、常任幹事は連続して二期を越えて再任されない。事務局長は五期を越えて再任されない。会計監査は再任されない。

2. 幹事

幹事数名をおく。幹事任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

3. 常任幹事会

常任幹事会は会長と常任幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。常任幹事会は本会の運営に係わる事項を審議し、これを幹事会に提案する。事務局長と会計監査は、オブザーバーとして常任幹事会に出席することができる。

4. 幹事会

幹事会は役員と幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。幹事会は、常任幹事会が提案した本会の運営に係わる事項等を審議し、これを決定する。

5. 事務局

事務局をおき、事務局長がこれを運営する。事務局は、本会の会計事務および名簿管理を行う。

6. 役員および幹事の選出

会長は会員の直接選挙により会員から選出される。事務局長、会計監査、常任幹事は会長

が幹事の中から指名し、委嘱する。幹事は常任幹事会によって推薦され、幹事会で決定される。会員は幹事を常任幹事会に推薦することができる。

第6条 総会

1. 総会は会長が招集し、出席会員をもって構成する。議長は出席会員から選出される。
2. 幹事会は総会において次の事項を報告する。
 - 1) 前回の総会以後に幹事会で議決した事項
 - 2) 前年度の事業経過
 - 3) 当年度および来年度の事業計画
3. 幹事会は総会において次の事項を報告あるいは提案し、承認を受ける。
 - 1) 会計に係わる事項
 - 2) 会則の変更
 - 3) その他の重要事項

第7条 会計

本会の会計年度は1月1日から12月31日までとする。当該年度の経理状況は、総会に報告され、その承認を受ける。経理は、会計監査によって監査される。本会の経費は、会費および寄付金による。

付則

第1 年会費は個人会員 1,500 円、賛助会員一口 50,000 円とする。

第2 本会則は、平成14年6月1日から施行する。

第3 本会則施行後第一期の会長、事務局長、常任幹事にはそれぞれ、第5条に定める規定にかかわらず、平成14年5月31日現在の会長、事務局担当幹事、幹事が再任する。本会則施行後第一期の役員および幹事の任期は、平成14年12月31日までとする。

日本光合成研究会の運営に関する申し合わせ

1. 幹事会：

幹事は光合成及びその関連分野の研究を行うグループの主催者である等、日本の光合成研究の発展に顕著な貢献をしている研究者とする。任期は4年とするが、原則として再任されるものとする。

2. 事務局：

事務局長の任期は2年とするが、本会の運営を円滑に行うため、約5期(10年)を目途に再任されることが望ましい。

3. 次期会長：

会長の引き継ぎを円滑に行うため、次期会長の選挙は任期の1年前に行う。

4. 常任幹事会：

常任幹事会の運営を円滑におこなうため、次期会長は常任幹事となる。

幹事会名簿

- 浅田浩二 福山大学生命工学部
- 池内昌彦 東京大学大学院総合文化研究科
- 池上 勇 帝京大学薬学部
- 泉井 桂 近畿大学生物理工学部生物工学科
- 伊藤 繁 名古屋大学大学院理学系研究科
- 井上和仁 神奈川大学理学部
- 臼田秀明 帝京大学医学部
- 榎並 勲 東京理科大学理学部
- 大岡宏造 大阪大学大学院理学研究科
- 大杉 立 東京大学大学院農学生命科学研究科
- 大政謙次 東京大学大学院農学生命科学研究科
- 小川健一 岡山県生物科学総合研究所
- 小野高明 茨城大学工学部生体分子機能工学科
- 小俣達男 名古屋大学大学院生命農学研究科
- 垣谷俊昭 名城大学理工学部教養教育/
総合学術研究科
- 金井龍二 埼玉大学 (名誉教授)
- 坂本 亘 岡山大学資源生物科学研究所
- 櫻井英博 早稲田大学 (名誉教授)
- 佐藤和彦 兵庫県立大学大学院生命理学研究科
- 佐藤公行 岡山大学 (名誉教授)
- 佐藤直樹 東京大学大学院総合文化研究科
- 佐藤文彦 京都大学大学院生命科学研究科
- 鹿内利治 京都大学大学院理学研究科
- 重岡 成 近畿大学農学部
- 島崎研一郎 九州大学大学院理学研究院
- 嶋田敬三 首都大学東京都市教養学部
- 沈 建仁 岡山大学大学院自然科学研究科
- 杉浦昌弘 名古屋市立大学
大学院システム自然科学研究科
- 杉田 護 名古屋大学遺伝子実験施設
- 杉山達夫 中部大学生命健康科学研究所
- 鈴木祥弘 神奈川大学理学部
- 園池公毅 東京大学大学院新領域創成科学研究科
- 高市真一 日本医科大学生物学教室
- 高橋裕一郎 岡山大学大学院自然科学研究科
- 田中 歩 北海道大学低温科学研究所
- 都筑幹夫 東京薬科大学生命科学部
- 寺島一郎 東京大学大学院理学系研究科
- 徳富(宮尾)光恵 農業生物資源研究所
光合成研究チーム
- 豊島喜則 関西学院大学理工学部
- 南後 守 名古屋工業大学応用化学科
- 野口 巧 筑波大学大学院数理物質科学研究科
- 長谷俊治 大阪大学蛋白質研究所
- 林 秀則 愛媛大学
無細胞生命科学工学研究センター
- 原登志彦 北海道大学低温科学研究所
- 彦坂幸毅 東北大学大学院生命科学研究科
- 久堀 徹 東京工業大学資源化学研究所
- 檜山哲夫 埼玉大学理学部 (名誉教授)
- 福澤秀哉 京都大学大学院生命科学研究科
- 藤田祐一 名古屋大学大学院生命農学研究科
- 前 忠彦 東北大学大学院農学研究科
- 牧野 周 東北大学大学院農学研究科
- 松浦克美 首都大学東京都市教養学部
- 三室 守 京都大学大学院地球環境学堂
- 宮地重遠 海洋バイオテクノロジー研究所
- 村田紀夫 基礎生物学研究所
- 山本 泰 岡山大学大学院自然科学研究科
- 山谷知行 東北大学大学院農学研究科
- 横田明徳 奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科



編集後記

会報、そして会誌「光合成研究」の編集を終えるにあたって

日本光合成研究会 常任幹事・会誌担当
野口 巧 (筑波大学 大学院数理物質科学研究科)

日本光合成研究会会報、そして会誌となった「光合成研究」の編集を担当して4年が過ぎましたが、この号をもって任期満了となり、後任の編集委員にバトンタッチすることになりました。

4年前の今頃、伊藤会長からの電話で「君は編集がいいかい、それとも企画がいいかい」と聞かれて、思わず「それじゃ編集で」と答えたのが始まりでした。そのときは、これほど大変な仕事とは思っておらず、「まあ何とかなるだろう」程度の気持ちでしたが、前任者の園池さんから引き継ぎを受けてから、一人で編集のすべてをやっていることがわかり（印刷、発送は別担当）、「さて、どうしたものか」と考え始めました。

それまでの会報は、文章だけのいかにも同人誌という感じで、それはそれでとても趣があってよかったのですが、ちょっと時代の流れにそぐわないな、と常々感じていました。そこで、一切、冊子体のものはやめてしまって、電子媒体でニュースや記事を送る形式にするか、冊子体は残して、研究報告や総説を中心の会誌風にするか、という選択を考えました。結局、まず少なくとも一年は後者でやってみて、様子を見てから、改めてどういう形式にするかを考えようということになりました。この際、読みやすい紙面づくりを心掛け、基本的にすべての記事に写真や図表を入れることにしました。

他の常任幹事の方々に執筆者を紹介してもらうなど、ずいぶん助けていただいたことで、一年後には何とか会報作りも軌道に乗り、このまま冊子体でやっていくことに方向性を決めました。しかしながら、私はどうしても「会報」というのが気に入りませんでした。執筆者の先生方や学生さん達は、原稿を依頼すると、一生懸命によい記事にしようとして努力してくれます。しかし、それが掲載されるのが研究会の「会報」であっては、せっかくよい解説記事や研究紹介記事を書いても、文献として引用するのはなかなか困難です。そこで、会報ではなく、会誌として何か名前をつけ、きちんと引用できるように巻号・ページの形式を整えようと考えました。会長や他の常任幹事の方々と相談したところ、オーソドックスに「光合成研究」がいいだろうということになりました。それからついでに、表紙をカラー化しようということに話がまとまり、そちらは、印刷担当の藤田さんが引き受けてくださり、伊藤会長と一緒にデザインを考えてくれることになりました。こうして、会報は、2006年の8月号より「光合成研究」として生まれ変わることとなりました。その後、記事の写真・図、広告も順次カラー化し、遂には全カラー化して現在に至っています。表紙も毎回違う写真で、編集側としては、毎回、どんな表紙になってできあがるかが楽しみでもあります。光合成研究の魅力の一つは、やはり植物、藻類、バクテリアが持つ色素の美しさですから、全カラー化に踏み切ったのは正解だと思っています。

日本光合成研究会も近いうちに学会化しようという動きが出ています。上のようないきさつで生まれ、変遷していった「光合成研究」が、新生日本光合成学会の学会誌として、さらにどのように生ま

れ変わり、成長していくのかを、楽しみにして見ていきたいと思います。最後に、会報、そして会誌「光合成研究」の編集を終えるにあたり、この4年間に記事を執筆して下さった多くの執筆者の方々、いろいろと教えて下さった前任者の園池さん、協力をして下さった会長及び常任幹事の方々にお礼を申し上げたいと思います。

「光合成研究会会報」から「光合成研究」への4年間

日本光合成研究会 常任幹事・会誌担当
藤田祐一（名古屋大学 大学院生命農学研究科）

2005年（通巻42号）から今号までの4年間、会報の印刷製本・発送を担当させていただきました。基本的な作業は、編集の野口氏から送られてくる原稿の印刷製本を手配し、発送作業（発送シール作成、封筒詰め、宅急便手配など）をするというものでしたが、多くの方に手伝っていただきました。名簿のエクセルファイルから発送用シールの作成を含め作業内容全般を教えていただいた前任者の小俣達男氏、発送当日に、会報を封筒に入れ発送シールを貼るという実作業（300部以上発送しておりますので、それなりに大変です）を手伝っていただいた名古屋大学農学部の植物分子生理学研究分野のスタッフ厚味智子さん、永尾佐織さん、それに学生さん達、どうもありがとうございました。この場を借りてお礼申し上げます。

2006年8月号（通巻46号）からは、会報の名称が「光合成研究」へと変わり、表紙のカラー化を実現することができました。これに伴い、印刷製本に先だって、表紙のレイアウトを行うという新たな作業を伊藤繁会長とともに担当させていただきました。毎号会報の顔になるものなので、できるだけ魅力的な写真を使ってレイアウトしました（下図参照）。時には、印刷ゲラの段階で色合いが予想外に鮮やかではなかったため印刷屋に色調調整をお願いしたり（「こんな色あせた緑で光合成研究の表紙にできるか?!」）、締め切り直前になってようやく写真とレイアウトが決まったり（これはほとんど毎回かも）、それぞれの表紙には思い出深いものがあります。写真の多くは、伊藤会長から提供していただきました。どうもありがとうございました。

おかげさまで、刷り上がって製本されたきたできたてほやほやの会報を、最初に手に取って見ることができるといってちょっとうれしい経験をさせていただきました。これが最後だと思えば少し寂しい気もしますが、来年から新しく会報担当される東大の皆様、どうかよろしく願います。



日本光合成研究会 2007-2008 年役員

会長 伊藤 繁 (名古屋大学)

事務局 鹿内利治 (京都大学)

常任幹事 池内昌彦 (東京大学) (次期会長)
常任幹事 大岡宏造 (大阪大学) (日本光生物学協会)
常任幹事 藤田祐一 (名古屋大学) (会誌担当)
常任幹事 野口 巧 (筑波大学) (会誌担当)
常任幹事 鈴木祥弘 (神奈川大学) (ホームページ担当)
常任幹事 高橋裕一郎 (岡山大学) (企画担当)
常任幹事 高市真一 (日本医科大学) (企画担当)
常任幹事 小川健一 (岡山県生物科学総合研究所) (企画担当)

会計監査 小池裕幸 (中央大学)

庶務 中村洋子 (名古屋大学)

光合成研究 第18巻 第3号 (通巻53号) 2008年12月25日発行

日 本 光 合 成 研 究 会

名古屋大学理学部物理教室

光生体エネルギー研内

〒464-8602 名古屋市千種区不老町

FAX: 052-789-2883

E-mail: photosyn@bio.phys.nagoya-u.ac.jp

<http://wwwsoc.nii.ac.jp/photosyn/index.html>

郵便振替口座 加入者名: 日本光合成研究会 口座番号: 00140-3-730290