

光合成研究

第23巻 第2号 (通巻67号) 2013年8月

NEWS LETTER Vol. 23 NO. 2 August 2013

THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

研究紹介 緑色硫黄細菌の光合成反応中心への部位特異的な変異導入 浅井 智広 (立命館大) 大岡 宏造 (大阪大)	44
解説特集「光阻害」 序文	48
解説 光化学系IIの光阻害：光損傷と修復阻害のメカニズム 西山 佳孝 (埼玉大)	49
解説 過剰な光エネルギーで起こる光阻害とその防御について 西山 佳孝 (埼玉大)	50
解説 光阻害の原因が複数のメカニズムの同時寄与である可能性 高橋 俊一 (ANU)	57
解説 光化学系II光阻害の修復過程 小口 理一 (東北大)	64
解説 光阻害における光化学系II反応中心タンパク質D1の分解と葉緑体プロテアーゼ 宮田 一範 寺島 一郎 (東京大)	71
解説 光化学系IIの光阻害に対するチラコイド膜内腔タンパク質の役割 加藤 裕介 坂本 亘 (岡山大 資源植物科学研)	79
解説 光化学系IIの光阻害に対するチロコイド膜内腔タンパク質の役割 伊福 健太郎 (京都大 JSTさきがけ)	86
報告記事 第4回日本光合成学会 (年会・公開シンポジウム) 開催報告 日原 由香子 (埼玉大)	94
報告記事 第4回日本光合成学会優秀ポスター賞受賞者	96
報告記事 若手の会活動報告 浅井 智広 (立命館大)	97
報告記事 光合成学会若手の会第八回セミナーに参加して 門脇 太郎 (埼玉大)	98
事務局からのお知らせ	99
日本光合成学会会員入会申込書	100
日本光合成学会会則	101
幹事会名簿	103
編集後記	104
記事募集	104
賛助法人会員広告	

研究紹介

緑色硫黄細菌の光合成反応中心への部位特異的な変異導入[§]

¹立命館大学 生命科学部 生命情報学科
²大阪大学 大学院理学研究科 生物科学専攻
 浅井 智広^{1,*} 大岡 宏造²

緑色硫黄細菌やヘリオバクテリアがもつ、ホモダイマー型光合成反応中心 (RC) の構造と機能の解明は、RCの進化過程を理解するための鍵であり、残された最後の難題でもある。ホモダイマー型RCには、すでに解明された他の光合成反応中心の結晶構造からは類推できない特異的な性質が数多くある。部位特異的な変異導入は分子レベルでの解析においては常套手段だが、ホモダイマー型RCの研究に適用することは不可能であると考えられてきた。ここでは、ホモダイマー型RCを研究する意義を解説し、私たちが考案した部位特異的な変異の導入方法を紹介したい。現在この方法で、緑色硫黄細菌のRC内への変異導入と解析を進めており、今後の研究の新展開が期待される。

1. 緑色硫黄細菌のRCを研究する意義

光合成反応中心 (RC) は、多数の色素と膜貫通タンパク質からなる超分子複合体である。RCは、光誘起電荷分離反応とそれに続く電子移動反応によって、光合成電子伝達系を駆動するという、光合成初期反応において最も重要な役割を担っている。葉緑体とシアノバクテリアが行う酸素発生型の光合成では、光化学系I (PS1) と光化学系II (PS2) という2種類のRCが協調的に機能している。一方、シアノバクテリア以外の原核光合成生物が行う非酸素発生型の光合成では、PS1かPS2のどちらかに似た1種類のRC (RC1、

RC2) が機能している。これら計4種類のRCには構造と機能に数多くの共通点が見られ^{1,2)}、全てのRCは共通の祖先型RCから進化してきたと考えられている³⁾。現在の進化モデルにおける祖先型RCの最大の特徴は、電子伝達コファクターを結合するコアタンパク質がホモダイマー構造をもつことである。結晶構造が明らかになっている3種類のRC (PS1、PS2、RC2) はヘテロダイマー構造であり、そこには、使用頻度が異なる2本の電子移動経路が対称的に配置されている⁴⁾ (図1)。従って、RCは進化の過程でコアタンパク質をヘテロダイマー化し、2本の電子移動経路を機能的に非

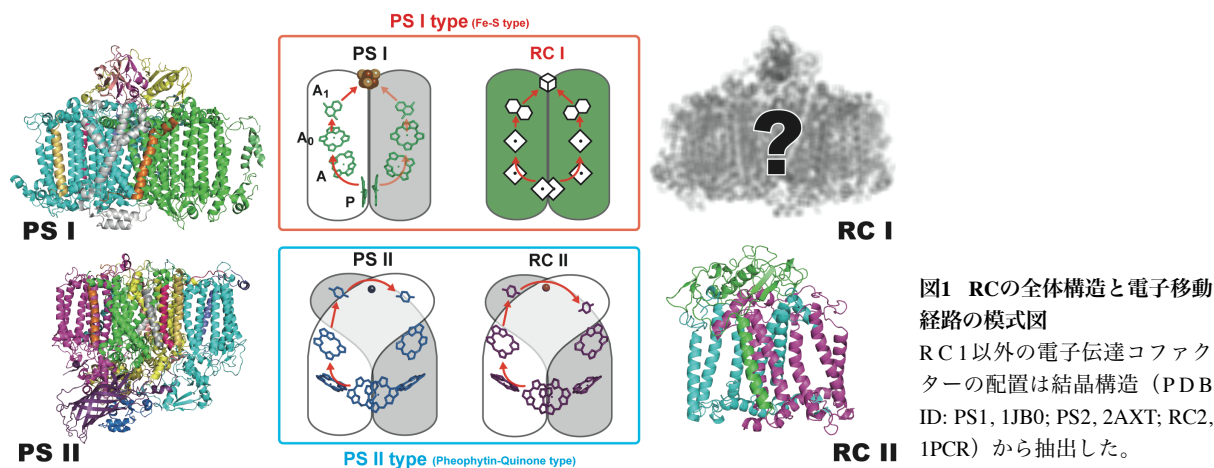


図1 RCの全体構造と電子移動経路の模式図
 RC1以外の電子伝達コファクターの配置は結晶構造 (PDB ID: PS1, 1JB0; PS2, 2AXT; RC2, 1PCR) から抽出した。

[§] 第3回日本光合成学会シンポジウム ポスター発表賞受賞論文
 * 連絡先 E-mail: cazai@fc.ritsumei.ac.jp

対称化してきたと推測されている³⁾。

緑色硫黄細菌は絶対嫌気性の光合成細菌で、還元型の硫黄化合物を電子源とした非酸素発生型の光合成で生育する。そのRCはRC1に分類されるが、1種類のポリペプチドから成るホモダイマー構造のコアタンパク質をもつ⁴⁾。そのためRCの構造と機能には祖先型RCと共通した性質が数多く残されていると考えられ、祖先型RCのモデル分子として古くから研究されてきた。しかし、緑色硫黄細菌のRCは酸素に対して極度に不安定であり、生化学や分光学による解析が難しく、可能な研究方法には限界がある。そのため、現時点で結晶構造および電子移動反応の全容は未解明のままであり、祖先型RCのモデルとしての役割を果たせていない。この状況を打破するために、私たちは、好熱性の緑色硫黄細菌*Chlorobaculum (Cba.) tepidum*において独自に遺伝子発現系を構築し、分子生物学的な研究手法の導入を模索してきたことを、過去に本誌でも紹介している⁵⁾。

2. ホモダイマー型RCの構造をめぐる謎

RCコアポリペプチドのアミノ酸配列を4種類のRC間で比較すると、10-20%程度の低い相同性しか示さない²⁾。一方、一次構造の高度な多様性とは裏腹に、現在明らかになっているヘテロダイマー型RCの結晶構造では、2本の電子移動経路を構成するコファクターの分子種や配置、その周辺のタンパク質構造はよく似ている¹⁾ (図1)。これは、RCの機能である光誘起電子移動反応の制御がいかにか強い進化的な選択圧であるかを物語っている。したがってホモダイマー型RCも類似の構造をもつと考えられているが^{1,4)}、このことによってホモダイマー型RCの不思議な特徴が浮かび上がってくる。

最大の特徴は、RC1に分類される全てのRCがホモダイマー型となる点である⁶⁾。コアタンパク質のヘテロダイマー化はPS1、PS2、RC2において独立に起こったと考えられているので^{2,3)}、ヘテロダイマー化は比較的起こりやすい事象であり、2本の電子移動経路は必ずしも対称である必要はないことになる。実際、PS1では2本の経路の使用頻度が生物種で異なっており、経路の対称性は光誘起電子移動反応の効率には影響していない。全てのRC1が30億年以上もホモダイマー構造を保っているという事実は、電子移動経路の対称性とRC1の機能に密接な関係があることを示唆している。

もう一つの大きな特徴は、二次電子受容体として機能するキノン分子の結合部位が見当たらない点である^{4,6)}。キノンはRC1を除く全てのRCで電子受容体として存在することが確認されており、PS1においてはフィロキノンが疎水的な結合ポケットに強く結合している。この結合にはTrp残基が主要な役割を果たしており、側鎖のインドール環とフィロキノンのナフトキノン環が π - π スタッキングしている^{1,6)} (図2A)。また、フィロキノンの4位のケトカルボニル基は、近接したLeu残基の主鎖のアミド基と水素結合を形成している^{1,6)}。ホモダイマー型RCでは、Leu残基は保存されているものの、疎水ポケットを形成するTrp残基は親水的なArg残基に置き換わっている^{4,6)} (図2B)。従って、ホモダイマー型RCにキノン分子は結合していないと主張する研究者もいる。一方、極低温ESR測定では電子受容体として機能するキノン分子の存在が示されており⁴⁾、構造予測から導き出される主張と矛盾する。

さらに緑色硫黄細菌のRC自体が内包する特異な謎もある。光誘起FTIR差スペクトルでは、一次電子供与体P840を構成するバクテリオクロロフィル (B Chl) *a*'の13¹位ケトカルボニル基に帰属されるピーク

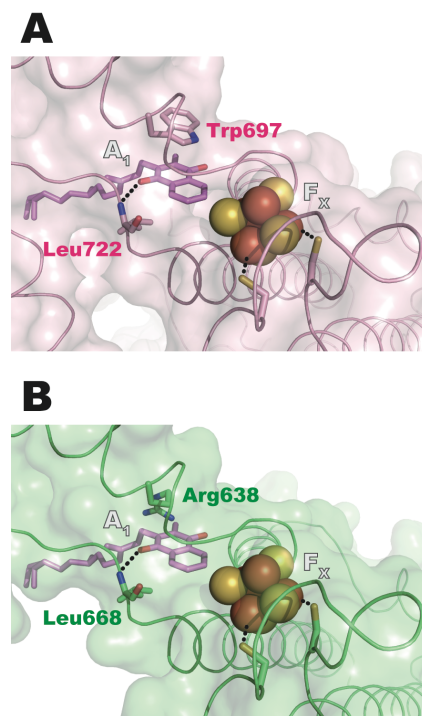


図2 キノン電子受容体と末端電子受容体F_x周辺の構造モデル

(A) PS1の結晶構造 (PDB ID: 1JB0) と (B) 緑色硫黄細菌*Cba. tepidum* RCのホモロジーモデル。

が、酸化状態 (P840⁺) で2本に分裂する⁷⁾。同様の現象はヘテロダイマー型RCでも観測されるが、この原因は非対称なタンパク質構造によって一次電子供与体を構成する2つの(B)Chl *a* に正電荷が不均等に分布するためと考えられている⁸⁾。しかし、ホモダイマー構造である緑色硫黄細菌のRCには、このような解釈は適用できない。

3. ホモダイマー型RCの部位特異的変異体の作製

前項で述べたホモダイマー型RCの特徴は、ヘテロダイマー型RCの結晶構造をもとにしたモデルでは解釈し難い。しかし部位特異的な変異導入によって、関係するアミノ酸残基ひとつひとつの機能を解析できるならば、コファクターの結合部位の決定やスペクトルの帰属は容易であろう。また、ホモダイマー型RCで、片方のコアポリペプチドだけに変異を導入できるならば、局所的なヘテロダイマー化が機能にどのように影響するかを調べることもできる。

しかしながら、ホモダイマー型RCの部位特異的変異体の作製はこれまで不可能と考えられてきた。その主な理由は、ホモダイマー型RCを持つ生物種の中で、唯一形質転換が可能な*Cba. tepidum* は光独立栄養細菌であり、RC上の重要な機能変異はほぼ全て致死となるためである。私たちは過去に、「RCコアタンパク質遺伝子の偽二倍体化」という方法を考案し⁹⁾、これを克服できる可能性を示した。変異導入したRCコアタンパク質遺伝子 (*pscA*遺伝子) を本来とは異なる遺伝子座に組み込むことで、本来の遺伝子座から発現する野生型RCで生育を補償しつつ、任意の変異型RCを発現させる方法である。この方法では、実際に野生型と変異型のコアポリペプチドから成る人工的なヘテロダイマーRCを創出することができる⁹⁾、その解析には、野生型のホモダイマー、変異体のヘテロダイマー、変異体のホモダイマーの3種類のRCを生化学的に分離することが不可欠である。過去に私たちは、*Cba. tepidum*においてRCコアポリペプチドPscAのN末端に6xHisタグを付加することで、高い光活性を保持したRC複合体を高純度に精製できることを報告した⁹⁾。そこで、本来の遺伝子座にある野生型*pscA*遺伝子にはN末端にStrepタグを付加し、変異型*pscA*遺伝子にはN末端6xHisタグを付加して導入することで、HisタグとStrepタグのタンデムアフィニティクロマトグラフィーによって3種類のRCを分離する方法を考えた (図3)。

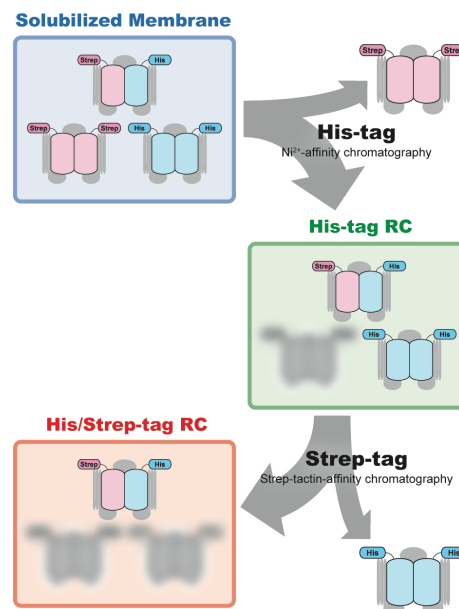


図3 HisタグとStrepタグのタンデムアフィニティクロマトグラフィーによる変異体RCの特異的精製の戦略

「RCコアタンパク質遺伝子の偽二倍体化」では、3種類のRCが発現する (Solubilized Membrane)。Hisタグ精製ではStrep/Strep-RCが脱落し (His-tag RC)、その後のStrepタグ精製ではHis/His-RCが脱落する (His/Strep-tag RC)。

今回、試行実験として、本来の遺伝子座にStrepタグ付き*pscA*遺伝子を持つ株に、変異を加えていないHisタグ付き*pscA*遺伝子を別の遺伝子座に導入し、3種類のRCの分離を試みた。別の遺伝子座から発現したPscAにはHisタグが付加されていることを利用し、粗精製膜標品を可溶化後、まずNi²⁺固定化樹脂に吸着する画分をHis-RC標品として回収した。次に、His-RC標品中のホモダイマーにはHisタグしか付加されていないこと、ヘテロダイマーにはさらにStrepタグも付加されていることを利用し、His-RC標品をStrep-tactin固定化樹脂に掛け、吸着画分 (His/Strep-RC) と素通りした画分 (His/His-RC) に分けた。精製操作を全て嫌気的な環境で行うことで、過去に報告されたRC標品に匹敵する十分な光活性を有する標品が得られた。HisタグとStrepタグに対する特異的抗体をもちいたウェスタンブロット解析では、His/Strep-RCにはHisタグとStrepタグがほぼ同量検出された (図4)。また、His/His-RC画分に混入したHis/Strep-RCは1%以下と見積もられ、99%以上の純度でHis/His-RCを精製できることがわかった。これは、HisタグとStrepタグのタンデムアフィニティ精製によって、3種類のRCを厳密に分離できることを示している。

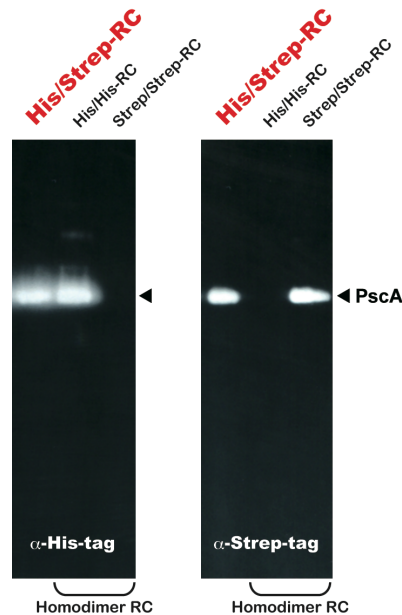


図4 His/Strep-RCのウェスタンブロット解析

His/His-RCとStrep/Strep-RCは、それぞれのタグ付きPscAのみを発現する変異株から精製し、コントロールとして用いた。各標品中のRC濃度を Q_y 吸収ピークで揃え、各レーンには等モルのRCを泳動した。左は抗Hisタグ抗体、右は抗Strepタグ抗体でそれぞれ免疫染色している。

4. 今後の展望

今回、緑色硫黄細菌において、ホモダイマー型RCの部位特異的変異体を作製、精製できる方法を紹介した。現在、P840の周辺構造を改変した変異体RCの作製に成功し、FTIRや分光電気化学による解析から緑色硫黄細菌RCの構造に関する新たな知見が得られはじめている。それ以外の変異体RCの作製も進めており、ホモダイマー型RCの構造機能相関を分子レベルで解明していきたいと考えている。

謝辞

本稿を執筆するにあたり、名古屋大学理学研究科の野口巧博士と加藤祐樹博士には、適切なお助言をいただくことができた。この場を借りて、両氏に深く感謝

したい。

Received July 12, 2013, Accepted July 17, 2013, Published August 31, 2013

参考文献

1. Heathcote, P., Fyfe, P. K., and Jones, M. R. (2002) Reaction centres: the structure and evolution of biological solar power. *Trends Biochem. Sci.* 27, 79-87.
2. Sadekar, S., Raymond, J., and Blankenship, R. E. (2006) Conservation of distantly related membrane proteins: photosynthetic reaction centers share a common structural core. *Mol. Biol. Evol.* 23, 2001-2007.
3. Hohmann-Marriott, M. F. and Blankenship, R. E. (2011) Evolution of photosynthesis, *Annu. Rev. Plant Biol.* 62, 515-548.
4. Hauska, G., Schoedl, T., Remigy, H., and Tsiotis, G. (2001) The reaction center of green sulfur bacteria. *Biochim. Biophys. Acta* 1507, 260-277.
5. 浅井 智広、大岡 宏造 (2011) 絶対嫌気性の光合成細菌 *Chlorobaculum tepidum* における外来遺伝子発現系. 光合成研究 21, 95-101.
6. Heathcote, P., Jones, M. R., and Fyfe, P. K. (2003) Type I photosynthetic reaction centres: structure and function. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 358, 231-243.
7. Noguchi, T., Kusumoto, N., Inoue, Y., and Sakurai, H. (1996) Electronic and vibrational structure of the radical cation of P840 in the putative homodimeric reaction center from *Chlorobium tepidum* as studied by FTIR spectroscopy. *Biochemistry* 35, 15428-15435.
8. Noguchi, T. (2010) Fourier transform infrared spectroscopy of special pair bacteriochlorophylls in homodimeric reaction centers of heliobacteria and green sulfur bacteria. *Photosynth. Res.* 104, 321-331.
9. Azai, C., Kim, K., Kondo, T., Harada, J., Itoh, S., and Oh-oka, H. (2011) A heterogeneous tag-attachment to the homodimeric type 1 photosynthetic reaction center core protein in the green sulfur bacterium *Chlorobaculum tepidum*. *Biochim. Biophys. Acta* 1807, 803-812.

Site-directed Mutagenesis on the Photosynthetic Reaction Center of Green Sulfur Bacteria

Chihiro Azai^{1,*}, Hirozo Oh-oka²,

¹Department of Bioinformatics, College of Life Sciences, Ritsumeikan University

²Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, Osaka University

解説特集

「光阻害」

Editor: 西山 佳孝 (埼玉大学 大学院理工学研究科)

序文

西山 佳孝 (埼玉大学 大学院理工学研究科)

P. 49

光化学系IIの光阻害：光損傷と修復阻害のメカニズム

西山 佳孝 (埼玉大学 大学院理工学研究科)

P. 50 ~ 56

過剰な光エネルギーで起こる光阻害とその防御について

高橋 俊一 (Research School of Biology, Australian National University)

P. 57 ~ 63

光阻害の原因が複数のメカニズムの同時寄与である可能性

小口 理一 (東北大学 大学院生命科学研究科)

P. 64 ~ 70

光化学系II光阻害の修復過程

宮田 一範 寺島 一郎 (東京大学 大学院理学系研究科)

P. 71 ~ 78

光阻害における光化学系II反応中心タンパク質D1の分解と葉緑体プロテアーゼ

加藤 裕介 坂本 亘 (岡山大学 資源植物科学研究所)

P. 79 ~ 85

光化学系IIの光阻害に対するチラコイド膜内腔タンパク質の役割

伊福 健太郎 (京都大学 大学院生命科学研究科/JSTさきがけ)

P. 86 ~ 93

解説

序文[‡]

埼玉大学 大学院理工学研究科 生命科学部門

西山 佳孝^{*}

過剰エネルギーが光化学系IIを壊す——。これまで何度となく見てきたフレーズだ。先日、PNASに最近掲載された論文を読んでいたら、「NPQが光化学系IIを過剰エネルギーによる損傷から守る」とあった。一見もつともらしく見えるが、本当だろうか。

光阻害の研究は歴史が古い。文献を辿ると、Kokらによる1950年代の仕事に遡る。これまで半世紀以上に渡って多くの研究者に取り上げられ、そのメカニズムに関して多くの仮説が立てられてきた。一つの最盛期は1990年代であろう。アクセプターサイド説やドナーサイド説など過剰エネルギーを損傷の根拠とした仮説が次々に立てられた。筆者は、学位を取得して間もない1994年の夏、イタリアで開かれたNATO（北大西洋条約機構）主催の光合成サマースクールに参加したが、「アクセプターサイド説、ドナーサイド説のどちらを信じる？」と若者の間で日夜議論していたことを思い出す。光阻害研究に物理化学者が続々と参入し、チラコイド膜やBBY（光化学系II標品）を材料に難しい理論やモデルを組み立てていた時代だ。ところが、2000年を過ぎた頃に状況が一変する。生物学的な視点で光阻害を見直すと、従来の過剰エネルギー説では説明できないことが出てきた。そこで2005年に登場したのが、従来の説とは根本的に異なるTwo-step説だった。この説は、酸素発生系マンガクラスターの光吸収と崩壊が光損傷の引き金となると論じている。過剰エネルギー説とは様々な点で相容れないため、過剰エネルギー論者たちは一丸となって反撃に転じた。この論争は現在でも続いている。どことなく原子論を巡るボルツマン-マッハ論争の構図に似ている。

紆余曲折のためか、光合成研究者の間でも光阻害は少し距離を置かれているように思える。対岸の火事なのかもしれない。一方で、一般の植物研究者にはほとんど状況が伝わっていないようだ。ところが、彼らも苦心して得た変異株の表現型を示すときに、しばしば光阻害の解析結果を出してくる。PAMでFv/Fmを測定すれば、瞬時にデータが得られるのも手伝っているのだろう。その結果の解釈で引き合いに出されるのが、植物生理学の教科書（テイツ&ザイガー著など）に記述されている過剰エネルギー説だ。前述のPNAS論文もその一例であろう。

光阻害研究の現状を一般の植物研究者に知ってもらうことを目的に、2013年3月に岡山で開催された第54回日本植物生理学会年会のシンポジウムで、“New paradigm in photoinhibition research”と題するシンポジウムを企画した。これを踏まえ本特集では、シンポジウムの講演者を中心に、各自の考えに基づいて光阻害を論じていただいた。シンポジウムの関係上、少しTwo-step説に偏った人選になってしまったことをお詫し願いたい。本特集の企画・編集にあたり、叱咤激励やご助言をいただいた編集長の野口 航氏、編集委員の園池 公毅氏、田中 亮一氏、ならびに会長の田中 歩氏には心から感謝申し上げる。

[‡] 解説特集「光阻害」^{*} 連絡先 E-mail: nishiyama@molbiol.saitama-u.ac.jp

光化学系IIの光阻害：光損傷と修復阻害のメカニズム[‡]

埼玉大学 大学院理工学研究科 生命科学部門

西山 佳孝*

光化学系IIの光阻害のメカニズムに関して、これまで多くの仮説が立てられてきた。その多くは、活性酸素による光化学系IIの損傷、つまり過剰エネルギーによる損傷を根拠にしている。しかし近年、光阻害を光損傷と修復の2つの過程に分けて再検討した研究から、光損傷の過程は活性酸素とは独立に起こり、修復の過程が活性酸素の作用で阻害されることが示唆されている。過剰エネルギーによらない光損傷のメカニズムとして、新たにTwo-step説が提唱されている。一方、活性酸素による修復阻害は、タンパク質合成の抑制によることもわかってきた。本稿では、最新の知見を紹介して、光損傷と修復阻害のメカニズムを解説する。

1. はじめに

光化学系IIは強光に対して感受性が高く、強光下では容易に失活してしまう。この現象は光阻害と呼ばれ、強光下で植物の成長や物質生産を妨げる要因だと考えられている。そのため、光阻害は古くから植物生理学や農学の重要課題として取り上げられてきた。その最大の関心事は、何と言っても、光阻害のメカニズム解明である。光阻害がなぜ・どのように起こるのか、というメカニズムを理解するのは基礎学問として興味深いし、メカニズムを知れば強光耐性植物の分子育種につながるからである。

これまで50年以上にわたって、数多くの研究者が光阻害の研究に携わり、メカニズムに関して多くの仮説が立てられてきた。しかし、いまだにメカニズムを巡って議論が紛糾しており、全容解明にはほど遠い状況である。なぜか。一つは、光化学系IIの高度な機能と複雑な性質にあると思われる。エネルギー変換装置としての機能すら正確に理解できていないのに、それが壊れる仕組みはさらに複雑であろう。次に、研究者の物の見方も要因となる。物理化学の視点では、光阻害をエネルギー変換装置という物体の崩壊として捉えがちで、生物学の視点では、生理活性の低下として捉えがちである。どちらも一長一短があるが、前者は生命のダイナミズムを見過ごし、後者は個々の変化の意味を見逃してしまう可能性がある。

生命のダイナミズムと個々の変化の双方を踏まえて

光阻害を考えてみよう。その際、まず重要な点は、光化学系IIの代謝回転である。生細胞では、光の作用で損傷を受けた光化学系IIは、すみやかに修復されてもとの状態になる。すなわち、強光下では光化学系IIの光損傷とその修復が同時に進行しており、光化学系IIの活性は、光損傷と修復のバランスに依存している。言い換えれば、光阻害は、光損傷の速度が修復の速度を上回ったときに起こる。したがって、光阻害のメカニズムを理解するには、光損傷と修復の2つのプロセスに分けて解析する必要がある。なお、光阻害と光損傷を同じ意味で取り扱っている文献を目にすることがあるが、本稿では厳密に区別する。

光損傷のプロセスを解析するには、クロラムフェニコールやリンコマイシンなどタンパク質合成阻害剤の存在下で光化学系II活性をモニターする。一方、修復のプロセスを解析するには、過度の強光で光化学系II活性を20%程度まで落とした後に、弱光下で光化学系II活性の回復をモニターする。この方法論をシアノバクテリアや植物に用いることによって、光阻害のメカニズムにまったく新たな側面が見えてきた¹⁻³⁾。本稿では、新たな知見を紹介して、光阻害研究の新展開をわかりやすく解説する。

2. 従来の光損傷説

光によって光合成が駆動するとき、光合成電子伝達系から不可避免的に活性酸素が発生する。電子伝達の

[‡] 解説特集「光阻害」

* 連絡先 E-mail: nishiyama@molbiol.saitama-u.ac.jp

際にスーパーオキシドや過酸化水素、ヒドロキシラジカルが、励起エネルギーの移動の際に一重項酸素が発生する⁴⁾。強光下ではこれらの活性酸素の発生が促進する。細胞内には、これらの活性酸素を消去する酵素や抗酸化剤が多種多様に存在するが、抗酸化機構の消去能力を超えて発生する場合、酸化ストレスが生じる。

従来、これらの活性酸素が光化学系IIを攻撃して損傷を及ぼすと考えられてきた。その代表的な説に、アクセプターサイド説や電荷再結合説がある。アクセプターサイド説では、強光下で Q_A が二電子還元を受け光化学系IIから脱離することに端を発し、電荷再結合の際に、反応中心で三重項状態のクロロフィルが生成する。その励起エネルギーが三重項状態の酸素分子に移動して、一重項酸素が生成し、これがD1タンパク質に損傷を与えると考えられている⁵⁾。電荷再結合説も基本的には同様で、 Q_A の二電子還元が伴わなくても、弱光下で電荷再結合の際に一重項酸素が生成してD1タンパク質に損傷を及ぼすと考えられている⁶⁾。これ以外の説として、過酸化水素やヒドロキシラジカルなど電子伝達由来の活性酸素が直接D1タンパク質に損傷を与えるという説もある⁷⁾。また、活性酸素には依存しない説として、古くからドナーサイド説が提唱されている⁸⁾。この説では、電子伝達に伴ってチラコイド膜内腔のpHが低下し、その結果、酸素発生系が不安定化して光損傷が起こると考えられている。これらの説の共通点は、クロロフィルが吸収するエネルギーによって光損傷が起こると捉えることである。また、これらの説は、おもに単離チラコイド膜や光化学系II複合体をもとに立てられたものである。修復能力を欠く *in vitro*系で得られた結論であり、*in vivo*の状態を直接反映しているとは言いがたい。

3. 活性酸素の作用機構

本当に活性酸素が光損傷の原因なのだろうか？光阻害を光損傷と修復の2つのプロセスに分けて、活性酸素の作用が *in vivo*で調べられた。シアノバクテリアの懸濁液に低濃度の過酸化水素やメチルビオローゲンを添加すると、光化学系IIの修復はすみやかに阻害されるが、光損傷は影響しない⁹⁾。カタラーゼとペルオキシダーゼの二重欠損株では、野生株に比べ修復能力が低下するが、光損傷の速度は変わらない⁹⁾。逆に高活性のカタラーゼを過剰発現させると、光損傷は

変わらず、修復能力が増大する¹⁰⁾。つまり、電子伝達由来の活性酸素は修復を阻害するものの、光損傷を促進するものではないと言える。

同様に、ローズベンガルなどの光増感剤を細胞懸濁液に添加して、細胞内で一重項酸素を発生させても、光損傷には影響を与えず、修復を阻害する¹¹⁾。一重項酸素の効率的な消去物質である α -トコフェロールを欠損させると、光損傷の速度は変わらないが、修復能力が低下する¹²⁾。カロテノイドの欠損も同様の効果をもたらす(未発表)。したがって、これまで光損傷の元凶とみなされてきた一重項酸素も、光損傷を引き起こすのではなく、修復を阻害する作用があることが考えられる。

光損傷の初速度を光強度に対してプロットすると、両者は直線的な比例関係になる(図1)。つまり、光損傷は弱光下でも起こり、その速度は光強度に依存する^{11,13)}。この関係は、シアノバクテリアのみならず植物(カボチャ)でも見られ、その直線性は従来のアクセプターサイド説や電荷再結合説、ドナーサイド説では説明できない。さらに、この直線関係は電子伝達阻害剤DCMUの存在下でも、嫌気的条件下でも影響を受けない¹¹⁾。従来の説では、光損傷はすべて電子伝達に依存するので矛盾するし、酸素を極力減らしても影響を受けないことは、そもそも活性酸素が光損傷の直接的な原因ではないことを示唆している。

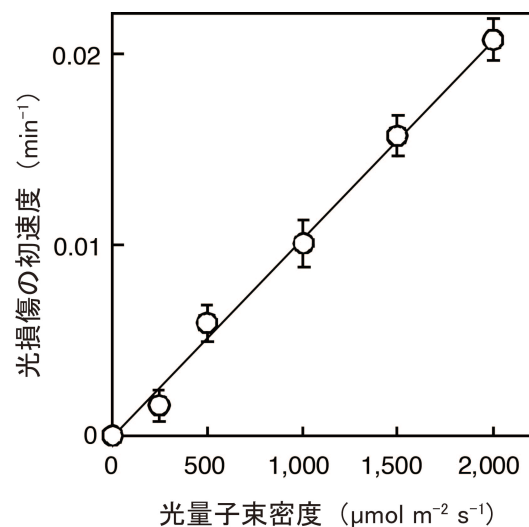


図1 光強度と光損傷の関係

Synechocystis sp. PCC 6803の細胞で、クロラムフェニコールの存在下で光化学系IIの光損傷の光強度依存性を調べた。データはNishiyama et al.¹¹⁾から改変。

4. Two-step説

光損傷が活性酸素によらないとすると、光損傷はどのようにして起こるのか？その謎を解く鍵は、光損傷の作用スペクトルにあった。1960年代から植物やシアノバクテリアで光損傷の作用スペクトルがとられてきた¹⁴⁻¹⁷⁾。すべての作用スペクトルに共通して、UVや青色光は効果的に光損傷を起こし、長波長になればなるほどその効果が弱まる(図2A)。このスペクトルは、クロロフィルの吸収スペクトルとは似ても似つかないことから、クロロフィルが吸収する光によって光損傷が起こるのではないことが予想できる。つまり、ここでも過剰エネルギーを抛り所にしての従来説では説明できない。

光化学系IIの部分反応を調べてみると、酸素発生を経由した光化学系IIの全電子伝達反応 ($H_2O \rightarrow DCIP$) は、反応中心のみの電子伝達反応 ($DPC \rightarrow DCIP$) に比べ、UVや青色光でより速く損傷を受ける¹⁵⁾。つまり、酸素発生系が最も光損傷を受けやすく、UVや青色光に弱いことがわかる。チラコイド膜をTris処理して酸素発生系を取り除いてみると、光損傷の作用スペクトルは、先ほどとは一変し、クロロフィルの吸収スペクトルとよく似た形になる(図2B)¹⁵⁾。ここにTwo-step説が誕生する。Two-step説では、光損傷は2段階で起こるとする(図3)。まず、酸素発生系が光(主にUVや青色光)を吸収して損傷を受ける(第1段階)。その後、クロロフィルが吸収する可視光によって反応中心が損傷を受ける(第2段階)。基本的に同じ内容の説がシアノバクテリアを使った日本のグループと、植物を使ったフィンランドのグループによって同時期に発表されている^{15,16)}。

酸素発生系の光損傷とは何か？光損傷の作用スペクトルが、種々のマンガン化合物の吸収スペクトルによく似ていることから、マンガンクラスター (Mn_4CaO_5) が直接光を吸収して崩壊することが酸素発生系の損傷の原因だと考えられている^{15,16)}。チラコイド膜にUVや強い白色光を照射したとき、 Mn^{2+} イオンが解離することも観察されている¹⁸⁾。しかし、マンガンクラスターがどのように崩壊するのか、そのメカニズムは不明である。また、マンガン化合物が余り吸収しない長波長の可視光(たとえば赤色光)によって、なぜマンガンクラスターが損傷を受けるか、など解明すべき点が多い。

第2段階の損傷メカニズムはさらに不明である。酸

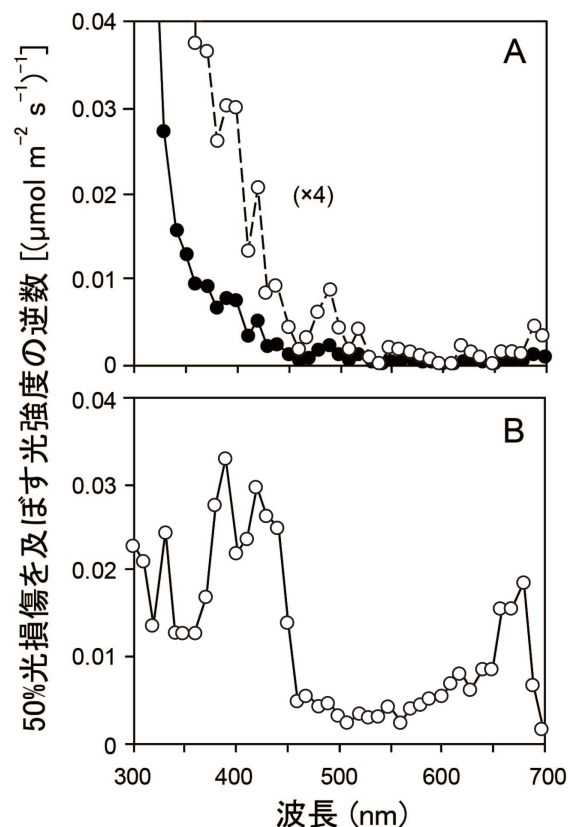


図2 光損傷の作用スペクトル

*Thermosynechococcus elongatus*のチラコイド膜で、光化学系IIの光損傷の作用スペクトルを調べた。(A) 光化学系IIの全電子伝達反応 ($H_2O \rightarrow DCIP$)、(B) 反応中心のみの電子伝達反応 ($DPC \rightarrow DCIP$) の光損傷の作用スペクトル。データはOhnishi et al.¹⁵⁾から改変。

素発生系が機能しなくなると、水から電子が供給されず、反応中心が $P680^+$ の状態でも長く停滞する。 $P680^+$ の強力な酸化力によって、D1タンパク質などの近傍に位置するアミノ酸残基が酸化され、反応中心が損傷するというシナリオが考えられる¹⁹⁾。一方、酸素発生系が崩壊すると、酸素分子が反応中心にアクセスしやすくなり、反応中心で一重項酸素など活性酸素が発生して反応中心に損傷を与えるという可能性も考えられる¹⁹⁾。この場合、第2段階では活性酸素の影響は排除できないが、酸素発生系の損傷が起こらない限り反応中心の損傷が起こらないことには変わらない。反応中心の損傷メカニズムを解明するには、酸素発生系のみを損傷した中間体を得て、詳細に解析することが必要である。

しかし、光損傷のメカニズムを巡って論争が続いている。UVによる光損傷はTwo-step説で概ね合意が得られているが、可視光での光損傷は、一重項酸素説(アクセプターサイド説と電荷再結合説を組み合わせ

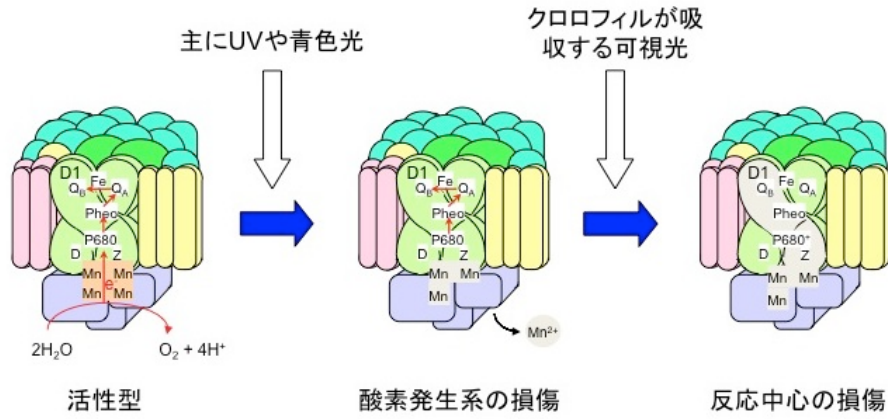


図3 Two-step説のモデル図

酸素発生系が光（主にUVや青色光）を吸収して損傷を受ける（第1段階）。その後、クロロフィルが吸収する可視光によって反応中心が損傷を受ける（第2段階）。

たもの) が声高に主張されている^{20,21)}。本特集でも紹介されているが、Two-step説と一重項酸素説を融合する見方もある²²⁾。

5. 修復阻害のメカニズム

なぜ修復過程が活性酸素で阻害されやすいのか？修復は、損傷を受けたD1タンパク質を酵素的に分解するところから始まる。D1タンパク質の分解という、損傷のプロセスだとみなされることが多いが、本特集でも紹介されているように、すでに修復のプロセスである。修復の詳細はシアノバクテリアと植物では若干異なるが、基本的にはD1タンパク質の新規合成と光化学系IIへの挿入、光化学系IIの再活性化というプロセスを経る^{23,24)}。本特集で取り上げられているように、当然、酸素発生系の修復も必須のプロセスであり、今後解決されるべき重要課題である。この一連の流れで、D1タンパク質の新規合成のプロセスが、活性酸素の標的となり阻害されることがシアノバクテリアや緑藻、植物を用いた研究でわかっている^{9,11,25-28)}。

シアノバクテリアの場合、活性酸素の標的が次第に明らかになってきた。ポリソーム解析から、D1タンパク質合成の阻害が、翻訳のペプチド鎖伸長段階で起きていることがわかった^{9,11)}。次に、活性酸素による阻害が、D1タンパク質の合成だけではなく、ほとんどすべてのタンパク質の合成に見られることから、タンパク質合成装置そのものが活性酸素に対して感受性が高いことがわかった^{9,11)}。タンパク質合成装置の構成因子のうち、何かが標的となっているに違いない。

シアノバクテリアの*in vitro*翻訳系を使った生化学的

な研究から、翻訳伸長因子EF-Gが活性酸素の標的の一つになっていることがわかった²⁹⁾。活性酸素の作用により特定のシステイン残基間で分子内ジスルフィド結合が形成され、EF-Gは失活する³⁰⁾。しかし、失活したEF-Gは、チオレドキシシンにより還元され再活性化される（図4）。チオレドキシシンによるEF-Gの還元は、*in vivo*でも確認できている³⁰⁾。

6. タンパク質合成の制御と光阻害

EF-Gとチオレドキシシンの関係は、光合成の光応答に関して新たな制御機構の存在を示唆している¹⁾。光照射下では、光合成電子伝達に由来する還元力がチオレドキシシンを介してEF-Gに到達し、タンパク質合成が活

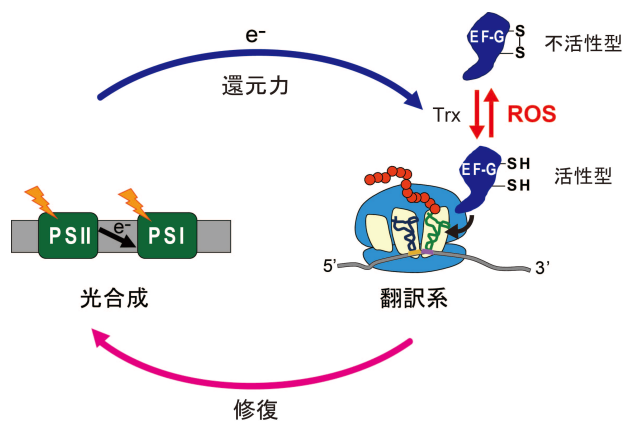


図4 光合成の光応答におけるタンパク質合成制御の役割
光合成電子伝達に由来する還元力がチオレドキシシン (Trx) を介してEF-Gに到達し、タンパク質合成が活性化。その結果、光化学系IIの修復が促進する。強光下では、活性酸素 (ROS) による酸化作用が、チオレドキシシンによる還元作用と拮抗し、タンパク質合成が抑制され、修復が阻害される。

性化する。その結果、光化学系IIの修復が促進するの
だろう (図4)。D1タンパク質の光誘導的な合成も、
この仕組みで部分的に説明できるかもしれない。一
方、強光下では、活性酸素による酸化作用が、チオレ
ドキシシンによる還元作用と拮抗し、タンパク質合成が
抑制され、修復が阻害されるのだろう (図4)。

活性酸素の標的システイン残基を改変すればどうな
るか? シアノバクテリアではEF-Gの標的システイン残
基をすべて改変することは不可能であった。しかし、
改変したEF-Gを野生型EF-Gと共発現する株を作
製することができた。この株では、強光下でタンパク
質合成および光化学系IIの修復が促進し、光阻害が緩
和した³¹⁾。ただ、この改変は生育には何の影響も及ぼ
さず、長期的には不利なのか、その遺伝子型はやがて
野生型に戻っていく。

活性酸素による阻害は、我々が考えるほどネガティ
ブなものではなく、合目的な制御なのかもしれな
い。もし、強光下でタンパク質合成に制御がかからず
暴走したら、光化学系IIは修復され、光合成電子伝達
系は働き続ける。その結果、活性酸素は増産され、
酸化ストレスはますます悪化していくのだろう。タン
パク質合成を止めることは、安全弁としての役割を果
たしていることかもしれない。酸素発生系やD1タン
パク質の壊れやすさも、生存戦略上、セイフティネッ
トとしての役割があるのかもしれない³²⁾。

植物の葉緑体ではどうか? 今のところ、シアノバク
テリアのようにタンパク質合成がEF-Gで制御されてい
るのではなく、むしろ別の因子で制御されている可能
性が高い。意外なことに、EF-Gによるタンパク質合成
の制御は、大腸菌で保存されていた³³⁾。また最近、シ
アノバクテリアのタンパク質合成制御に、別の翻訳因
子EF-Tuも重要な役割を担っていることがわかってき
た。今後、タンパク質合成の制御機構に関して、その
メカニズムの全容や生理学的意義、生物種を超えた保
存性と差異を明らかにする必要がある。

7. おわりに

光が当たれば、光化学系IIは損傷する。光化学系IIに
とって、光損傷は避けることのできない宿命のよう
なものかもしれない。光損傷を抑えるには、本特集でも
紹介されているように、光から逃げるか、光を遮る物
質で覆うしかない。この宿命に対して、光合成生物は
壊れた光化学系IIを絶えず修復して恒常性を保ってい

る。しかし、光が強すぎたり、他の環境ストレスが重
なったりすると、修復にブレーキがかかる。つまり、
光阻害は光損傷と修復阻害の相乗効果の結果だと言え
る。修復阻害は光合成機能を低下させるマイナス要因
に見えるが、これも光合成生物にとってストレスに対
処するための生存戦略なのかもしれない。逆に、スト
レス耐性が修復能力で決まるなら、修復能力を強化す
れば光合成のストレス耐性が向上するかもしれない。
この両者の見方は矛盾しているように見えるが、光阻
害の分子機構や生理学的意義に対する理解が深まれば、
どこかで折り合えるように思える。

Received July 19, 2013, Accepted July 29, 2013, Published
August 31, 2013

参考文献

1. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2011) Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiol. Plant.* 142, 35-46.
2. Murata, N., Allakhverdiev, S. I., and Nishiyama, Y. (2012) The mechanism of photoinhibition *in vivo*: Re-evaluation of the roles of catalase, α -tocopherol, non-photochemical quenching, and electron transport. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 1127-1133.
3. Takahashi, S. and Badger, M. R. (2011) Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends Plant Sci.* 16, 53-60.
4. Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 601-639.
5. Vass, I., Styring, S., Hundal, T., Koivuniemi, A., Aro, E., and Andersson, B. (1992) Reversible and irreversible intermediates during photoinhibition of photosystem II: stable reduced Q_A species promote chlorophyll triplet formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 1408-1412.
6. Keren, N., Berg, A., van Kan, P. J., Levanon, H., and Ohad, I. (1997) Mechanism of photosystem II photoinactivation and D1 protein degradation at low light: the role of back electron flow. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 1579-1584.
7. Miyao, M., Ikeuchi, M., Yamamoto, N., and Ono, T. (1995) Specific degradation of the D1 protein of photosystem II by treatment with hydrogen peroxide in darkness: implications for the mechanism of degradation of the D1 protein under illumination. *Biochemistry* 34, 10019-10026.
8. Callahan, F. E., Becker, D. W., and Cheniae, G. M.

- (1986) Studies on the photoactivation of the water-oxidizing enzyme: II. Characterization of weak light photoinhibition of PSII and its light-induced recovery. *Plant Physiol.* 82, 261-269.
9. Nishiyama, Y., Yamamoto, H., Allakhverdiev, S. I., Inaba, M., Yokota, A., and Murata, N. (2001) Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery. *EMBO J.* 20, 5587-5594.
 10. Jimbo, H., Noda, A., Hayashi, H., Nagano, T., Yumoto, I., Orikasa, Y., Okuyama, H., and Nishiyama, Y. (2013) Expression of a highly active catalase VktA in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942 alleviates the photoinhibition of photosystem II. *Photosynth. Res.*, doi: 10.1007/s11120-013-9804-7, in press.
 11. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., Yamamoto, H., Hayashi, H., and Murata, N. (2004) Singlet oxygen inhibits the repair of photosystem II by suppressing the translation elongation of the D1 protein in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry* 43, 11321-11330.
 12. Inoue, S., Ejima, K., Iwai, E., Hayashi, H., Appel, J., Tyystjärvi, E., Murata, N., and Nishiyama, Y. (2011) Protection by α -tocopherol of the repair of photosystem II during photoinhibition in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta* 1807, 236-241.
 13. Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2004) Environmental stress inhibits the synthesis *de novo* of proteins involved in the photodamage-repair cycle of photosystem II in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta* 1657, 23-32.
 14. Jones, L. W. and Kok, B. (1966) Photoinhibition of chloroplast reactions. I. Kinetics and action spectra. *Plant Physiol.* 41 1037-1043.
 15. Ohnishi, N., Allakhverdiev, S. I., Takahashi, S., Higashi, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., and Murata, N. (2005) Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: step 1 occurs at the oxygen-evolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. *Biochemistry* 44, 8494-8499.
 16. Hakala, M., Tuominen, I., Keränen, M., Tyystjärvi, T., and Tyystjärvi, E. (2005) Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1706, 68-80.
 17. Takahashi, S., Milward, S. E., Yamori, W., Evans, J. R., Hillier, W., and Badger, M. R. (2010) The solar action spectrum of photosystem II damage. *Plant Physiol.* 153, 988-993.
 18. Zsiros, O., Allakhverdiev, S. I., Higashi, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., and Murata, N. (2006) Very strong UV-A light temporally separates the photoinhibition of photosystem II into light-induced inactivation and repair. *Biochim. Biophys. Acta* 1757, 123-129.
 19. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2006) A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1757, 742-749.
 20. Krieger-Liszky, A., Fufezan, C., and Trebst, A. (2008) Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanism. *Photosynth. Res.* 98, 551-564.
 21. Vass, I. (2012) Molecular mechanisms of photodamage in the photosystem II complex. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 209-217.
 22. Oguchi, R., Terashima, I., Kou, J., and Chow, W. S. (2011) Operation of dual mechanisms that both lead to photoinactivation of Photosystem II in leaves by visible light. *Physiol. Plant.* 142, 47-55.
 23. Aro, E. M., Virgin, I., and Andersson, B. (1993) Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochim. Biophys. Acta* 1143, 113-134.
 24. Mulo, P., Sakurai, I., and Aro, E. M. (2012) Strategies for *psbA* gene expression in cyanobacteria, green algae and higher plants: from transcription to PSII repair. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 247-257.
 25. Takahashi, S. and Murata, N. (2005) Interruption of the Calvin cycle inhibits the repair of photosystem II from photodamage. *Biochim. Biophys. Acta* 1708, 352-361.
 26. Takahashi, S. and Murata, N. (2006) Glycerate-3-phosphate, produced by CO₂ fixation in the Calvin cycle, is critical for the synthesis of the D1 protein of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1757, 198-205.
 27. Takahashi, S., Bauwe, H., and Badger, M. (2007) Impairment of the photorespiratory pathway accelerates photoinhibition of photosystem II by suppression of repair but not acceleration of damage processes in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 144, 487-494.
 28. Takahashi, S., Milward, S. E., Fan, D. Y., Chow, W. S., and Badger, M. R. (2009) How does cyclic electron flow alleviate photoinhibition in *Arabidopsis*? *Plant Physiol.* 149, 1560-1567.
 29. Kojima, K., Oshita, M., Nanjo, Y., Kasai, K., Tozawa, Y., Hayashi, H., and Nishiyama, Y. (2007) Oxidation of elongation factor G inhibits the synthesis of the D1 protein of photosystem II. *Mol. Microbiol.* 65, 936-947.
 30. Kojima, K., Motohashi, K., Morota, T., Oshita, M., Hisabori, T., Hayashi, H., and Nishiyama, Y. (2009) Regulation of translation by the redox state of elongation factor G in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 284, 18685-18691.
 31. Ejima, K., Kawaharada, T., Inoue, S., Kojima, K., and Nishiyama, Y. (2012) A change in the sensitivity of elongation factor G to oxidation protects photosystem II from photoinhibition in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Lett.* 586, 778-783.
 32. Sonoike, K. (1996) Photoinhibition of photosystem I: its physiological significance in the chilling sensitivity of plants. *Plant Cell Physiol.* 37, 239-247.
 33. Nagano, T., Kojima, K., Hisabori, T., Hayashi, H., Morita, E. H., Kanamori, T., Miyagi, T., Ueda, T., and Nishiyama, Y. (2012) Elongation factor G is a critical target during oxidative damage to the translation system of *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 287, 28697-28704.

Photoinhibition of Photosystem II: Mechanisms of Photodamage and Repair Inhibition

Yoshitaka Nishiyama*

Division of Life Science, Graduate School of Science and Engineering, Saitama University

過剰な光エネルギーで起こる光阻害とその防御について*

Research School of Biology, Australian National University

高橋 俊一

光は光合成を駆動すると同時に、光化学系II (PSII) の損傷を起こし、光合成活性 (及び効率) の低下を導くことがある。この現象は光阻害と呼ばれる。光阻害は光過剰な条件下で起こることから、光合成色素に吸収された過剰な光エネルギーがPSIIの光損傷を引き起こすと考えられてきた。そのため、過剰な光エネルギーの消去に働く光防御機構 (活性酸素消去や熱放散や光呼吸回路) は、PSIIの光損傷を抑え、光阻害を防ぐと考えられてきた。しかし、最近の一連の研究により、光合成色素に過剰に吸収された光エネルギーは、PSIIの光損傷を促進するのではなく、光損傷を受けたPSIIの修復を阻害することが明らかになっている。また、上記の光防御機構は、過剰な光エネルギーによるPSII修復機構の阻害の抑制に働き、光損傷の抑制には働かないこともまた明らかになっている。本稿では、光過剰な環境下で起こる光阻害の機構と、それを防ぐ光防御機構に関し、最近の知見をもとに考察する。

1. はじめに

光合成活性は光強度の上昇と共に上がり、ある光強度で飽和に達する。しかし、さらに光強度を上げ、長時間光照射すると、光合成活性の低下が見られる。これは、光化学系II (PSII) が光損傷を受け、不活性化することに起因する。この現象は、光によって光合成が阻害されたように見えることから、光阻害と呼ばれる。光阻害は全ての光合成生物で見られる現象で、植物では成長や収量の低下の原因となる。光損傷を受けて不活性化したPSIIは、PSII修復機構により速やかに再活性化される¹⁾。そのため、光阻害は光損傷速度が修復速度を上回る条件でのみ起こり始める。植物には光阻害を防ぐ光防御機構が備わっており、光損傷速度が修復速度を上回るのを防いでいる²⁾。そのため、光阻害は最適生育環境下では見られず、環境ストレス下 (強光、高温、低温、高塩、乾燥) で特異的に見られる³⁾。光阻害は、光合成においてエネルギー (ATPやNADPH) の供給がその需要を超える条件 (光過剰) で起こりやすくなる。そのため、光合成色素に過剰に吸収された光エネルギーがPSIIの光損傷を起こすと考えられてきた (アクセプターサイド光阻害説とドナーサイド光阻害説) ⁴⁾。また、過剰に吸収された光エネルギーの消去に働く活性酸素消去機構、サイクリック電子伝達—熱放散システム、光呼吸回路といった光防

御機構は、光損傷の抑制に働くと考えられてきた⁵⁾。しかし、最近の一連の研究は、これらの従来の考えと全く異なる結果を示している。

2. 過剰な光エネルギーとPSII光損傷との関係

光損傷を受けて不活性化したPSIIはPSII修復機構により速やかに再活性化される。そのため、光損傷を研究する場合、PSII修復が起こらない条件で行う必要がある。単離されたチラコイド膜やPSIIを用いる場合は、PSII修復は起こらないので、気にする必要はない。生葉 (*in vivo*) で研究する場合には、PSII修復に不可欠なD1タンパク質の合成を抗生物質 (クロラムフェニコールやリンコマイシン) で阻害するとよい。その際注意すべきことは、それぞれの材料や実験環境で抗生物質がD1タンパク質を完全に阻害していることを確認することである。特に、弱光下や長時間の実験の場合は、D1タンパク質の合成が完全に阻害されていないと、光損傷の程度が低く見積もられる。抗生物質を加えてPSII修復を完全に阻害すると、光損傷速度は光強度と正比例する (修復が完全に阻害されていない場合、弱光下での光損傷速度が過少評価され、正比例にならない) ⁶⁾。

光阻害が光過剰な条件下で見られることから、PSIIの光損傷が過剰な光エネルギーで起こると考えられて

* 解説特集「光阻害」

* 連絡先 E-mail: shunichi.takahashi@anu.edu.au

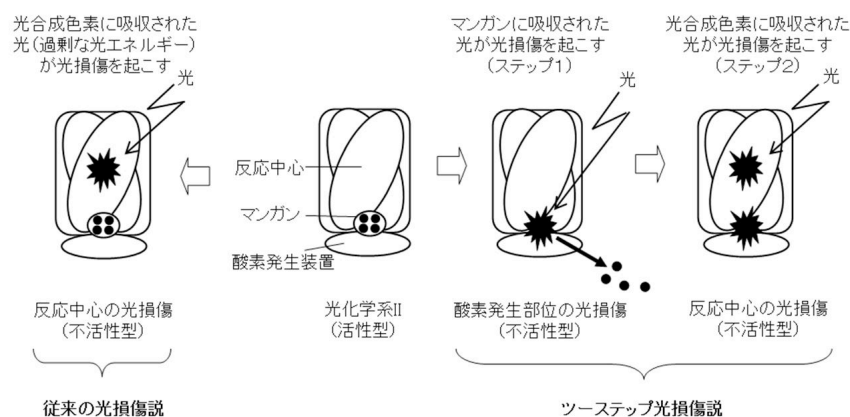


図1 従来の光損傷説 (左) と新しいツーステップ光損傷説 (右)
従来のアクセプターサイドやドナーサイド光阻害説では、光合成色素に過剰に吸収された光エネルギーにより、反応中心が光損傷を受ける。一方、新しいTwo-step光損傷説では、マンガングラスタ (マンガン) に吸収された光により、最初に酸素発生部位が光損傷を受け、二次的に、光合成色素に吸収された光エネルギーにより反応中心が光損傷を受ける。

いた⁴⁾。しかし、この考えには問題がある。例えば、環境ストレス等でカルビンサイクルの炭酸固定活性が低下し、光合成色素に吸収された光エネルギーが過剰になると、PSIIの光損傷が促進されると考えられてきた (アクセプターサイド光阻害説やドナーサイド光阻害説)。しかし、カルビンサイクルで働くリブローズ-5-リン酸キナーゼの特異的な阻害剤 (グリコールアルデヒド) により、光阻害は促進されるが、光損傷は全く促進されない (光阻害の促進は、PSII修復の阻害に起因する)^{7,8)}。これは、弱光から強光まで、どの光強度でも同じことが言える⁷⁾。また、一般的に電子伝達阻害剤として使われるDCMUでも同じである⁹⁾。DCMUにより光阻害は促進されるが、PSIIの光損傷は全く促進されない (DCMUによる光阻害もPSII修復の阻害に起因する)。これらの結果は、光合成色素に吸収された光エネルギーが過剰かどうかは、光損傷に全く関係ないことを示している。

では、光損傷はどのように起こるのか?これに関しては、諸説あり、未だに議論されている (図1)。代表的な仮説として、光合成色素に吸収された光エネルギーが光損傷を起こすという説 (アクセプターサイド光阻害説やドナーサイド光阻害説)^{4,10)}と、PSIIのマンガングラスタ (マンガン) に吸収された光エネルギーにより、酸素発生部位が光損傷を受け、二次的に反応中心が光損傷を受けるという説 (Two-step光損傷説)^{8,11)}がある。この二つの説の大きな違いは、光損傷の原因となる光を吸収する物質の違いであり、前者では光合成色素、後者ではマンガングラスタである。それならば、それらの物質の光吸収スペクトルと光損傷の作用スペクトルを比較することで、どちらの説が正しいか推測できるはずである。光合成色素は、青と赤に高い光吸収を持つ。マンガングラ

スタに類似の物質は、青から紫外に向けて高い光吸収を持つ。PSIIの光損傷のアクションスペクトルには、青や赤にピークは見られず、青から紫外に向けて高くなる^{8,11)}。この結果は、Two-step光損傷説を支持するものである。また、太陽光の下で、どの波長が最もPSIIの光損傷の原因となっているかを調べた実験でも、最も損傷に効果的なのが紫外、次に効果的なのが黄色の波長域の光であることが示されている¹²⁾。この実験結果もまた、Two-step光損傷説を支持している。光損傷速度に影響を与える要因として、光強度⁶⁾、光質 (光の波長)^{8,11)}、チラコイド膜内のpH¹³⁾が挙げられる。後に詳しく述べるが、活性酸素消去¹⁴⁾や熱放散¹³⁾や光呼吸回路¹⁵⁾といった光防御機構は、PSIIの光損傷には影響を及ぼさない (いずれの変異体も光損傷速度は野生種と変わらない)。これらの研究結果も、Two-step光損傷説と矛盾しない。

3. 過剰な光エネルギーによるPSII修復機構の阻害

光損傷を受けて不活性化したPSIIは、PSII修復機構を介して再び活性化される。この修復機構には、(1) PSIIを構成するタンパク質の部分的離脱、(2) PSIIのグラナ側からチラコイド側への移動、(3) PSII (主にD1タンパク質) の分解と新規合成、(4) PSIIを構成するタンパク質の再結合が含まれている¹⁶⁾。修復機構の中で、その速度に大きく影響するのがD1タンパク質の分解と合成である。D1タンパク質の分解にはFtsHプロテアーゼが主に働いている^{16,17)}。最近の研究により、光損傷を受けたPSIIからCP43が離れると、FtsHプロテアーゼがD1タンパク質にアクセスできるようになり、分解がスタートすることが示唆されている^{1,18)}。

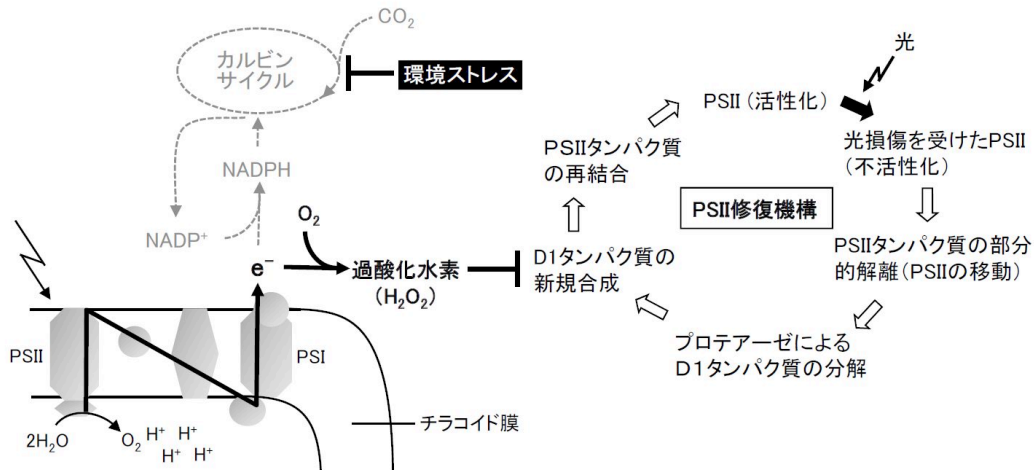


図2 光過剰環境下で起こるPSII修復の阻害

環境ストレスにより、カルビンサイクルの炭酸固定が阻害されると、光合成色素に過剰に吸収された光エネルギーが酸素に渡り、活性酸素種の過酸化水素 (H_2O_2) が生成される。過酸化水素は、D1タンパク質合成の翻訳段階を阻害し、光損傷を受けたPSIIの修復を阻害する。それにより、光損傷速度が修復速度を上回り、光阻害が起こる。PSIIで生成される一重項酸素 (1O_2) も同様にD1タンパク質の合成を阻害する。

修復速度は植物の育った光環境で異なり、強光下で育った植物の方が弱光下で育った植物よりも早い^{19,20}。これは、D1タンパク質の分解速度の違いに起因することが明らかになっている。このことは、D1タンパク質の分解が修復の律速要因となることを示している。

D1タンパク質が分解された後、新たなD1タンパク質がチラコイド膜上で合成される。D1タンパク質の合成は翻訳段階で活性調節されており、光合成の電子伝達（還元力とATP）がその活性化に関わっている^{21,22}。そのため、暗条件や電子伝達阻害剤（例えばDCMU）存在下では、D1タンパク質の合成が起こらず、修復も起こらない。光はD1タンパク質の合成に不可欠だが、過剰な光は逆に阻害に働く。例えば、炭酸固定活性をグリコールアルデヒドで低下させると、D1タンパク質の合成が阻害され、PSIIの修復も阻害される^{7,23}。これは、環境ストレスにより直接的または間接的（気孔の閉口）に炭酸固定活性が低下すると、PSIIの修復が阻害され、光阻害が起こりやすくなることを示唆している（図2）。実際、高温、低温、高塩ストレスなどによりPSIIの修復が阻害され、D1光阻害が促進されることが示されている^{3,24}。

過剰な光環境下で、D1タンパク質合成が阻害される要因として最も有力なものが、活性酸素種（特に過酸化水素）の生成である^{14,25,26}（図2）。光合成色素に吸収された光エネルギーが過剰な場合、PSIIでは一重項酸素 (1O_2) が、PSIでは過酸化水素 (H_2O_2) が

生成される。いずれもD1タンパク質の合成を翻訳の段階で阻害する^{27,28}。例えばシアノバクテリアでは、一重項酸素の消去に働くトコフェロールの合成欠損株²⁹や過酸化水素の消去に働くカタラーゼ・チオレドキシンペルオキシダーゼの二重欠損株では²⁸、強光下でD1タンパク質の合成が阻害され、PSIIの修復が阻害されることが示されている。

4. 過剰な光エネルギーによる光阻害を抑える光防御機構

植物には、過剰に吸収された光エネルギーによる光阻害の回避に働く光防御機構が備わっている²。これらの働きについて、以下にまとめる。

葉や葉緑体の運動

植物の葉や葉緑体は外界の光環境に応じて動くことができる。いずれの場合にも光を集める動きと光を避ける動きとがあり、光を避ける運動は光防御機構として働く。また、植物に水やりを忘れて葉が萎れるといった現象も、一種の光防御機構といえる。前述したように、PSIIの光損傷速度は光強度に比例して上がる。そのため、光合成装置に届く光量を減らす葉^{30,31}や葉緑体の運動³²は光損傷の抑制に働く（図3）。実際、それらの運動を阻害した場合、PSIIの光損傷速度が速くなることが示されている。また、葉や葉緑体の運動は、過剰な光による活性酸素の生成を

抑え、PSII修復機構の阻害を抑制する働きもあると考えられる (図3)。

光呼吸回路

炭酸固定に働くルビスコは、リブローズ-1,5-ビスリン酸のカルボキシラーゼ反応 (リブローズ-1,5-ビスリン酸 → 2 x 3-ホスホグリセリン酸) を触媒すると同時に、そのオキシゲナーゼ反応 (リブローズ-1,5-ビスリン酸 → 3-ホスホグリセリン酸 + グリコール酸) をも触媒する。この両反応は互いに競合しているため、二酸化炭素が欠乏するとカルボキシラーゼ反応が抑制され、オキシゲナーゼ反応が促進される。オキシゲナーゼ反応が活発になると、3-ホスホグリセリン酸の生成速度が減ると同時に、カルビンサイクルの中間代謝産物の枯渇が起き、カルビンサイクルが徐々に阻害される。そこで、オキシゲナーゼ反応で生成されたグリコール酸から3-ホスホグリセリン酸を生成し、カルビンサイクルの阻害を防ぐ働きをしているのが、光呼吸回路である。実際、光呼吸回路に働く酵素を欠失した変異体では、強光下でカルビンサイクルの炭酸固定活性が低下する¹⁵⁾。

従来、カルビンサイクルの阻害はPSIIの光損傷を促進し、光阻害を引き起こすと考えられてきた。そのため、光呼吸回路は、二酸化炭素欠乏時に、PSIIの光損傷の抑制に働くと考えられてきた。しかし、前述した

ように、カルビンサイクルの阻害は光損傷の促進ではなく、PSII修復機構を阻害し、光阻害を引き起こす^{7,23)}。また、光呼吸回路を欠失した変異体を用いた実験でも、強光下でD1タンパク質の合成が阻害され、PSIIの修復が阻害されることが示されている¹⁵⁾。さらに、光呼吸回路の欠損は、光損傷速度に全く影響しないことも示されている。炭酸固定の阻害は、活性酸素の生成を促進し、D1タンパク質の合成を阻害する。そのため、光呼吸回路は、二酸化炭素欠乏時に、カルビンサイクル阻害による活性酸素の生成を抑え、PSIIの修復阻害を防いでいると考えられる (図3)。

サイクリック電子伝達-熱放散システム

PSIIのアンテナタンパク質にはクロロフィルの他、キサントフィルが存在している。弱光下では、キサントフィルの多くはビオラザンチンとして存在しており、光合成色素として働いている。しかし、強光下では、ビオラキサントニンがビオラキサントニンデポキシダーゼの触媒によりアンテラキサントニンを経てゼアキサントニンへと変化する。ゼアキサントニンに吸収された光エネルギーは、光合成には使われず、熱として放出される⁵⁾。これが熱放散である。熱放散には、ビオラキサントニンデポキシダーゼの他、PSIIのPsbSタンパクが重要な働きをしている。そのため、いずれか一方を欠失したシロイヌナズナの変異体では、熱放散が見

られなくなる^{33,34)}。熱放散の誘導には、チラコイドの内側 (ルーメン側) の酸性化が必要で、サイクリック電子伝達によるチラコイド膜の外側から内側へのプロトン輸送が重要な働きをしている。サイクリック電子伝達には、PGR5タンパク質依存経路とNDH複合体依存経路の二つの経路がある。シロイヌナズナでは前者が主要な経路として働いており、PGR5を欠失した変異体では熱放散の誘導が阻害さ

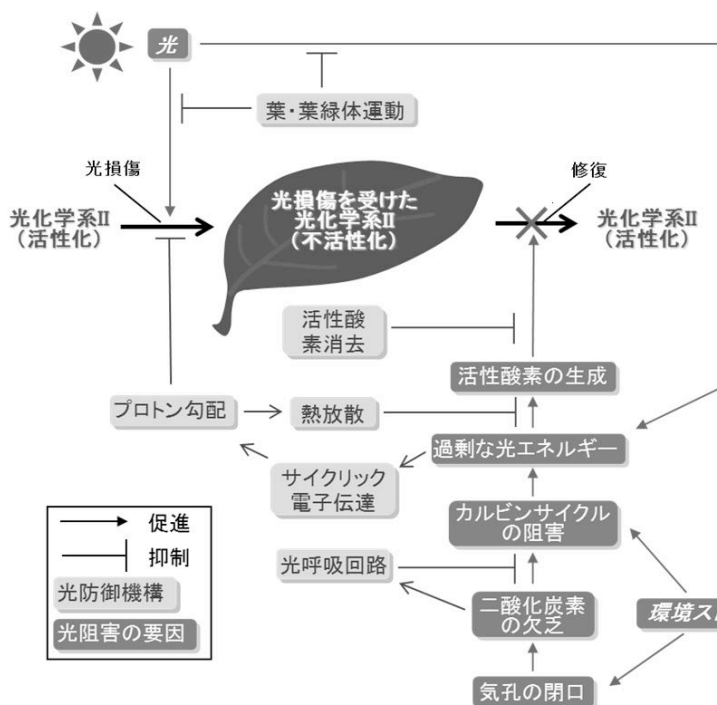


図3 光防御機構による光阻害の抑制
PSIIは光によって損傷を受け不活性化する。不活性化したPSIIは修復機構により再び活性化される。光損傷速度が修復速度を上回ると、光阻害が起こる。植物に備わった光防御機構は、光損傷の抑制と修復阻害の抑制により、光阻害を防いでいる。

れる^{35,36)}。

熱放散やサイクリック電子伝達を欠失したシロイヌナズナの変異体では、光阻害が起こりやすくなることから、以前からこれらが光防御に働くことは知られていた³³⁻³⁶⁾。プロトン勾配を無くす試薬で熱放散を阻害すると、PSIIの光損傷が速く起こるため、熱放散がPSIIの光損傷の抑制に働くと考えられてきた。また、このことは、過剰に吸収された光エネルギーがPSIIの光損傷を引き起こす証拠としても使われてきた。しかし、熱放散を欠失した変異体では、PSIIの光損傷速度に野生種と違いは全くない¹³⁾。ただ、プロトン勾配を形成できないPGR5変異体では、PSIIの光損傷が野生種よりも速く起こる¹³⁾。これらの結果は、プロトン勾配は光損傷の抑制に働くが、それは熱放散とは無関係ということを示している。プロトン勾配がどのように光損傷を抑制するのかは不明だが、プロトン勾配によってチラコイド膜内に取り込まれるカルシウム (PSIIの安定化に働く) が関与していることが予想されている。

では、熱放散はどのように光阻害を防ぐのか？熱放散を欠失した変異体でも、PGR5を欠失した変異体でも共通に見られるのが、強光下でのD1タンパク質合成の阻害と、それによるPSII修復の阻害である¹³⁾。これは、サイクリック電子伝達で誘導される熱放散が、過剰な光による修復阻害 (D1タンパク質の合成阻害) を抑制し、光阻害を防いでいることを示している。過剰な光は活性酸素の生成を引き起こす。そのため、熱放散による過剰な光エネルギーの放出は、活性酸素の生成を抑制し、活性酸素によるPSIIの修復阻害を防いでいると考えられる (図3)。

活性酸素消去機構

光合成色素に吸収された光エネルギーが過剰な場合、そのエネルギーが酸素に渡り、活性酸素種が生成される³⁷⁾。主な活性酸素の生成部位は、PSIとPSIIで、発生機構も発生する活性酸素種も異なる。PSIでは電子が酸素に渡りスーパーオキシド (O_2^-) を介して過酸化水素 (H_2O_2) が生成され、PSIIでは励起された三重項クロロフィルと酸素との反応で一重項酸素 (1O_2) が生成される。これに対し、葉緑体には活性酸素の消去に働く、活性酸素消去機構が備わっている³⁷⁾。一重項酸素の消去には、抗酸化物質のトコフェロールやカロチノイド (ゼアキサンチン、ネオキサン

チン、ルテイン) が主に働く。一方、スーパーオキシドと過酸化水素の消去にはスーパーオキシドジスムターゼ (スーパーオキシドから過酸化水素への反応を触媒) とアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (過酸化水素から水への反応を触媒) が働く。

以前は、光過剰環境下で生成される活性酸素種がPSIIの光損傷を引き起こすと考えられてきた。そのため、活性酸素消去機構は光損傷を抑えて、光阻害を防ぐと考えられてきた。しかし、実際には、上述したように、活性酸素消去機構を欠失した変異体では光阻害が起こりやすくなるが、それは、PSIIの光損傷が促進されるからではなく、PSII修復機構 (D1タンパク質合成の翻訳) が阻害されるからである^{14,25,26)}。つまり、活性酸素消去機構は、光過剰な環境下で生成される活性酸素を消去することで、活性酸素によるPSIIの修復阻害を抑え、光阻害を防いでいる (図3)。

5. おわりに

従来、PSIIの光損傷は光合成色素に吸収された過剰な光エネルギーにより生成された活性酸素種によるものと考えられてきた。また、過剰に吸収された光エネルギーの消去 (熱放散や光呼吸回路) や活性酸素の消去に働く光防御機構は、PSIIの光損傷を抑え、光阻害を防いでいると考えられてきた。これらのことは、多くの論文や教科書的な本に書かれていたことなので、多くの研究者が、既に実験的に証明された事実だと思っていたに違いない。きっと、未だにそう思っている人も多いと思う。では、そのことを証明した論文はどれかと質問されて、答えられるだろうか。きっと答えられないのではないだろうか。なぜなら、そのような論文はないからである。実は、最近の研究結果というのは、以前と異なる研究結果が出てきたという事ではない。ただ単に、実際には調べられていなかったことを調べたら、従来の考え (仮説) と異なる結果が出てきたという事なのである。光阻害研究の盲点だったのである。

謝辞

本稿で紹介した研究の多くは、基礎生物学研究所の村田紀夫先生の研究室、オーストラリア国立大学のMurray Badger先生の研究室に私が在籍中に、多くの共同研究者と共に行われました。お二人の先生、及び協力して下さった共同研究者の皆様から感謝申し上げます。

げる。また、今回、執筆の機会を与えて下さった、埼玉大学の西山佳孝先生に心から感謝申し上げる。

Received July 19, 2013, Accepted July 23, 2013, Published August 31, 2013

参考文献

- Nixon, P. J., Michoux, F., Yu, J. F., Boehm, M., and Komenda, J. (2010) Recent advances in understanding the assembly and repair of photosystem II. *Ann. Bot.* 106, 1-16.
- Takahashi, S., and Badger, M. R. (2011) Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends Plant Sci.* 16, 53-60.
- Takahashi, S., and Murata, N. (2008) How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends Plant Sci.* 13, 178-182.
- Melis, A. (1999) Photosystem II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage *in vivo*? *Trends Plant Sci.* 4, 130-135.
- Niyogi, K. K. (1999) Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 333-359.
- Tyystjärvi, E., and Aro, E. M. (1996) The rate constant of photoinhibition, measured in lincomycin-treated leaves, is directly proportional to light intensity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 2213-2218.
- Takahashi, S., and Murata, N. (2005) Interruption of the Calvin cycle inhibits the repair of photosystem II from photodamage. *Biochim. Biophys. Acta* 1708, 352-361.
- Hakala, M., Tuominen, I., Keränen, M., Tyystjärvi, T., and Tyystjärvi, E. (2005) Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of Photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1706, 68-80.
- Allakhverdiev, S. I., Nishiyama, Y., Takahashi, S., Miyairi, S., Suzuki, I., and Murata, N. (2005) Systematic analysis of the relation of electron transport and ATP synthesis to the photodamage and repair of photosystem II in *Synechocystis*. *Plant Physiol.* 137, 263-273.
- Vass, I., and Cser, K. (2009) Janus-faced charge recombinations in photosystem II photoinhibition. *Trends Plant Sci.* 14, 200-205.
- Ohnishi, N., Allakhverdiev, S. I., Takahashi, S., Higashi, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., and Murata, N. (2005) Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: step 1 occurs at the oxygen-evolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. *Biochemistry* 44, 8494-8499.
- Takahashi, S., Milward, S. E., Yamori, W., Evans, J. R., Hillier, W., and Badger, M. R. (2010) The solar action spectrum of photosystem II damage. *Plant Physiol.* 153, 988-993.
- Takahashi, S., Milward, S. E., Fan, D.-Y., Chow, W.S., and Badger, M. R. (2009) How does cyclic electron flow alleviate photoinhibition in *Arabidopsis*? *Plant Physiol.* 149, 1560-1567.
- Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2005) Inhibition of the repair of photosystem II by oxidative stress in cyanobacteria. *Photosynth. Res.* 84, 1-7.
- Takahashi, S., Bauwe, H., and Badger, M. (2007) Impairment of the photorespiratory pathway accelerates photoinhibition of photosystem II by suppression of repair process and not acceleration of damage process in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 144, 487-494.
- Komenda, J., Sobotka, R., and Nixon, P. J. (2012) Assembling and maintaining the Photosystem II complex in chloroplasts and cyanobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15, 245-251.
- Sakamoto, W. (2006) Protein degradation machineries in plastids. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 599-621.
- Boehm, M., Yu, J., Reisinger, V., Beckova, M., Eichacker, L. A., Schlodder, E., Komenda, J., and Nixon, P. J. (2012) Subunit composition of CP43-less photosystem II complexes of *Synechocystis* sp PCC 6803: implications for the assembly and repair of photosystem II. *Philos. Trans. R. Soc. B-Biol. Sci.* 367, 3444-3454.
- Aro, E. M., McCaffery, S., and Anderson, J. M. (1993) Photoinhibition and D1 protein degradation in peas acclimated to different growth irradiances. *Plant Physiol.* 103, 835-843.
- Aro, E. M., McCaffery, S., and Anderson, J. M. (1994) Recovery from photoinhibition in peas (*Pisum Sativum* L.) acclimated to varying growth irradiances: role of D1 protein turnover. *Plant Physiol.* 104, 1033-1041.
- Mattoo, A. K., Hoffman-Falk, H., Marder, J. B., and Edelman, M. (1984) Regulation of protein metabolism: coupling of photosynthetic electron transport to *in vivo* degradation of the rapidly metabolized 32-kilodalton protein of the chloroplast membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 1380-1384.
- Danon, A. (2002) Redox reactions of regulatory proteins: do kinetics promote specificity? *Trends Biochem. Sci.* 27, 197-203.
- Takahashi, S., and Murata, N. (2006) Glycerate-3-phosphate, produced by CO₂ fixation in the Calvin cycle, is critical for the synthesis of the D1 protein of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1757, 198-205.
- Murata, N., Takahashi, S., Nishiyama, Y., and Allakhverdiev, S. I. (2007) Photoinhibition of photosystem II under environmental stress. *Biochim. Biophys. Acta* 1767, 414-421.
- Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2006) A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1757, 742-749.
- Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2011) Protein synthesis is the primary target of reactive

- oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiol. Plant.* 142, 35-46.
27. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., Yamamoto, H., Hayashi, H., and Murata, N. (2004) Singlet oxygen inhibits the repair of photosystem II by suppressing the translation elongation of the D1 protein in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry* 43, 11321-11330.
 28. Nishiyama, Y., Yamamoto, H., Allakhverdiev, S. I., Inaba, M., Yokota, A., and Murata, N. (2001) Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery. *EMBO J.* 20, 5587-5594.
 29. Inoue, S., Ejima, K., Iwai, E., Hayashi, H., Appel, J., Tyystjärvi, E., Murata, N., and Nishiyama, Y. (2011) Protection by α -tocopherol of the repair of photosystem II during photoinhibition in *Synechocystis* sp PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta.* 1807, 236-241.
 30. Kao, W. Y., and Forseth, I. N. (1992) Diurnal leaf movement, chlorophyll fluorescence and carbon assimilation in soybean grown under different nitrogen and water availabilities. *Plant Cell Environ.* 15, 703-710.
 31. Pastenes, C., Pimentel, P., and Lillo, J. (2005) Leaf movements and photoinhibition in relation to water stress in field-grown beans. *J. Exp. Bot.* 56, 425-433.
 32. Kasahara, M., Kagawa, T., Oikawa, K., Suetsugu, N., Miyao, M., and Wada, M. (2002) Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. *Nature* 420, 829-832.
 33. Havaux, M., and Niyogi, K. K. (1999) The violaxanthin cycle protects plants from photooxidative damage by more than one mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 8762-8767.
 34. Li, X. P., Muller-Moule, P., Gilmore, A. M., and Niyogi, K. K. (2002) PsbS-dependent enhancement of feedback de-excitation protects photosystem II from photoinhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 15222-15227.
 35. Munekage, Y., Hashimoto, M., Miyake, C., Tomizawa, K.-I., Endo, T., Tasaka, M., and Shikanai, T. (2004) Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis. *Nature* 429, 579-582.
 36. Munekage, Y., Hojo, M., Meurer, J., Endo, T., Tasaka, M., and Shikanai, T. (2002) *PGR5* is involved in cyclic electron flow around photosystem I and is essential for photoprotection in *Arabidopsis*. *Cell* 110, 361-371.
 37. Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 601-639.

Photoinhibition and Photoprotection Mechanisms under Excessive Light Conditions

Shunichi Takahashi

Research School of Biology, Australian National University

光阻害の原因が複数のメカニズムの同時寄与である可能性[‡]

東北大学 大学院生命科学研究所

小口 理一*

光阻害のメカニズムには未だ不明な点が多く、複数の仮説間で論争が続いている。大きな論点の一つとして、光阻害の最初の原因が、クロロフィルによる吸光なのか酸素発生複合体内のマンガンによる吸光なのかという問題がある。クロロフィルとマンガンの吸光スペクトルには大きな差がある点、クロロフィルが吸収した光エネルギーは光合成等で消費される一方でマンガンによる吸光はそのままマンガンの遊離につながる点、光阻害を測定するクロロフィル蛍光法は高等植物の葉のどの深さを測定しているか解らない点に注目し、光の色と強度を変えて光阻害実験を行うとともに、葉内での光阻害強度の変化を調べた。実験は光化学系II修復阻害剤を与えて行った。クロロフィルによる吸光とマンガンによる吸光が同時に関わらなければ説明できない結果となり、複数のメカニズムが同時に関わる可能性が示唆された。また、葉内には光阻害の勾配があり、クロロフィル蛍光による光阻害強度測定には有意な誤差が生じている事が明らかになった。

1. はじめに

光は植物にとって欠くことのできない資源である一方、そのエネルギー故に光合成器官に損傷を与える^{1,4)}。光阻害は強光環境でよく観察されるが、光強度は太陽の動きや、気象条件、上層の葉群の動態などによって、時間的にも変化するため、特に弱い光強度から強い光強度への変化が光阻害につながりやすいことが知られている⁵⁾。また、陰生植物や陰葉の方が陽生植物や陽葉よりも光阻害を受けやすい⁶⁾。

光阻害は農・林業生産物の収量低下をもたらすとともに、高・低温や乾燥、不適な土壌といったストレス環境下で強まるため、荒廃地・不適土壌といった場所での森林再生の妨げにもなっている^{7,8)}。このことから、光阻害のメカニズムの解明は、農・林業の生産向上、バイオ燃料生産技術の向上、砂漠地帯や荒廃地での森林再生技術の向上を介して、食料問題や地球温暖化問題といった持続可能社会実現に向けた大きな課題の解決に貢献できると考えられている。そのため、光阻害のメカニズム及び光阻害耐性機構については多くの研究が進められてきた⁹⁻¹²⁾。しかし、未だそのメカニズムには不明な部分が多い。

光阻害は広義には、熱放散による光合成効率の低下や、活性酸素種の発生による葉緑体や細胞の不可

逆的な傷害も含まれるが、本稿では、主要な原因である光化学系IIの不活性化について述べる。光化学系IIの不活性化のメカニズムについて現在、大きく分けて二つの仮説が提唱されている。一つ目は、光化学系IIのクロロフィルが受けた光エネルギーのうち光合成や熱放散などで消費しきれない過剰な光エネルギーがダメージを引き起こすとし、Excess energy仮説と呼ばれる^{13,14)}。二つ目は、光化学系IIの酸素発生複合体に存在するマンガンが光によって励起されることで遊離し、酸素発生複合体が機能を失った状態で、光化学系IIの反応中心が励起されることがダメージを引き起こすというもので、Mn説もしくはTwo-step仮説と呼ばれる^{15,16)}。前者では、過剰な光エネルギーが発生しない弱光環境では光化学系IIの光阻害は起こらないはずであるのに対し、後者では弱光環境であっても一定確率でマンガンが光を吸収するために光阻害は起こるはずである。このように二つの説には根本的な違いがあるが、論争に決着がついていない。

著者らは、これまでの研究ではこれらの複数のメカニズムが光阻害に同時に関わる可能性が考えられてこなかったことに注目した。そこで、複数のメカニズムが同時に起きている可能性を考慮し、これらのメカニズムの寄与を定量することを目的とする研究を

[‡] 解説特集「光阻害」

* 連絡先 E-mail: riichi@biology.tohoku.ac.jp

行った。

また、これらの研究にともない、現在光阻害の測定で最も広く用いられているクロロフィル蛍光法において、高等植物の葉の測定では有意な誤差が生じる事が明らかになったので、それについても紹介する。

2. 異なる光強度および波長下での光阻害速度

まず著者らは、以下の2点を工夫した実験系を考案した。

1. 過剰なエネルギーが生じない $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ほどの弱光ではexcess energyメカニズムによる光阻害は起こらないのに対しMnメカニズムによる光阻害は起こるため、この光環境での光阻害を測定することでMnメカニズムによる光阻害の大きさを推定できる。また、過剰エネルギーが高まる強光環境での光阻害強度と比較することで、excess energyメカニズムによる光阻害への寄与の推定も可能である。

2. excess energyメカニズムではクロロフィルによる吸光が光阻害の原因となるのに対しMnメカニズムではマンガンによる吸光が光阻害の原因であるが、クロロフィルとマンガンでは吸収スペクトルが大きく異なる(図1)。クロロフィルは青色と赤色域に極大吸収波

長があるため、excess energyメカニズムでは青色と赤色で緑色に比べて光阻害が大きくなるはずであるが、マンガンは紫外線域に極大吸収波長があり、青色から赤色にかけて吸光度が低下していくためMnメカニズムでは光阻害の強さは青色、緑色、赤色の順になると考えられている。よって、異なる色のLED光源を用いた光阻害実験により、各メカニズムの影響の大きさを推定することができる考えた。

また、これまでのMn仮説を支持する研究が単離チラコイド膜や切り葉で行われてきたことにも注目した。単離チラコイド膜や切り葉の状態では光合成活性を高い状態に保つことが難しい。光合成活性が低下して行くことで、一定光強度下であっても徐々にexcess energyが高まり、excess energyによる光阻害への影響を正しく評価できなくなる可能性が高い。そこで、我々は*in vivo*の弱光環境で実際に光阻害が起こるのかを確かめるため、切除していない葉の光阻害を非破壊的に観察することにした。植物には光阻害による損傷を修復する能力があるため、光阻害の程度は損傷速度と修復速度のバランスで決まる。本研究では修復速度の影響を排除するために、根から光化学系の修復阻害剤であるリンコマイシンを吸わせた個体を用いて実験を行った¹⁹⁾。

光阻害処理は、白色、青色(ピーク: 460 nm)、緑色(ピーク: 530 nm)、赤色(ピーク: 640 nm)発光ダイオード(LED)を用いて、弱光、中光、強光(それぞれ $30, 60, 950 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)環境で行った。葉が受ける受光量を一定にするために、強光下では最長80分間の処理を行う一方で、弱光下では最長42時間半の処理を行った。修復阻害剤を根から吸わせた切除していない葉を用いることで、この長時間の光阻害処理が可能となった。

光阻害強度の測定には、非破壊的に繰り返し測定するため、クロロフィル蛍光測定装置(PAM101, Walz)を用いた。光阻害処理後30分間暗所におき、熱放散を緩和させた状態で、最小蛍光強度(F_0)および最大蛍光強度(F_m)を求めた。ここで $F_v = F_m - F_0$ とすると、 F_v/F_m は最大光化学系II効率と呼ばれ、光化学系II活性と強い相関を持つことが知られている²⁰⁾。 F_v/F_m の低下の大きさから光阻害の程度を推定した。(後述するように、クロロフィル蛍光法による光阻害の程度の測定には定量的な誤差が生じるが、定性的には問題はない。詳しくは第4節を参照のこと。)

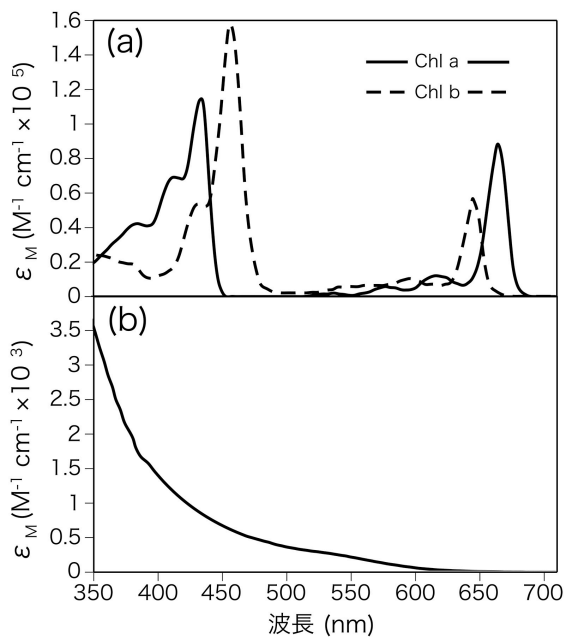


図1 クロロフィルa/bの吸光スペクトル (a) およびMnクラスターの予測吸光スペクトル (b)

縦軸は分子吸光係数。(b)はMnクラスターの25%が3価のマンガン、75%が4価のマンガンであることを仮定している。(a)のデータはOhashi et al.¹⁷⁾より。(b)のデータはBodini et al.¹⁸⁾より。

結果は、過剰エネルギーがほとんどない弱光や中光でも光阻害が起きており、光阻害の強度はマンガンの吸光スペクトルに従って青色、白色、緑色、赤色の順となっていた(図2)。これはMnメカニズムによる貢献を意味する。一方で、受光量あたりの光阻害の強度は、弱光や中光よりも強光で有意に高かった。この実験では強光では阻害時間を短く、弱光では阻害時間を長くして一定の光量子量を当てているため、励起されるマンガンの量は光強度によらず等しい。Mn説だけが正しいとすると、どの光強度でも阻害の程度は一緒になるはずだが、過剰エネルギーが高くなる強光で光阻害が大きくなっていったことは、excess energyメカニズムによる貢献を意味する。これらの結果から、excess energyメカニズムとMnメカニズムの両方が同時に起きていることが示唆された²¹⁾。

強光での光阻害の程度は、弱光や中光での光阻害

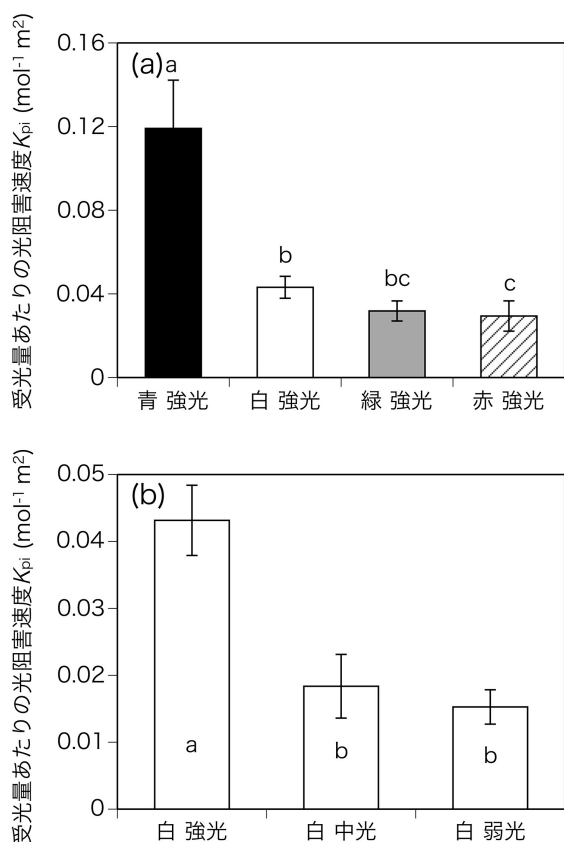


図2 *Capsicum annuum*の葉が同一量 (4.6 mol m^{-2}) の光量子を受けたときの各色での光阻害強度 (a) および、同一条件での各光強度での光阻害強度 (b: 阻害を受けた光化学系IIの割合)

(a) は強光で阻害した結果のみを、(b) は白色光での結果のみを示した。

の程度の2倍ほどであったことから、excess energyメカニズムによる貢献とMnメカニズムによる貢献はほぼ同じ程度であることが推測されるが、この研究では異なる光強度条件での受光量を一定にするため、照射時間を大きく変えており、それに伴う、順化や老化の影響を含んでいる可能性を否定できない。また、種や環境条件によって貢献度が変化する可能性もある。それぞれのメカニズムの貢献度を明らかにするには今後の研究の発展が期待される。

3. 葉内での光阻害の勾配と光阻害スペクトル

森林などの群落では群落上部から下部にかけて光強度の勾配が見られるが、一枚の葉の内部でも光強度の勾配が見られる。これは群落で葉が光を吸収することで光強度が減衰していくと同様に、葉の内部では葉緑体が光を吸収することで葉の表側から裏側にかけて光強度が減衰していくためである²²⁾。

光阻害は光エネルギーによって引き起こされるため、光強度が強いほど光阻害の程度は強くなる。このため、葉内での光強度の勾配は、葉内での光阻害の程度にも勾配をもたらすと考えられる²³⁾。また、光はその波長・色によって葉緑体による吸光度が異なる。葉や葉緑体が緑色をしていることから解るように、赤や青色の波長の光に比べると緑色の波長の光は、葉緑体に吸収されにくく、葉内でより深くまで光が届いている²⁴⁾。このような波長・色による葉内での光強度の勾配の差は、葉内での光阻害の程度の勾配にも差をもたらすと考えられる。

これらの仮説を確かめるため、光ファイバーを用いて葉内のクロロフィル蛍光を測定するシステムを立ち上げた。光ファイバーを用いてクロロフィル蛍光を測定することが出来る蛍光測定装置 (Microfiber PAM, Walz) の光ファイバー 1本の先端をバーナーで熱して引き延ばし、先端の細さを直径30 μm 程に細くすることで、ファイバーが葉内に刺さるようにした。マイクロマンニピレーターを用いてマイクロメートル単位で葉に差し込んでいくことで、葉内の各深さでの光阻害の程度の測定を可能にした。青色光 (400-500 nm)、緑色光 (500-600 nm)、赤色光 (600-700 nm) で光阻害した結果、予測通り、赤や青色の波長の光に比べて緑色の波長の光の方が葉内での光阻害の程度の勾配が弱いことが示された(図3)。また、葉の表面付近では青、赤、緑の順で光阻害が強くなっていった

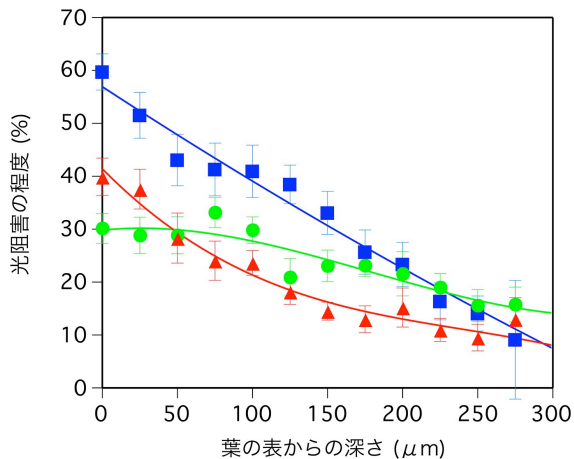


図3 *Capsicum annuum*の葉内での各深さにおける光阻害の程度

光阻害の程度は先端を30 μm程に細くして葉に刺さるようにした光ファイバーを葉内に挿入することで各深さでのクロロフィル蛍光を測定した。阻害処理前の光化学系IIの活性を100%としたときの割合で示す。□は青色光 (400 - 500 nm)、○は緑色光 (500 - 600 nm)、△は赤色光 (600 - 700 nm) で光阻害したサンプルを、誤差線は標準誤差を示す。Oguchi et al.²⁵⁾のデータを用いて図を改訂した。

が、葉の内部では赤と緑の順番が逆転していた。葉の表面付近の光阻害の程度はクロロフィルの吸光スペクトルに従っており、excess energyメカニズムを指示する結果であった。一方で、葉の深い場所でも常に青色による光阻害は赤色による光阻害よりも程度が大きくなっていた。青色光は赤色光よりもクロロフィルによって吸収されやすいため、葉の深い場所には赤色光の方がより届いている²⁶⁾。よって、excess energy説だけが正しいとすると、赤色光の方が葉の深くでは光阻害の程度が高くなるはずである。しかし、青色光による光阻害の程度が大きくなっていたのは、青色の吸収が強いMnメカニズムによる貢献があったためと考えられる。さらに、各深さの光阻害の程度と光化学系IIの分布から、葉全体の光阻害の程度を計算したところ、光阻害の程度は青色、緑色、赤色の順になっており、こちらもMnメカニズムによる貢献を示唆した。よって、これらの結果は、Excess energy説とMn説の両者が光阻害に関わっていることを支持するものであった²⁵⁾。

また、このことは、葉のどの深さを測定しているかによって、光阻害スペクトルや光阻害の程度が変化しうることを意味する。測定機械や、材料によって変化しうることに注意して研究を行う必要がある。

4. クロロフィル蛍光法の誤差と、新しい光阻害・光化学系II活性測定法

現在、光阻害や光化学系IIの活性の測定にはクロロフィル蛍光法が最も広く用いられている²⁷⁻²⁹⁾。クロロフィル蛍光法は非破壊的に短時間で測定することが可能であり、野外でも用いることが出来るため、様々な分野で利用されている。しかし、クロロフィル蛍光法は測定光を葉の表面に当て、それによって励起されたクロロフィルから放出される蛍光を測定しているが、測定光も蛍光も可視光域の光であるため、クロロフィルによってよく吸収されてしまい、葉の表面の光化学系IIの状態は測れても、葉の深くの光化学系IIの状態を測ることが出来ないと考えられる。光阻害を受けた葉の活性状態を測るときなどは、前節で述べたように、葉の表面の光化学系は強い光を受けるために強い光阻害を受けているが、葉の裏面の光化学系IIは葉の組織を通過してきた弱い光しか受けられないためほとんど光阻害を受けていないような状況が生まれている(図3)。これにより、葉のどの深さを測るかによって、測定値に誤差が生じることが予想される。

実際、葉全体の光阻害を測定できる方法による結果と、測定光の色などの特徴が異なる複数のクロロフィル蛍光測定装置で測定した光化学系IIの活性の結果を比較すると図4のようになる。光阻害時間を変える事により様々な光化学系IIの活性を得ているが、横軸の一点は一つのサンプルであり、その一つのサンプルを複数のクロロフィル蛍光測定装置で測定している。理想的にはどの機械も同じ値を示すべきだが、縦に複数の点がある結果になっている。つまり同じサンプルを測定しても機械によって測定値が異なってしまうことを意味する。また、白抜きシンボルは赤色の測定光を使って測定したもの、黒塗りのシンボルは青色の測定光を使って測定したものを意味するが、全体的に赤色で測定したものが対角線の上側に、青色で測定したものが下側に来ている。これは、赤色の測定光を使う機械は光阻害後の光合成活性を過大評価しており、青色の測定光を使う機械は過小評価していることを示唆する。この差は、赤色光は青色光よりもクロロフィルによる吸光が弱いため(図1a)²⁶⁾、より深くの組織に測定光が達していたためと考えられる。つまり、青色光は葉の表付近ですぐに吸収されてしまうため、葉の表付近の光阻害が強い部分しか測定できていないため光合成活性を過小評価

し、赤色光は葉の奥深くまで届くため、葉の裏の光阻害がほとんど起こっていない部分も測定することで、光合成活性を過大評価していると考えられる。

葉組織全体の正しい光化学系IIの活性、光阻害の状態を調べるためには、酸素電極を用いて、光化学系IIを一回だけ励起するsingle turnover flashを複数回当て、発生する酸素量から光化学系の活性を求めるという方法をとる必要があった³⁰⁾。しかし、この酸素電極による方法は、single turnover flashによるごくわずかな酸素発生量を測る必要があるために、一回の測定に30分ほどかかってしまうことと、植物個体から切り離れた葉

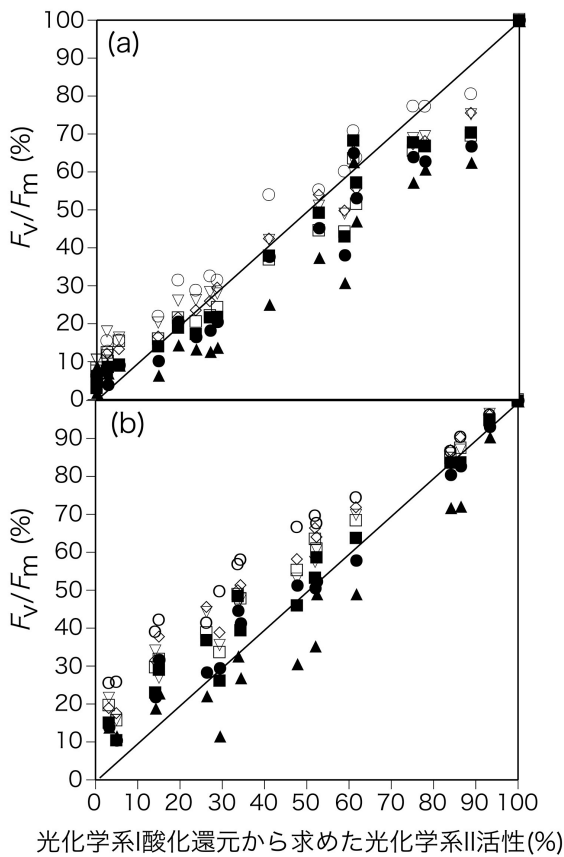


図4 クロロフィル蛍光法による光阻害処理後の光化学系II活性測定の誤差

縦軸は測定光の波長や光センサー用のフィルターなどが少しずつことなる複数の蛍光測定装置を用いて、色々な程度に光阻害した葉について、同じサンプルを複数の機械で測定した。中抜きは赤色測定光を用いた機種で、それぞれ○: PAM101 (Walz)、◇: miniPAM (Walz)、▽: PEAmeter (Hansatech)、□: PAM100 (Walz) を示す。黒塗りのシンボルは青色測定光を用いたPAM101を示し、■: 710 nm以上の蛍光を測定、●: 660 - 710 nmの蛍光を測定、▲: 660 nm以下の蛍光を測定。横軸は図5で示す光化学系Iの酸化還元速度から光化学系IIの活性を求めたもので、葉組織全体の活性を測定できる。(a) は*Capsicum annum*、(b) は*Spinacia oleracea*を用いた。図はOguchi et al.²⁵⁾を改訂。

でないと測定できないという欠点があった。そこで、著者らはオーストラリア国立大学のChow教授の下、全組織的な光阻害・光化学系II活性の測定法を考案した。この測定法は光化学系Iの酸化還元状態を測ることで光化学系IIの活性を測定するものである。光化学系Iの酸化還元状態が変化すると葉の吸光スペクトルが変化する。この変化は810 nm / 870 nmというクロロフィルなどの葉の色素によってほとんど吸収されない波長においても見ることが出来るため、測定光は葉の全組織に行き渡り、全組織的な測定を行うことが可能である³¹⁾。光化学系IIにはほとんど吸収されないが光化学系IIにより良く吸収されるfar-red光を当てて、光化

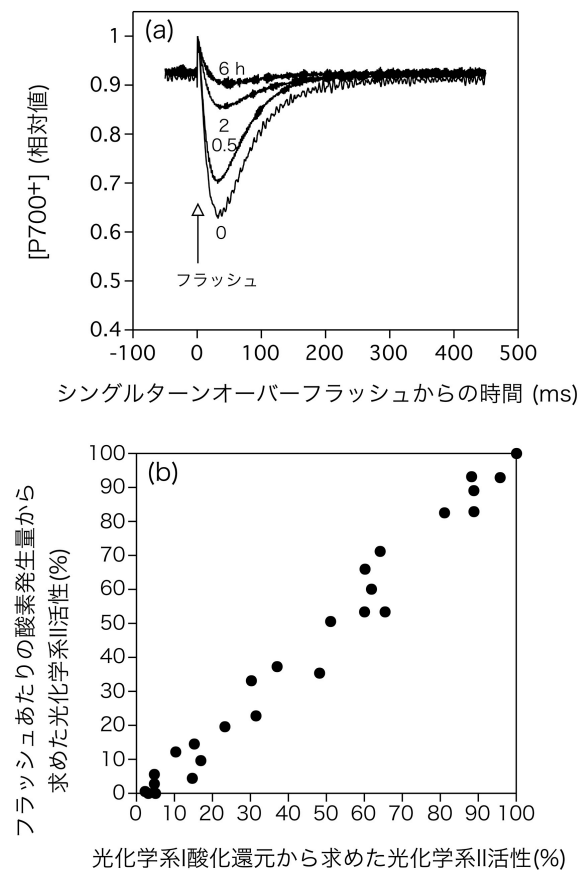


図5 P700 (光化学系I反応中心) の酸化還元反応速度を利用した、光化学系II活性測定法 (a) およびsingle turnover flashあたりの酸素発生量から求めた光化学系II活性との比較 (b)

(a) は光化学系Iの酸化還元状態から光化学系IIの活性を測定した結果の一例。Flashを当てる前の定常状態とFlashによる光化学系IIからの電子の流れが終わった後の定常状態とを結んだ直線と、Flashを当てた直後のカーブとの間の面積が光化学系IIの活性と比例する。図中の0-6 hと示されているラインは光阻害処理を0から6時間行った後の結果である。カーブと定常状態との間の面積が光阻害処理時間を長くすると小さくなるのが解る。

学系Iのみを酸化状態にしたあとに、single turnover flashを当てると、光化学系Iが完全に酸化された後、光化学系IIから電子が流れてくるために、光化学系は一度還元され、またその後、far-red光によって酸化されて定常状態に戻るといったことが起きる(図5a)。光化学系IIから流れてきた電子の量は活性状態にある光化学系IIの量と一致するため、定常状態からの変化量(具体的には光化学系I酸化還元の定常状態を結んだ線とsingle turnover flash直後のキネティクスカーブとの間の面積)が光化学系IIの活性と比例することを利用する³²⁾。この測定を様々な種で行い、酸素発生による光化学系II活性の結果と比較したところ、葉の厚さの違いに関わらず、ほぼ原点を通る直線で回帰され、どちらの測定方法も全葉組織的な測定が行われていることが示された³²⁾。図5bでは*Capsicum annuum*を測定した例を示す。

謝辞

本稿で紹介した研究においてご指導頂いた、オーストラリア国立大学 Wah Soon Chow教授、東京大学 寺島一郎教授、および共同研究者であるPeter Douwstra氏、藤田貴志氏、Pasquale Losciale博士に感謝申し上げます。

Received July 12, 2013, Accepted July 22, 2013, Published August 31, 2013

参考文献

- Osmond, C. B. (1994) What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. in *Photoinhibition of Photosynthesis from Molecular Mechanisms to the Field* (Baker, N. R. and Bowyer, J. R., Eds.) pp 1-24, BIOS Scientific Publishing Ltd., Oxford, UK.
- Osmond, B., Badger, M., Maxwell, K., Björkman, O., and Leegood, R. (1997) Too many photos: Photorespiration, photoinhibition and photooxidation. *Trends Plant Sci.* 2, 119-121.
- Chow, W. S., Lee, H. Y., He, J., Hendrickson, L., Hong, Y. N., and Matsubara, S. (2005) Photoinactivation of Photosystem II in leaves. *Photosynth. Res.* 84, 35-41.
- Demmig-Adams, B., and Adams, W. W., III (2006) Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytol.* 172, 11-21.
- Naidu, S. L., and Delucia, E. H. (1997) Acclimation of shade-developed leaves on saplings exposed to late-season canopy gaps. *Tree Physiol.* 17, 367-376.
- Demmig-Adams, B., and Adams, W. W. (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43, 599-626.
- Long, S. P., Humphries, S., and Falkowski, P. G. (1994) Photoinhibition of Photosynthesis in Nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45, 633-662.
- Alves, P., Magalhaes, A. C. N., and Barja, P. R. (2002) The phenomenon of photoinhibition of photosynthesis and its importance in reforestation, *Bot. Rev.* 68, 193-208.
- Oguchi, R., Terashima, I., Kou, J. C., and Chow, W. S. (2011) Operation of dual mechanisms that both lead to photoinactivation of Photosystem II in leaves by visible light. *Physiol. Plant.* 142, 47-55.
- Vass, I. (2011) Role of charge recombination processes in photodamage and photoprotection of the photosystem II complex. *Physiol. Plant.* 142, 6-16.
- Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2011) Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiol. Plant.* 142, 35-46.
- Takahashi, S., and Badger, M. R. (2011) Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends Plant Sci.* 16, 53-60.
- Ögren, E., Öquist, G., and Hallgren, J. E. (1984) Photoinhibition of photosynthesis in lemna-gibba as induced by the interaction between light and temperature.1. Photosynthesis in vivo. *Physiol. Plant.* 62, 181-186.
- Vass, I., Styring, S., Hundal, T., Koivuniemi, A., Aro, E., and Andersson, B. (1992) Reversible and irreversible intermediates during photoinhibition of photosystem II: stable reduced Q_A species promote chlorophyll triplet formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 1408-1412.
- Hakala, M., Tuominen, I., Keränen, M., Tyystjärvi, T., and Tyystjärvi, E. (2005) Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of Photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1706, 68-80.
- Ohnishi, N., Allakhverdiev, S. I., Takahashi, S., Higashi, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., and Murata, N. (2005) Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: Step 1 occurs at the oxygen-evolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. *Biochemistry* 44, 8494-8499.
- Ohashi, S., Miyashita, H., Okada, N., Iemura, T., Watanabe, T., and Kobayashi, M. (2008) Unique photosystems in *Acaryochloris marina*. *Photosynth. Res.* 98, 141-149.
- Bodini, M. E., Willis, L. A., Riechel, T. L., and Sawyer, D. T. (1976) Electrochemical and spectroscopic studies of manganese(II), -(III), and -(IV) gluconate complexes.

1. Formulas and oxidation-reduction stoichiometry. *Inorg. Chem.* 15, 1538-1543.
19. Noren, H., Svensson, P., and Andersson, B. (1999) Auxiliary photosynthetic functions of *Arabidopsis thaliana* - Studies *in vitro* and *in vivo*. *Biosci. Rep.* 19, 499-509.
20. Krause, G. H., and Weis, E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 313-349.
21. Oguchi, R., Terashima, I., and Chow, W. S. (2009) The involvement of dual mechanisms of photoinactivation of photosystem II in *Capsicum annuum* L. plants. *Plant Cell Physiol.* 50, 1815-1825.
22. Terashima, I., and Saeki, T. (1983) Light environment within a leaf I. Optical properties of paradermal sections of camellia leaves with special reference to differences in the optical properties of palisade and spongy tissues. *Plant Cell Physiol.* 24, 1493-1501.
23. Schreiber, U., Kuhl, M., Klimant, I., and Reising, H. (1996) Measurement of chlorophyll fluorescence within leaves using a modified PAM Fluorometer with a fiber-optic microprobe. *Photosynth. Res.* 47, 103-109.
24. Vogelmann, T. C. and Han, T. (2000) Measurement of gradients of absorbed light in spinach leaves from chlorophyll fluorescence profiles. *Plant Cell Environ.* 23, 1303-1311.
25. Oguchi, R., Douwstra, P., Fujita, T., Chow, W. S., and Terashima, I. (2011) Intra-leaf gradients of photoinhibition induced by different color lights: implications for the dual mechanisms of photoinhibition and for the application of conventional chlorophyll fluorometers. *New Phytol.* 191, 146-159.
26. Vogelmann, T. C., and Evans, J. R. (2002) Profiles of light absorption and chlorophyll within spinach leaves from chlorophyll fluorescence. *Plant Cell Environ.* 25, 1313-1323.
27. Genty, B., Briantais, J. M., and Baker, N. R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990, 87-92.
28. Baker, N. R. (2008) Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis *in vivo*. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 89-113.
29. Evans, J. R. (2009) Potential errors in electron transport rates calculated from chlorophyll fluorescence as revealed by a multilayer leaf model. *Plant Cell Physiol.* 50, 698-706.
30. Chow, W. S., Hope, A. B., and Anderson, J. M. (1989) Oxygen per flash from leaf-disks quantifies Photosystem-II. *Biochim. Biophys. Acta* 973, 105-108.
31. Sacksteder, C. A., and Kramer, D. M. (2000) Dark-interval relaxation kinetics (DIRK) of absorbance changes as a quantitative probe of steady-state electron transfer. *Photosynth. Res.* 66, 145-158.
32. Losciale, P., Oguchi, R., Hendrickson, L., Hope, A. B., Corelli-Grappadelli, L., and Chow, W. S. (2008) A rapid, whole-tissue determination of the functional fraction of PSII after photoinhibition of leaves based on flash-induced P700 redox kinetics. *Physiol. Plant.* 132, 23-32.

Possibility of the Involvement of Multi-Mechanisms in Photoinhibition

Riichi Oguchi*

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

光化学系II光阻害の修復過程*

東京大学 大学院理学系研究科

宮田 一範* 寺島 一郎

光は植物にとって必要不可欠な資源である。しかし、葉への入射光が強いと葉の光合成系は光阻害を受ける。光阻害の程度は、光化学系IIの光による不活性化と、不活性化後の修復とのバランスによって決まる。これまで、最も有力な光阻害のメカニズムを説明する仮説は過剰エネルギー説であったが、2005年に2ステップ説が発表された。これは、光阻害における光化学系IIの不活性化が2段階に渡って起こるという説である。光化学系IIが2段階で不活性化されるなら、修復も2段階で起こる必要があるため、光阻害の修復過程も再検討する必要がでてきた。本稿では、MnクラスターとD1タンパク質の2つの修復過程について紹介する。

1. はじめに

植物の光合成において光は必須である。しかし、入射光が強すぎると光合成速度は低下し、光合成の光阻害と呼ばれる現象が起こる。光阻害研究のパイオニアは、クロレラを用いた実験を行ったKokである。Kokは光阻害を「光合成生物において過剰な強さの可視光が光合成活性を低下させる現象」と定義した。この定義は、植物を用いた研究でも踏襲されている²⁾。光阻害の主な原因は、光エネルギーによって光化学系II（以下PSII）が不活性化されることである。PSIIが不活性化する仕組みについては様々な説が唱えられてきた。現在有力なものは、PSII中のD1タンパク質が過剰エネルギーにより損傷されるとする過剰エネルギー説^{3,4)}と、PSII酸素発生複合体中のMnクラスターが不活性化された後に、PSII中のD1タンパク質が損傷されるという2ステップ説である。この2ステップ説は植物⁵⁾と好熱性のシアノバクテリア⁶⁾を用いた実験結果に基づいて提唱された。どちらの説が正しいのか、どちらの説も正しいのかの決着は未だ付いていない。ただし、どちらの説でも、PSIIの反応中心を擁するD1タンパク質が光エネルギーによって損傷されることは共通している。損傷されたD1タンパク質は新規に合成されたD1タンパク質と差し替えられる。この修復活性は高いので、正味の光阻害の程度は損傷と修復のバランスから決定される⁷⁾。入射光が弱いとPSII修復速度がPSII損傷速度に充分追従するの

で、見かけ上の光阻害は起こらない。特に、PSII修復速度を決定づけるD1タンパク質のターンオーバーは速い⁸⁾。修復は暗黒下では起こらず、修復には最適な光強度があることがわかっている⁹⁾。本稿では、Mnクラスターの修復と、D1タンパク質の修復について解説する。

2. 光阻害中の2つの修復過程

植物における光阻害の修復には、葉緑体由来のタンパク質ターンオーバーが必要である¹⁰⁾。植物、緑藻そしてシアノバクテリアも光阻害を受けることを考えると、光阻害は光合成生物にとって避けられない現象であり、修復過程もまたよく保存されてきた必須の過程であると考えられる。葉緑体における光阻害の修復過程には光が必要である⁹⁾。特に、*psbA* mRNAの発現量は強光によって増加する¹¹⁾。また、D1タンパク質を分解するFtsHの6量体形成¹²⁾や、D1タンパク質のチラコイド膜への取り込みに、光によって形成されるチラコイド膜の ΔpH が必要である¹³⁾。タンパク質の分解と生合成にはATPも必要である。その量は葉緑体の光リン酸化活性で賄うことができる量である¹⁴⁾。

一方、*psbA* mRNAの翻訳は活性酸素種によって阻害される^{15,16)}。これらにより、照射光の上昇とともに修復速度定数が増加するが、活性酸素種が生じがちな1000 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ を超えるような強光下では修復速度定数が低下することが説明できる^{9,14,17)}。

* 解説特集「光阻害」

* 連絡先 E-mail: rinoduka@gmail.com

光阻害の修復に必要となるエネルギーは、強光回避反応によって減らすことができる¹⁸⁾。一方、反応中心への過剰エネルギーを減らす方法としては、non-photochemical quenchingによって熱として散逸する仕組みなどがある。これら強光の回避と過剰エネルギーの熱散逸機構とにかかるエネルギーについてはすでに総説にまとめられており¹⁹⁾、話が修復過程から離れてしまうので割愛する。

D1タンパク質ターンオーバーには ΔpH やATPが必要な過程がいくつかある一方、Mnクラスターの修復過程においては、これらが必要な過程は確認されていない。ただし、遊離したMnイオンがMnクラスターに戻るには光エネルギーが必要である^{20,21)}。本稿では、まず、酸素発生系の修復について述べる。この問題については、Ono²²⁾の総説があること、光阻害を受けたPSIIのMnクラスターの修復に、この知見が全て適用されるとは言い切れないことから、ここでは概要だけを説明する。

3. Mnクラスターの修復

単離した葉緑体をTrisもしくはNH₂OHで処理すると酸素発生複合体からMnイオンが遊離する。この酸素発生複合体の活性の修復には、大きく分けて3つの要素が必要となる。1つは光である。遊離したMn²⁺がMnクラスターにMn(II)の形で結合した後、PSII core complexで電子伝達が起こるとMn(II)はMn(III)となり、Mnクラスターとして安定してPSIIに結合する^{21,22)}。葉緑体全体の電子伝達は必要なく、PSII core complexにおける電子伝達が重要である²³⁾。もう1つは陽イオンである。酸素発生複合体の要であるMnクラスターは4つのMnと1つのCaそして5つのOが歪んだ椅子構造をとっていることが明らかになっている²⁴⁾。そ

の構造ゆえか、MnイオンがMnクラスターから遊離したことにより不活性化した酸素発生複合体の再活性化には、MnイオンとともにCaイオンも必要である²¹⁾。これらのことは*in vitro*における実験によって明らかにされた。さらに、葉でも同様に酸素発生複合体の活性の修復が起きているであろうことが確かめられている^{25,26)}。最後の1つはD1タンパク質である。PSII中において酸素を発生するMnクラスターの構造維持と機能制御にはD1タンパク質のYzの他、複数のアミノ酸残基が関わっている²⁷⁻²⁹⁾。さらに、酸素発生複合体の光再活性化には他のPSIIのタンパク質も関与していることが明らかになっている³⁰⁾。

光エネルギーによってMnイオンが遊離したMnクラスターは、どのようにして再活性化されうるだろうか。予想される模式図(図1)を用いて整理しよう。

1. 光エネルギーがMnクラスター中のMnに吸収される。
2. 光エネルギーによって励起されたMnは、Mnクラスターより遊離する。
3. 遊離したMn²⁺はD1タンパク質の残基と不安定に結合する。
4. 光エネルギーによってPSIIで電子伝達が起こると、D1タンパク質が電子伝達により失った電子をMn(II)より引き込む。
5. 電子を失ったMn(III)は残りのMnと結合し、Mnクラスターが復活する。

光エネルギーによって不活性化したMnクラスターは、以上のようにして光再活性化されうる。しかし、2ステップ説においてMnイオンが光エネルギーによってMnクラスターから遊離する際の量子収率と、その後の光再活性化の量子収率は、ともに研究例がない。したがって、2ステップ説を前提としたMnクラス

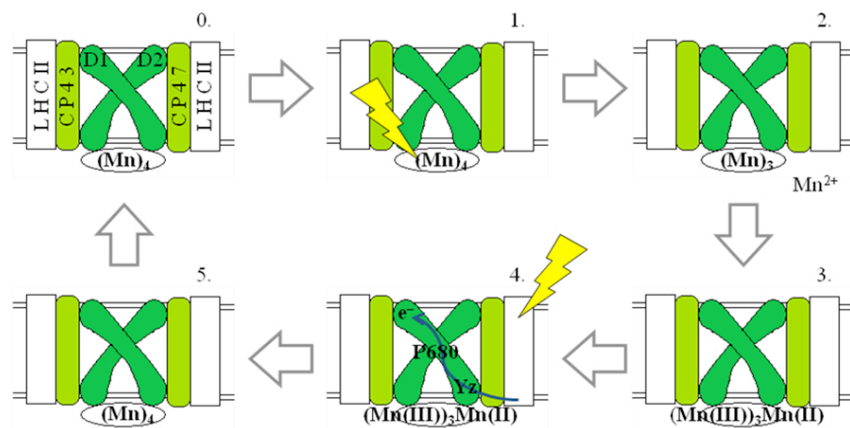


図1 Mnクラスターの不活性化と光再活性化の過程

D1、D2、CP43、CP47、LHCIIは、PSII-LHCII超複合体中の各タンパク質を表す。太字のMnは酸素発生複合体中に存在しているMn原子を表し、細字のMnはMnクラスターより遊離したMnイオンを表す。YzとP680はD1タンパク質の電子伝達に関する部位を表し、e⁻は電子伝達される電子を表す。

ターの光再活性化の研究は今後の課題である。また、Mnイオンが外れた酸素発生複合体のフラッシュ光による光再活性化時に、H₂O₂が存在すると活性が阻害されることも知られている²⁰⁾。活性酸素種による修復系阻害のターゲットとして酸素発生複合体の光再活性化過程も考慮する必要があるだろう。

4. D1タンパク質の修復

不活性化したPSIIの反応中心であるD1タンパク質の修復は、D1タンパク質の分解と新規合成との2つの過程に分けられる。D1タンパク質のターンオーバーには様々な酵素が関わっているが、それらの全てが植物、緑藻そしてシアノバクテリアに共通して発見されているわけではない³¹⁾。本稿では植物に関する知見を基に解説する。

損傷されたD1タンパク質の分解

光エネルギーによって損傷されたD1タンパク質がPSII中にあると、PSIIによる電子伝達が行われない。したがって、不活性化したPSIIからD1タンパク質を取り除く必要がある。PSIIは集光複合体II (LHCII)と超複合体を形成しているため事態は複雑である。まず、PSIIのD1、D2、CP43がSTN8によってリン酸化され³²⁾、PSII-LHCII超複合体が解体される。このリン酸化を制限すると、損傷したD1タンパク質の分解速度も制限される³³⁾。このことから、PSIIのリン酸化は、不活性化されたPSIIを識別する他、複合体から不活性化されたPSIIを引き離す役割があると予想されている³⁴⁾。解体されたPSIIは、グラナスタッキングから解放されてストロマに面しているチラコイド膜へと移動すると考えられてきた³⁵⁾。しかし、損傷したD1タンパク質を分解する6量体FtsHがPSII近傍のグラナに存在している

ことから、グラナがアンスタックしたり^{36,37)}、グラナ部チラコイドが水平方向に収縮することにより³⁸⁾、膜タンパク質の行き来やストロマチラコイドとの物質のやりとりが可能になるという説が唱えられている。その後、解体されたPSIIは脱リン酸化され、損傷を受けたD1タンパク質の分解が始まる³⁹⁾。

損傷D1タンパク質の分解は、主にATP依存のFtsHとATP非依存のDegが行う⁴⁰⁾。はじめに、D1タンパク質はDeg2によって10 kDと23 kDに分かれる⁴¹⁾。その後、23 kDの断片は主にFtsHによって分解され^{42,43)}、残りの10 kDはDeg1やClpなどによって分解される^{44,45)}。ただし、Deg2の欠損

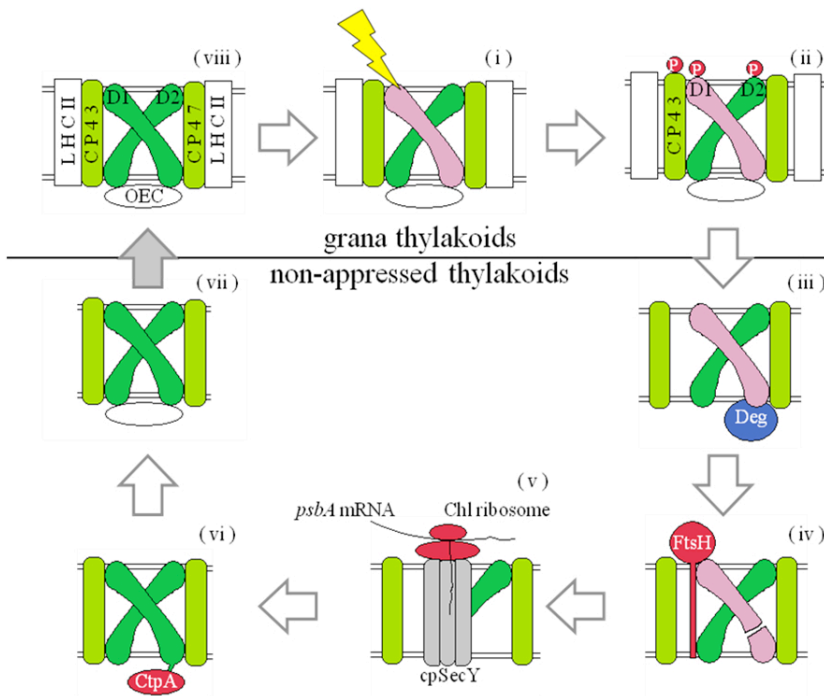


図2 D1タンパク質の修復サイクル

D1、D2、CP43、CP47、LHCIIは、PSII-LHCII超複合体中の各タンパク質を表し、OECは酸素発生複合体を表す。Degは、ATP非依存性タンパク質分解酵素を表し、FtsH、CtpAはATP依存性タンパク質分解酵素を表す。cpSecYは合成中のD1タンパク質をチラコイド膜へ嵌め込むtransloconである。Chl ribosomeは葉緑体リボソームを表し、psbA mRNAはD1タンパク質をコードしたmRNAである。(i) 過剰エネルギーによってD1タンパク質が不活性化される。(ii) 不活性化されたD1タンパク質を含むPSIIはリン酸化され、グラナスタッキングから外れる。(iii) ストロマチラコイドとなった部分で、不活性化されたD1タンパク質はDegによって開裂される。(iv) 開裂されたもの、開裂されていないものも含め、不活性化されたD1タンパク質は主にFtsHによって分解される。(v) 葉緑体リボソームがcpSecYと結合し、psbA mRNAにより新しいD1タンパク質を合成しつつ、PSII core complex中のチラコイド膜へ挿入する。(vi) 新合成D1タンパク質はCtpAによるプロセッシングで成熟する。(vii) 成熟D1タンパク質を含んだPSII core complexに酸素発生複合体が結合する (ストロマチラコイドからグラナチラコイドへの移動は不明な部分が多いので、灰色の矢印で示した)。(viii) 修復されたPSIIは、PSII-LHCII超複合体となり、グラナスタッキングに組み込まれ、再び電子伝達に寄与する。

した変異体において光阻害に影響が見られないこと⁴⁶⁾から、現在では、FtsHによるD1タンパク質の分解が主な経路であり、Degによる分解は補助的なものであると考えられている⁴⁵⁾。

新しいD1タンパク質の生合成

PSII core complexから損傷されたD1タンパク質が除去された後は、D1タンパク質を新規に合成しなければならない。D1タンパク質は葉緑体にコードされており、*psbA* mRNAと葉緑体リボソームによって合成される。D1タンパク質は、合成されながらPSII core complexに挿入されなければならない。そのためには、cpSecYとよばれる葉緑体コードのtransloconが、葉緑体リボソームと結合し、合成されていくD1タンパク質をstromaチラコイド膜中のPSII core complexに埋め込む^{13,47)}。新規合成D1タンパク質は、そのままでは活性を持たず、CtpAによって、C末端においてプロセッシングを受けて成熟する⁴⁸⁾。このプロセッ

グによる成熟は、CP43の結合の他、酸素発生複合体の結合に必須である^{35,49,50)}。

修復されたPSIIは再びグラナチラコイドへと移動し、PSII-LHCII超複合体を形成して電子伝達反応に従事する。この最後の過程には多様な補助タンパク質が必要となることが明らかになっているが³¹⁾、各々の役割まではっきりと明らかになっているわけではない。以上の全体像を図2にまとめた。

5. 光阻害の修復過程

これまで挙げてきた2つの修復過程を基にして、光阻害における修復過程を考えると、3つの場合が想定される。①Mnクラスターの修復のみが起こる場合、②D1タンパク質のターンオーバーのみが起こる場合、③D1タンパク質のターンオーバー+Mnクラスターの修復が起こる場合である。③ではまずD1タンパク質が分解されると予想されている⁵¹⁾。また、D1タンパク質のターンオーバー中、PSII core complexに

は、本来、酸素発生複合体が結合する付近にPsb27が結合しており、これによってPSII core complexは不活性化されている^{52,53)}。実際、Psb27が欠損した変異体では光阻害による修復活性が大幅に減少する⁵⁴⁾。Psb27がPSII core complexから離れ、酸素発生複合体がPSII core complexに結合するまでの間にPratA様のタンパク質LPA1によってMnイオンがD1タンパク質に結合すると考えられる^{55,56)}。PratAはシアノバクテリアに

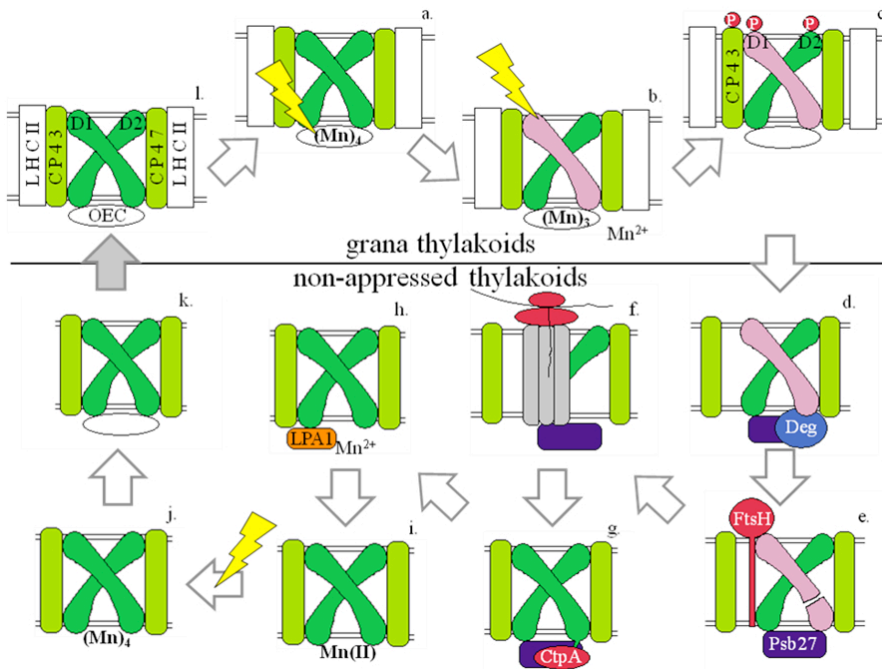


図3 2ステップ説に基づいた光阻害の修復サイクル

各タンパク質やイオンは図1、2と共通している。Psb27とLPA1については本文を参照。a. 光エネルギーがMnクラスター中のMnに吸収されると、励起されたMnは、Mnクラスターより遊離する。b. 不活性化された酸素発生複合体を持つPSIIが過剰エネルギーによって不活性化される。c. 不活性化されたD1タンパク質を含むPSIIはリン酸化され、グラナスタッキングから外れ、OECが外れたPSII反応中心にPsb27が結合する。d-g. 図2 (ii)-(v)と同様である。h. 成熟D1タンパク質を含んだPSII core complexからPsb27が外れ、LPA1がMnイオンをD1タンパク質に運ぶ。i. 運ばれたMnイオンは、D1タンパク質の残基に不安定に結合する。i-j. 光エネルギーによってPSIIで電子伝達が起こると、D1タンパク質が電子伝達により失った電子をMn(II)より引き込む。電子を失ったMn(II)はMn(III)となり、D1タンパク質と安定して結合する。j. 光エネルギーによってMnイオンがD1タンパク質と結合し、Mnクラスターが再活性化される。k. 酸素発生複合体タンパク質が結合する。l. 修復されたPSIIは、PSII-LHCII超複合体となり、グラナスタッキングに組み込まれ、再び電子伝達に寄与する。

において、新規に構築されるPSII core complexにMnイオンを運ぶMn transporterであることが示されている⁵⁵⁾。植物にはPratAのhomologはないが、植物のLPA1が、緑藻のREP27と同様の機能を持つと予想されている⁵⁶⁻⁵⁹⁾。Psb27がPSII修復過程のみならず、新規に構築されるPSII core complexでも働くことから⁶⁰⁾、LPA1も両方の過程で働いている可能性がある。Mnイオンを結合したPSII core complexは、光活性化によってMnクラスターを構築する。おそらくその後、PSII core complexの内腔側で酸素発生複合体が結合する。③の過程は図3にまとめた。

しかし、48時間の4°Cにおける暗黒処理によってMnクラスターからMnイオンを外したキュウリ葉²⁶⁾に、光を照射すると、弱光でこそ光再活性化が起こるが、強光では再活性化が阻害される(図4)。もし、全ての光阻害が2ステップ説によって起こっていると仮定すると、強光下では、PSII core complexにMnが組み込まれMnクラスターが構築される段階が阻害されると考えられ、これにより修復全体が起こらない可能性がある。そのような状況では、Mnクラスターが修復される前にD1タンパク質が不活性化されてしまうはずだからである。しかし、室温処理葉では、かなりの強光下でもD1タンパク質の修復は起きる。

図4のデータは、4°Cで暗黒下に48時間においた

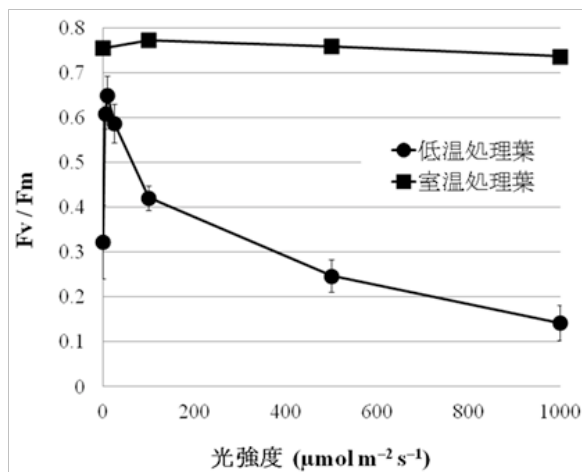


図4 MnクラスターからMnイオンが外れ、不活性化したキュウリ葉の光再活性化と光強度の相関 (Miyata and Terashima 未発表)

●は4°Cで暗黒下に48時間置いた後、様々な光強度 ($\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の光を室温で30分照射した後のPSII最大量子収率 (Fv/Fm) を示す。光照射前のFv/Fmは、0 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ のときのFv/Fmと同じである。■は低温処理を行うことなく、様々な光強度の光を室温で30分照射した後のPSII最大量子収率を示す。n = 3、エラーバーは標準偏差。

キュウリ葉において得られたものなので、強光による酸素発生系の再活性化の阻害は、MnクラスターもしくはD1タンパク質の修復活性が下がっていたことによる可能性がある。また、MnクラスターからMnイオンが2つ外れてしまうと²⁶⁾、Mnクラスターの修復が光によって阻害されやすくなる可能性もあるだろう。

2ステップ説により光阻害の新たな損傷のメカニズムが提唱された。しかし、光阻害の修復過程や、修復後のPSIIとMnクラスターの動態が不明確なままであるために、2ステップ説を前提とした修復過程はまだ闇に包まれている。修復されたPSIIにMnクラスターがどのように結合するのか、そもそも、MnクラスターはD1タンパク質のターンオーバー中、PSII core complexから解離しているのかなど、光阻害の修復過程におけるMnクラスターの実態解明が、今後の大きな課題である。

謝辞

今回の執筆は、茨城大学 工学部 生体分子機能工学科の小野高明教授による御指導がなければ、実現しなかった。厚く御礼申し上げます。また、初の総説執筆の機会を与えてくださった埼玉大学 大学院理工学研究科生命科学部門の西山佳孝准教授、そして執筆を決意させてくださった神戸大学 大学院農学研究科の三宅親弘准教授に感謝申し上げます。

Received July 12, 2013, Accepted July 23, 2013, Published August 31, 2013

参考文献

- Kok, B. (1956) On the inhibition of photosynthesis by intense light. *Biochim. Biophys. Acta* 21, 234-244.
- Powles, S. B. (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 15-44.
- Ögren, E., Öquist, G., and Hällgren, J. E. (1984) Photoinhibition of photosynthesis in *Lemna gibba* as induced by the interaction between light and temperature I. Photosynthesis *in vivo*. *Physiol. Plant.* 62, 181-186.
- Vass, I., Styring, S., Hundal, T., Koivuniemi, A., Aro, E., and Andersson, B. (1992) Reversible and irreversible intermediates during photoinhibition of photosystem II: stable reduced Q_A species promote

- chlorophyll triplet formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 1408-1412.
5. Hakala, M., Tuominen, I., Keränen, M., Tyystjärvi, T., and Tyystjärvi, E. (2005) Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of Photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1706, 68-80.
 6. Ohnishi, N., Allakhverdiev, S. I., Takahashi, S., Higashi, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., and Murata, N. (2005) Two-step mechanism of photodamage to photosystem II: step 1 occurs at the oxygen-evolving complex and step 2 occurs at the photochemical reaction center. *Biochemistry* 44, 8494-8499.
 7. Aro, E. M., Virgin, I., and Andersson, B. (1993) Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover. *Biochim. Biophys. Acta* 1143, 113-134.
 8. Greenberg, B. M., Gaba, V., Mattoo, A. K., and Edelman, M. (1987) Identification of a primary *in vivo* degradation product of the rapidly-turning-over 32 kd protein of photosystem II. *EMBO J.* 6, 2865-2869.
 9. Chow, W. S., Lee, H. Y., He, J., Hendrickson, L., Hong, Y. N., and Matsubara, S. (2005) Photoinactivation of photosystem II in leaves. *Photosynth. Res.* 84, 35-41.
 10. Greer, D. H., Berry, J. A., and Björkman, O. (1986) Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves. Role of light and temperature, requirement for chloroplast-protein synthesis during recovery. *Planta* 168, 253-260.
 11. Kettunen, R., Pursiheimo, S., Rintamäki, E., van Wijk, K. J., and Aro, E. M. (1997) Transcriptional and translational adjustments of *psbA* gene expression in mature chloroplasts during photoinhibition and subsequent repair of photosystem II. *Eur. J. Biochem.* 247, 441-448.
 12. Yoshioka, M., and Yamamoto, Y. (2011) Quality control of Photosystem II: Where and how does the degradation of the D1 protein by FtsH proteases start under light stress? – Facts and hypotheses. *J. Photochem. Photobiol. B* 104, 229-235.
 13. Zhang, L., Paakkarinen, V., van Wijk, K. J., and Aro, E. M. (2000) Biogenesis of the chloroplast-encoded D1 protein: regulation of translation elongation, insertion, and assembly into photosystem II. *Plant Cell* 12, 1769-1782.
 14. Miyata, K., Noguchi, K., and Terashima, I. (2012) Cost and benefit of the repair of photodamaged photosystem II in spinach leaves: Roles of acclimation to growth light. *Photosynth. Res.* 113, 165-180.
 15. Nishiyama, Y., Yamamoto, H., Allakhverdiev, S. I., Inaba, M., Yokota, A., and Murata, N. (2001) Oxidative stress inhibits the repair of photodamage to the photosynthetic machinery. *EMBO J.* 20, 5587-5594.
 16. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2011) Protein synthesis is the primary target of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Physiol. Plant.* 142, 35-46.
 17. Kato, M. C., Hikosaka, K., and Hirose, T. (2002) Photoinactivation and recovery of photosystem II in *Chenopodium album* leaves grown at different levels of irradiance and nitrogen availability. *Funct. Plant Biol.* 29, 787-795.
 18. Raven, J. A. (1989) Fight or flight: the economics of repair and avoidance of photoinhibition of photosynthesis. *Funct. Ecol.* 3, 5-19.
 19. Raven, J. A. (2011) The cost of photoinhibition. *Physiol. Plant.* 142, 87-104.
 20. Ono, T., and Inoue, Y. (1987) Reductant-sensitive intermediates involved in multi-quantum process of photoactivation of latent O₂-evolving system. *Plant Cell Physiol.* 28, 1293-1299.
 21. Tamura, N., and Cheniae, G. (1987) Photoactivation of the water-oxidizing complex in Photosystem II membranes depleted of Mn and extrinsic proteins. I. Biochemical and kinetic characterization. *Biochim. Biophys. Acta* 890, 179-194.
 22. Ono, T. (2001) Metallo-radical hypothesis for photoassembly of (Mn)₄-cluster of photosynthetic oxygen evolving complex. *Biochim. Biophys. Acta* 1503, 40-51.
 23. Tamura, N., Kamachi, H., Hokari, N., Masumoto, H., and Inoué, H. (1991) Photoactivation of the water-oxidizing complex of photosystem II core complex depleted of functional Mn. *Biochim. Biophys. Acta* 1060, 51-58.
 24. Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J. R., and Kamiya, N. (2011) Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature* 473, 55-60.
 25. Terashima, I., Huang, L. K., and Osmond, C. B. (1989) Effects of leaf chilling on thylakoid functions, measured at room temperature, in *Cucumis sativus* L. and *Oryza sativa* L. *Plant Cell Physiol.* 30, 841-850.
 26. Shen, J. R., Terashima, I., and Katoh, S. (1990) Cause for dark, chilling-induced inactivation of photosynthetic oxygen-evolving system in cucumber leaves. *Plant Physiol.* 93, 1354-1357.
 27. Diner, B. A. (2001) Amino acid residues involved in the coordination and assembly of the manganese cluster of photosystem II. Proton-coupled electron transport of the redox-active tyrosines and its relationship to water oxidation. *Biochim. Biophys. Acta* 1503, 147-163.
 28. Debus, R. J. (2001) Amino acid residues that modulate the properties of tyrosine Y_z and the manganese cluster in the water oxidizing complex of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1503, 164-186.
 29. Kimura, Y., and Ono, T. (2006) Structural and functional studies of photosynthetic oxygen evolving Mn cluster by means of FTIR spectroscopy. *Biophysics* 46, 124-129.
 30. Ishikawa, Y., Yamamoto, Y., Otsubo, M., Theg, S. M., and Tamura, N. (2002) Chemical modification of amine groups on PS II protein(s) retards photoassembly of the photosynthetic water-oxidizing complex. *Biochemistry*

- 41, 1972-1980.
31. Mulo, P., Sirpiö, S., Suorsa, M., and Aro, E. M. (2008) Auxiliary proteins involved in the assembly and sustenance of photosystem II. *Photosynth. Res.* 98, 489-501.
 32. Vainonen, J. P., Hansson, M., and Vener, A. V. (2005) STN8 protein kinase in *Arabidopsis thaliana* is specific in phosphorylation of photosystem II core proteins. *J. Biol. Chem.* 280, 33679-33686.
 33. Aro, E. M., Kettunen, R., and Tyystjärvi, E. (1992) ATP and light regulate D1 protein modification and degradation. Role of D1* in photoinhibition. *FEBS Lett.* 297, 29-33.
 34. Yokthongwattana, K., and Melis, A. (2006) Photoinhibition and Recovery. in *Oxygenic Photosynthesis: Mechanism of a Photosystem II Damage and Repair Cycle* (Demmig-Adams, B., Adams III, W. W., and Mattoo, A. K., Eds.) pp. 175-191, Springer Netherlands, Heidelberg, Germany.
 35. Baena-González, E., and Aro, E. M. (2002) Biogenesis, assembly and turnover of photosystem II units. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 357, 1451-1460.
 36. Khatoun, M., Inagawa, K., Pospíšil, P., Yamashita, A., Yoshioka, M., Lundin, B., Horie, J., Morita, N., Jajoo, A., Yamamoto, Y., and Yamamoto, Y. (2009) Quality control of photosystem II: Thylakoid unstacking is necessary to avoid further damage to the D1 protein and to facilitate D1 degradation under light stress in spinach thylakoids. *J. Biol. Chem.* 284, 25343-25352.
 37. Yoshioka, M., Nakayama, Y., Yoshida, K., Ohashi, K., Morita, N., Kobayashi, H. and Yamamoto, Y. (2010) Quality control of photosystem II: FtsH hexamers are localized near photosystem II at grana for the swift repair of damage. *J. Biol. Chem.* 285, 41972-41981.
 38. Herbstová, M., Tietz, S., Kinzel, C., Turkina, M. V., and Kirchhoff, H. (2012) Architectural switch in plant photosynthetic membranes induced by light stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 20130-20135.
 39. Rintamäki, E., Kettunen, R., and Aro, E. M. (1996) Differential D1 dephosphorylation in functional and photodamaged photosystem II centers. *J. Biol. Chem.* 271, 14870-14875.
 40. Adam, Z., and Clarke, A. K. (2002) Cutting edge of chloroplast proteolysis. *Trends Plant Sci.* 7, 451-456.
 41. Haußühl, K., Andersson, B., and Adamska, I. (2001) A chloroplast DegP2 protease performs the primary cleavage of the photodamaged D1 protein in plant photosystem II. *EMBO J.* 20, 713-722.
 42. Spetea, C., Hundal, T., Lohmann, F., and Andersson, B. (1999) GTP bound to chloroplast thylakoid membranes is required for light-induced, multienzyme degradation of the photosystem II D1 protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96, 6547-6552.
 43. Lindahl, M., Spetea, C., Hundal, T., Oppenheim, A. B., Adam, Z., and Andersson, B. (2000) The thylakoid FtsH protease plays a role in the light-induced turnover of the photosystem II D1 protein. *Plant Cell* 12, 419-431.
 44. Kato, Y., and Sakamoto, W. (2009) Protein quality control in chloroplasts: a current model of D1 protein degradation in the photosystem II repair cycle. *J. Biochem.* 146, 463-469.
 45. Kato, Y., Sun, X., Zhang, L., and Sakamoto, W. (2012) Cooperative D1 degradation in the photosystem II repair mediated by chloroplastic proteases in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 159, 1428-1439.
 46. Huesgen, P. F., Schuhmann, H., and Adamska, I. (2006) Photodamaged D1 protein is degraded in *Arabidopsis* mutants lacking the Deg2 protease. *FEBS Lett.* 580, 6929-6932.
 47. Zhang, L., Paakkanen, V., Suorsa, M., and Aro, E. M. (2001) A SecY homologue is involved in chloroplast-encoded D1 protein biogenesis. *J. Biol. Chem.* 276, 37809-37814.
 48. Inagaki, N., Maitra, R., Satoh, K., and Pakrasi, H. B. (2001) Amino acid residues that are critical for in vivo catalytic activity of CtpA, the carboxyl-terminal processing protease for the D1 protein of photosystem II. *J. Biol. Chem.* 276, 30099-30105.
 49. Diner, B. A., Ries, D. F., Cohen, B. N., and Metz, J. G. (1988) COOH-terminal processing of polypeptide D1 of the photosystem II reaction center of *Scenedesmus obliquus* is necessary for the assembly of the oxygen-evolving complex. *J. Biol. Chem.* 263, 8972-8980.
 50. Roose, J. L., and Pakrasi, H. B. (2004) Evidence that D1 processing is required for manganese binding and extrinsic protein assembly into photosystem II. *J. Biol. Chem.* 279, 45417-45422.
 51. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I., and Murata, N. (2006) A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1757, 742-749.
 52. Nowaczyk, M. M., Hebel, R., Schlodder, E., Meyer, H. E., Warscheid, B., and Rögner, M. (2006) Psb27, a cyanobacterial lipoprotein, is involved in the repair cycle of photosystem II. *Plant Cell* 18, 3121-3131.
 53. Grasse, N., Mamedov, F., Becker, K., Styring, S., Rögner, M., and Nowaczyk, M. M. (2011) Role of novel dimeric Photosystem II (PSII)-Psb27 protein complex in PSII repair. *J. Biol. Chem.* 286, 29548-29555.
 54. Chen, H., Zhang, D., Guo, J., Wu, H., Jin, M., Lu, Q., Lu, C., and Zhang, L. (2006) A Psb27 homologue in *Arabidopsis thaliana* is required for efficient repair of photodamaged photosystem II. *Plant Mol. Biol.* 61, 567-575.
 55. Stengel, A., Gügel, I. L., Hilger, D., Rengstl, B., Jung, H., and Nickelsen, J. (2012) Initial steps of photosystem II de novo assembly and preloading with manganese take place in biogenesis centers in *Synechocystis*. *Plant Cell* 24, 660-675.
 56. Peng, L., Ma, J., Chi, W., Guo, J., Zhu, S., Lu, Q., Lu, C., and Zhang, L. (2006) LOW PSII ACCUMULATION1 is involved in efficient assembly

- of photosystem II in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 18, 955-969.
57. Park, S., Khamai, P., Garcia-Cerdan, J. G., and Melis, A. (2007) REP27, a tetratricopeptide repeat nuclear-encoded and chloroplast-localized protein, functions in D1/32-kD reaction center protein turnover and photosystem II repair from photodamage. *Plant Physiol.* 143, 1547-1560.
58. Dewez D, Park S, García-Cerdán JG, Lindberg P, Melis A. (2009) Mechanism of REP27 protein action in the D1 protein turnover and photosystem II repair from photodamage. *Plant Physiol.* 151, 88-99.
59. Nickelsen, J., and Rengstl, B. (2013) Photosystem II assembly: from cyanobacteria to plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 609-635.
60. Becker, K., Cormann, K. U., and Nowaczyk, M. M. (2011) Assembly of the water-oxidizing complex in photosystem II. *J. Photochem. Photobiol. B* 104, 204-211.

The Repair Processes of Photoinhibited Photosystem II

Kazunori Miyata*, Ichiro Terashima

Graduate School of Science, The University of Tokyo

光阻害における光化学系II反応中心タンパク質D1の分解と 葉緑体プロテアーゼ‡

岡山大学 資源植物科学研究所
加藤 裕介* 坂本 亘

光は植物の生育に必須であるが、同時にチラコイド膜上の光合成装置に損傷をもたらし、光合成能の低下を引き起こす。光化学系における光による損傷のターゲットは光化学系IIの反応中心タンパク質D1であり、植物は損傷を受けたD1を特異的に分解し、新たなD1に置き換える修復サイクルにより光合成能を維持する。損傷を受けたD1の分解は光化学系II修復のキーププロセスと考えられ、私達はシロイヌナズナを用いてこれを担うプロテアーゼの解析を進めてきた。本稿では修復サイクルにおけるD1分解に焦点をあて、二つの原核生物型プロテアーゼ (FtsH、Deg) の役割とその協調的な分解機構について紹介する。

1. はじめに

光合成の電子伝達反応に必要なエネルギーは文字通り光であるが、同時に光合成装置に恒常的に損傷を与えている。特に過剰な光エネルギーは光合成装置の修復能力を超える損傷を与え、その結果、光合成能力の低下 (光阻害) を引き起こし、植物の生育を阻害する^{1,2)}。そのため、陸上植物は光阻害を避ける為に、過剰な光ストレスに対応する様々な機構を個体から細胞、オルガネラのレベルで発達させている。個体レベルでは、葉の形や葉面の角度を調整することで葉にあたる光の量を調整し、細胞内では葉緑体の光逃避運動により光によるダメージを軽減している。さらに葉緑体内では、ステート遷移による励起エネルギーの分配、熱放散による過剰なエネルギーの散逸、water-waterサイクル、サイクリック電子伝達による電子伝達系の調節が行われている³⁾。それでもなお光合成装置が損傷を受けたとき、損傷を受けたタンパク質の修復が行われる。

チラコイド膜上の光合成装置において、光による損傷の主なターゲットは、光化学系II複合体の反応中心タンパク質D1 (以下D1と略す) である。光合成装置の修復では損傷を受けたD1が特異的に分解され、新規に合成されたD1に置き換えられる⁴⁾。実際にD1のターンオーバーは他の光合成タンパク質に比べ、著し

く速いことが以前から知られている²⁾。葉緑体におけるD1の修復過程では、①損傷を受けた光化学系II複合体のグラナチラコイドからstromaチラコイドへの移行、②酸素発生系表在タンパク質ならびにCP43タンパク質の光化学系II複合体からの解離、そして、③損傷を受けたD1の分解が行われる。D1の分解と連動して、④新規D1の合成とプロセッシングが行われ、続いて、⑤光化学系II複合体の再構築、⑥グラナチラコイドへの移行が行われる。この一連の修復過程は機能的な光化学系II複合体に戻る様子から光化学系II修復サイクル (PSII repair cycle) と呼ばれ、損傷を受けたD1のみを入れ換える効率の良いタンパク質複合体の品質管理機構と考えられている。光化学系II修復サイクルの仕組みについては、その重要性から活発な研究が行われており、数年毎に総説が出されている。より詳細な光化学系II修復サイクルのメカニズムについては、それらを参照していただきたい^{5,6)}。筆者らは、光化学系II修復サイクルに関わるプロテアーゼの解析を長らく行っており、本稿では、これまでの研究と筆者らの研究結果を交えて紹介する。

2. D1タンパク質分解に関わるプロテアーゼ -FtsH-

シロイヌナズナを用いた研究から、植物では二種類の原核生物型プロテアーゼがD1の分解に関わっている

‡ 解説特集「光阻害」

* 連絡先 E-mail: ykato@rib.okayama-u.ac.jp

ことが明らかとなってきた。そのひとつは、葉緑体チラコイド膜に局在するATP依存型の亜鉛メタロプロテアーゼFtsHである。FtsHは大腸菌で最初に報告されて解析が進み、タンパク質分解などの多様な細胞機能にエネルギー依存的に関わるAAA (ATPases associated with diverse cellular activities) タンパク質ファミリーに属するAAAプロテアーゼの1つに分類されている⁷⁾。N末側に1つの膜貫通ドメインを持ち、続いてATPaseドメイン、プロテアーゼモチーフが並んでいる。FtsHは六量体の構造をとって機能していると考えられており、膜側にATPase部分が面している。このことから、FtsHは膜内にある基質タンパク質の末端を認識し、ATPase活性によりタンパク質の折り畳み構造をほどき(アンフォールディング活性)、プロテアーゼ活性により膜から引き抜くことで連続的(プロセス)に基質を分解していると考えられている⁷⁾。シロイヌナズナでは、12のFtsHホモログが確認されており、そのうちの9つが葉緑体で、残り3つがミトコンドリアで機能すると推定されている⁸⁾。また、FtsHの亜鉛結合モチーフを欠損し、プロテアーゼ活性を失ったホモログFtsHiが5つ存在し、これらも葉緑体に局在すると推定されている⁹⁾。そのうちFtsHi2、4、5は胚発生に関与し、FtsHi1は葉緑体分裂の異常から多数の葉緑体が生じる*arc1*変異の原因遺伝子であることが最近報告されている¹⁰⁾。これらの機能解析についても今後の解析が待たれる。

チラコイド膜上のFtsHは、系統的にType AとType Bの二種類のタイプに分けることができ、それぞれのタイプのサブユニットから成るABヘテロ六量体を構成し、ATPaseドメイン、プロテアーゼドメインがストロマ側に配向している^{8,11)}。ヘテロ六量体構造は、シアノバクテリアでも報告されており、光合成生物を通じた特徴的な構造のようである¹²⁾。シロイヌナズナでは、Type AサブユニットはFtsH1とFtsH5、Type BサブユニットはFtsH2とFtsH8から構成されており、FtsH2、FtsH5、FtsH8、FtsH1の順に存在量が多いと考えられている^{11,13)}。特にFtsH2とFtsH5が主要な構成因子であり、その欠損によりFtsH複合体の存在量が大きく減少する。FtsHは、チラコイド膜の形成/維持にも関与するため、その欠損は葉緑体の発達異常を引き起こす。このため、FtsH2もしくはFtsH5を欠損したシロイヌナズナ変異体 (*yellow variegated2* [*var2*]ならびに*var1*) では、葉緑体の発達異常が生じ、斑入り表現型を示す^{14,15)}。

var2、*var1*変異体の特徴として、光ストレスに対して脆弱であり、光阻害を起こしやすい点がある^{14,15)}。また*in vitro*の実験系では、FtsH1がD1の断片を分解することが明らかにされ¹⁶⁾、原因遺伝子の同定時からFtsHが実際に葉緑体内でD1分解に関与することが推定されていた。しかしながら、斑入り表現型は*in vivo*でのFtsHによるD1分解の検証ならびに詳細な解析には不向きな点も多い。そこで筆者らは、*var2*変異体の斑入り表現型を抑圧する二次的なサプレッサー変異を導入した変異体を用いて、この問題を解決した¹⁷⁾。このサプレッサー変異は葉緑体の原核型翻訳開始因子2 (IF2) のアミノ酸置換により生じており、葉緑体発達時のタンパク質合成と分解のバランスが釣り合うことで葉緑体の発達異常が抑制されると考えられている¹⁸⁾。またサプレッサー変異が入った二重変異体も*var2*変異体同様に光ストレスに対して脆弱であった。サプレッサー変異が入った二重変異体を用いて、葉緑体での新規タンパク質の合成を止める阻害剤リンコマイシンの存在下でのD1分解を解析した結果、強光照射によって生じるD1の分解がFtsHの欠損により明らかに抑制されることが示され、この結果から*in vivo*でのFtsHによるD1の分解を確かめることができた。

3. D1タンパク質分解に関わるプロテアーゼ -Deg-

FtsHと共に近年のシロイヌナズナを用いた研究からATP非依存型のセリンプロテアーゼDegがD1分解に関与していることが示唆された。シロイヌナズナでは16のDegホモログが存在し、これまで5つのDegプロテアーゼ (Deg1、Deg2、Deg5、Deg7、Deg8) が葉緑体に局在すると報告されている^{19,20)}。これら葉緑体Degの局在はストロマとチラコイド内腔に分かれており、Deg2、Deg7がストロマ側にDeg1、Deg5、Deg8がチラコイド内腔に局在し、チラコイド膜にゆるやかに結合し、膜タンパク質を切断すると考えられている。D1はN末端をストロマ側に、C末端をチラコイド内腔にして、チラコイド膜を膜貫通ヘリックスによって5回横切る構造をとっている。Degはこれら膜貫通ヘリックス同士をつなぐグループ構造をストロマ、チラコイド内腔側それぞれにおいて切断すると推定されている。単離チラコイド膜を用いた*in vitro*での解析から、ヘリックスDとEを結ぶストロマ側のD-Eループの切断にDeg2が関与していることが示唆された²¹⁾。しかしながら、*deg2*変異体の解析ではD1分解に異常は認められていな

いことから、Deg2のD1分解における寄与度は低いと考えられた²²⁾。Deg7もストロマ側でD1を切断すると示唆されているが、その分解産物のサイズからヘリックスBとCを結ぶ短いB-Cループを切断するのではないかと推定されている²³⁾。

Zhangらの研究によれば、強光条件下において野生株で検出されるD1の分解産物がチラコイド内腔側のDeg5、Deg8を欠損した二重変異体では検出されない。この結果から、ヘリックスCとDを結ぶC-Dループの切断に二つのDegが相乗的に機能していることが示唆された²⁴⁾。一方、Adamらの研究では、*DEG1-RNAi*導入株では光阻害を受けやすくなるとともに、D1のC末端側由来する16 kと5.2 kの分解産物が減少し、A-BループならびにヘリックスEの下流でのD1切断に働いている可能性が示唆された²⁵⁾。しかしながら、Deg1の発現減少と共にFtsHやDeg2の発現も減少しており、Deg1のD1分解における寄与は明確ではない。またDeg1のノックアウト変異体が単離できず、Deg1の他のチラコイド膜タンパク質分解への関与や光化学系II構築過程への関与も示唆されていることから、Deg1はより広範な葉緑体機能制御に機能している可能性がある。

4. FtsHとDegのD1タンパク質分解における役割

筆者らの研究では、FtsHを欠損した変異体では光阻害が起きないような弱い光条件下 ($20, 100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) においても、強光条件下と同様にD1の分解が遅れることがわかっている¹⁷⁾。したがって、FtsHは損傷を受けたD1の分解を恒常的に行っていると思われる。一方で、Degは特に強光条件下で機能しているようである^{23,24)}。例えば*deg5 deg8*変異体の生育は強光照射下において明確に阻害されるが、光阻害が起きないような光条件下では野生株と同等に生育する²⁴⁾。またDegにより切断されたD1の分解産物は強光条件下でのみ検出されており、これらの結果はDegが強光下で機能していることを示唆している。実際に筆者らがFtsHの解析と同様の実験条件で*deg5 deg8*変異体におけるD1の分解速度を確認した結果でも、強光条件下では野生株と比較してD1分解の遅れが認められたが、生育光 ($180 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) や弱光条件下 ($20 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ではD1分解速度に有意な差は認められなかった²⁶⁾。

このFtsHとDegのD1分解における働きの差は二つのプロテアーゼのタンパク質分解方法の違いに起因して

いると思われた。すなわち、FtsHは基質タンパク質のN末端もしくはC末端部を認識してプロセッシブに分解するエキソペプチダーゼであるのに対し、Degは基質タンパク質の配列中央を切断するエンドペプチダーゼである。この性質の違いは、FtsHが単独でD1の完全な分解が可能であるのに対し、DegはD1を切断するのみで、D1の完全な分解には他のプロテアーゼの協力が必要であることを示している。そのため、光阻害が起きないような光条件下でのD1分解では、FtsHが主要な役割を果たし、FtsH単独では分解が間に合わないような強光下では、DegがD1を断片化し、認識される末端を増やすことでD1分解の効率を高めているというモデルが考えられた^{27,28)}。このモデルを指示する実験データとして、後述するように、Degの光依存的なチラコイド膜への結合や多量体化と立体構造変化も示唆されている^{23,29)}。

光合成細菌の結果に目を向けてみると、*Synechocystis* sp. PCC 6803では4つのFtsHホモログが存在し^{12,30)}、そのうちシロイヌナズナFtsH2に相同性の高いFtsH2 (slr0228) とFtsH3 (slr1604) がヘテロ六量体を形成し、光化学系IIの修復、D1分解に関与していると考えられている^{31,32)}。一方、Degホモログは*Synechocystis* sp. PCC 6803に3つ存在する。これらは熱や光といったストレスに応答して機能することが示唆されているものの、これまでにシアノバクテリアのD1分解に直接関与するという報告はなされていない³³⁾。これらの結果は、初期に構築されたD1分解系では、FtsHが主要な分解経路であったことを示唆し、植物の進化過程で光阻害における光化学系II修復機能の強化が必要となり、DegによるD1の断片化と分解の効率化の機構が獲得されたことを示しているであろう。

5. FtsHとDegの協調的なD1タンパク質分解

それでは、実際に葉緑体内でDegによって切断されたD1の断片をFtsHが分解しているのだろうか？ FtsHがDegによって切断されたD1の断片を分解しているのであれば、FtsH2を欠損する*var2*変異体では、D1の分解断片が蓄積しているはずである。この予想に基づいて、筆者らはまず、D1の分解断片の検出を試みた。しかしながら、これまでD1分解を解析していた実験条件では分解断片は検出できなかった。そこで、さらに強い光を照射できるLED光源を利用し、 $2500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光強度で1時間処理した葉

からタンパク質を抽出し、感度の高いウエスタンブロット検出試薬を用いて検出した結果、D1の分解断片を検出することができた²⁶⁾。図1に示すように、D1のN末端を認識する抗体を用いた解析では、約18 kの分解産物が蓄積しており、C末端を認識する抗体を用いた解析では、約12 kと16 kのふたつの分解産物が検出された。またこれら分解産物がセリンプロテアーゼ (Degはセリンプロテアーゼ) の働きによって生成されたものか確認するために、セリンプロテアーゼの阻害剤である4-(2-aminoethyl)-benzenesulfonyl fluoride (AEBSF) で処理した後に同様の実験を行っ

た。その結果、AEBSF存在下ではD1の分解断片は検出されず、分解断片がDegによって生成されたものであると強く示唆された²⁶⁾。

検出されたD1断片のサイズから予想すると、N末端を認識する抗体で検出された18 kのバンドとC末端を認識する抗体で検出された16 kのバンドは、C-Dループで切断された産物と考えられた。また、C末端を認識する抗体で検出された12 kのバンドはD-Eループでの切断により生じたと考えられた。先に述べたように、チラコイド内腔側のC-Dループの切断にはDeg1、Deg5、Deg8が、ストロマ側のD-Eループでの切断にはDeg2がそれぞれ関わりと示唆されている^{21,24,25)}。このうちDeg1は広範な葉緑体機能制御に機能している可能性があり、Deg2は*in vivo*での明確な表現型が観察されていない。そこで私達はDeg5、Deg8の働きとFtsHによるD1分解に焦点を絞って、*var2 deg5 deg8*三重変異体を作成し、解析を行った。光化学系IIの最大光量子収率Fv/Fmの強光感受性を指標に強光ストレス耐性を調べた結果、*var2 deg5 deg8*三重変異体は*var2*変異体や*deg5 deg8*二重変異体よりさらに光阻害を受けやすく、光ストレスに対してより脆弱であることが示された。また*var2*変異体同様に斑入りの表現型を示し、Deg5、Deg8の欠損が斑の形成には直接関わらないことが示された。このような*var2 deg5 deg8*三重変異体でのD1分解断片の検出を行った結果、N末端側D1抗体で検出される18 kのバンドとC末端側D1抗体で検出される16 kのバンドが明らかに減少しており、この分解断片のバンドがDeg5、Deg8の働きにより作られることが示された²⁶⁾。以上の結果から、Degプロテアーゼの働きにより生成されたD1の分解断片がFtsHによってさらに分解されていることが確かめられ、葉緑体内でのDegとFtsHによる協調的なD1分解モデルが確認された (図2)。

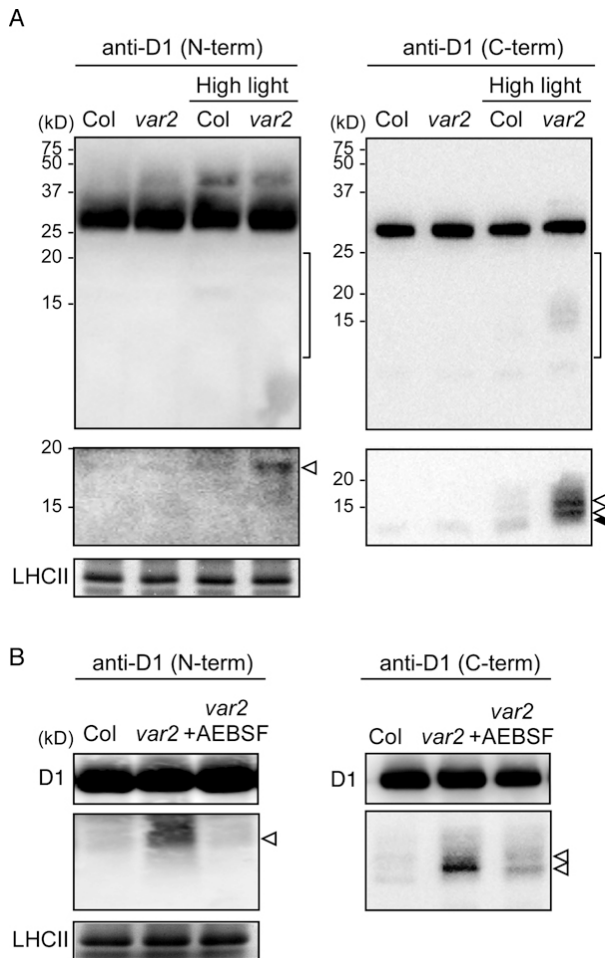


図1 *var2*変異体でのD1分解断片の蓄積

野生株と*var2*変異体の成熟葉に生育光と非常に強い光を1時間照射した後、膜タンパク質を抽出し、D1のN末端側もしくはC末端側を認識する抗体を使用してウエスタン解析を行った (A)。真ん中のパネルはD1の分解断片を検出するために、D1本体の強いシグナルが入らないようアルミホイルで隠した後、露光したもの。強光を照射した*var2*変異体のサンプルでは、D1の分解断片が検出された。同様の実験をセリンプロテアーゼ阻害剤であるAEBSF存在下で行った結果では、D1の分解断片の量が大きく減少している (B)。(Kato et al.²⁶⁾より許可を得て転載)

6. プロテアーゼの機能調節と基質認識

筆者らの研究結果も含め、この10年余りのシロイヌナズナ変異体を用いた解析から、D1分解に関与する主要なプロテアーゼとそのホモログはすべて出揃ったと考えられる。それでは、プロテアーゼはどのように損傷を受けたD1を認識し、分解しているのだろうか？

FtsHによるタンパク質の分解には、ある程度 (20残基程度) のアミノ酸末端が必要であり、基質タンパク質のアミノ酸末端が何らかの理由でアンフォールド

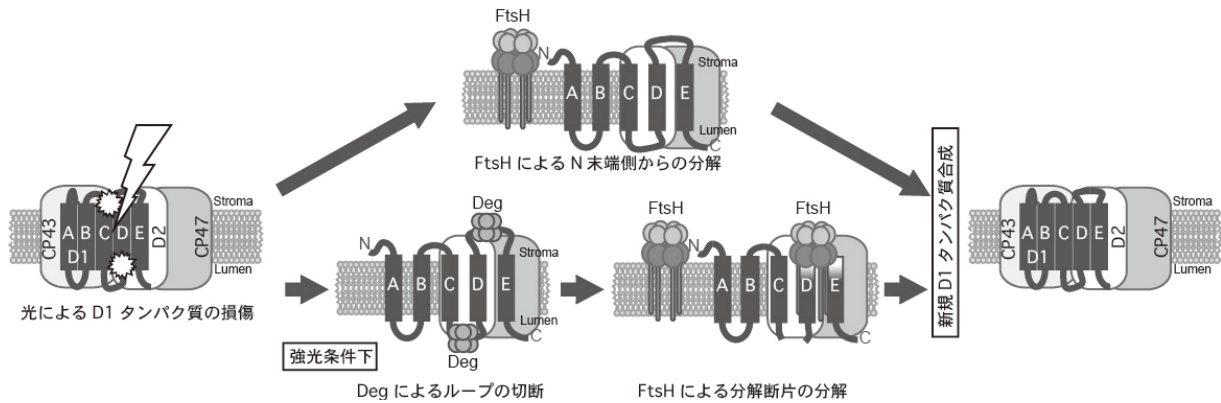


図2 二つのD1分解経路

損傷を受けたD1は、通常はFtsHによりN末端側から分解される。強光条件下ではこれに加えて、Degがストロマ側、ルーメン側でD1を切断し、FtsHによって認識される末端部を増やすことで基質認識を容易にし、分解効率を高めていると考えられる。

の状態になれば基質を認識し、分解がはじまると考えられている。D1も光によって損傷を受けた際に、立体構造に何らかの変化を起こし、それが分解の引き金になっているようである。実際に、シアノバクテリアのD1分解に関する研究では、D1のN末端側の20アミノ酸残基を除いた改変D1の分解が阻害されるという報告がされており³⁴⁾、葉緑体内でも同様にN末端側のアンフォールディングをFtsHが認識し、分解を行っていると考えられる。

一方、FtsHがアンフォールディングしたD1を認識するためには他の因子が必要である可能性がある。大腸菌ではFtsHは六量体構造をつくるだけでなく、別のタンパク質複合体 (HflKC) と結合し、1000 k以上の巨大複合体 (FtsHホロ酵素) として機能している³⁵⁾。また酵母のミトコンドリアでもHflKCに類似するタンパク質であるProhibitinと複合体を形成し、機能していることが明らかとなっており、これらFtsHと複合体を形成するHflKC/Prohibitin複合体は、FtsHの基質選択の調節因子として機能していることが示唆されている³⁵⁾。しかしながら、葉緑体ではこれらHflKC/Prohibitinに対応するタンパク質やFtsHの巨大複合体構造は未だ確認されていない。このため、葉緑体でのFtsHの基質選択に関与する他の因子が存在するかどうかは、今後、興味深い課題の1つであろう。これとは別に、FtsHの機能がレドックス調節やリン酸化によって制御されている可能性も示唆されている。具体的には、葉緑体のチラコイド膜内腔におけるレドックス調節に関わるチオレドキシシン様タンパク質HCF164により還元される標的タンパク質としてFtsH2とFtsH8が³⁶⁾、リン酸化を受けるタンパク質としてFtsH1とFtsH5が報告さ

れている^{37,38)}。これらのシグナルによるFtsHの機能調節は明らかではないが、FtsHの還元/リン酸化による修飾とプロテアーゼ機能の活性化は、今後、検討すべき課題の1つである。

Degの機能調節については、生化学的な解析からDeg1がpH依存的に多量体化していることが示されている。この結果では、pH 8で不活性型のモノマーとして存在しているDeg1が、酸性条件pH 6では六量体構造をとり、活性型となることが示された²⁹⁾。光合成の際にチラコイド膜内腔の酸性化が進むとDeg1が活性型となり、D1の切断に寄与していると考えられる。またストロマ側では、チラコイド膜近辺に存在すると考えられるDeg7のチラコイド膜への局在が強光条件下において促進することが示された²³⁾。これらの結果から、Degはその局在やオリゴマー形成によって活性を制御し、光条件に応じて機能的になることでD1を分解していると推定され、今後の更なる解析が待たれる。

7. おわりに

筆者らの最近の論文では、もうひとつ興味深い現象を提示している。それは、FtsHが欠損したvar2変異体において、主にストロマに存在するClpプロテアーゼの膜への局在が増加している点である²⁶⁾。このClpプロテアーゼの膜局在化は、var2変異体だけではなく、長時間、強光ストレスに晒した野生株でも観察することができた³⁹⁾。ClpプロテアーゼはFtsH同様にATP依存型のプロテアーゼであり、タンパク質の構造をほどこしながら連続的にタンパク質分解を行う。どのようなメカニズムでClpプロテアーゼが膜に局在するようになるかは不明であるが、その機能の相同性か

らFtsHの役割を補っていることが考えられる。葉緑体の中では、それぞれのプロテアーゼが互いに機能を相補しつつ、協調的に働くと考えられ、多様に変化する生理的条件下でその局在や活性を補完しあっているのだろう。タンパク質の分解、品質管理に関する研究では、ようやく主要なプロテアーゼの役回りがわかってきたところであり、解明すべき課題がまだ多く残されている。特に基質認識や活性の制御といった点は興味深い研究テーマであり、今後、筆者らの研究室でも取り組んでいきたい課題である。

Received July 19, 2013, Accepted July 24, 2013, Published August 31, 2013

参考文献

1. Takahashi, S., and Murata, N. (2008) How do environmental stresses accelerate photoinhibition? *Trends Plant Sci.* 13, 178-182.
2. Barber, J., and Andersson, B. (1992) Too much of a good thing: light can be bad for photosynthesis. *Trends Biochem. Sci.* 17, 61-66.
3. Takahashi, S., and Badger, M. R. (2011) Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends Plant Sci.* 16, 53-60.
4. Nixon, P. J., Michoux, F., Yu, J., Boehm, M., and Komenda, J. (2010) Recent advances in understanding the assembly and repair of photosystem II. *Ann. Bot.* 106, 1-16.
5. Komenda, J., Sobotka, R., and Nixon, P. J. (2012) Assembling and maintaining the Photosystem II complex in chloroplasts and cyanobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15, 245-251.
6. Mulo, P., Sirpio, S., Suorsa, M., and Aro, E. M. (2008) Auxiliary proteins involved in the assembly and sustenance of photosystem II. *Photosynth. Res.* 98, 489-501.
7. Ito, K., and Akiyama, Y. (2005) Cellular functions, mechanism of action, and regulation of FtsH protease. *Annu. Rev. Microbiol.* 59, 211-231.
8. Sakamoto, W., Zaltsman, A., Adam, Z., and Takahashi, Y. (2003) Coordinated regulation and complex formation of *YELLOW VARIEGATED1* and *YELLOW VARIEGATED2*, chloroplastic FtsH metalloproteases involved in the repair cycle of photosystem II in *Arabidopsis* thylakoid membranes. *Plant Cell* 15, 2843-2855.
9. Wagner, R., Aigner, H., and Funk, C. (2012) FtsH proteases located in the plant chloroplast. *Physiol. Plant.* 145, 203-214.
10. Kadirjan-Kalbach, D. K., Yoder, D. W., Ruckle, M. E., Larkin, R. M., and Osteryoung, K. W. (2012) *FtsH1/ARCI* is an essential gene in *Arabidopsis* that links chloroplast biogenesis and division. *Plant J.* 72, 856-867.
11. Yu, F., Park, S., and Rodermel, S. R. (2004) The *Arabidopsis* FtsH metalloprotease gene family: interchangeability of subunits in chloroplast oligomeric complexes. *Plant J.* 37, 864-876.
12. Boehm, M., Yu, J., Krynicka, V., Barker, M., Tichy, M., Komenda, J., Nixon, P. J., and Nield, J. (2012) Subunit organization of a synechocystis hetero-oligomeric thylakoid FtsH complex involved in photosystem II repair. *Plant Cell* 24, 3669-3683.
13. Sinvany-Villalobo, G., Davydov, O., Ben-Ari, G., Zaltsman, A., Raskind, A., and Adam, Z. (2004) Expression in multigene families. Analysis of chloroplast and mitochondrial proteases. *Plant Physiol.* 135, 1336-1345.
14. Sakamoto, W., Miura, E., Kaji, Y., Okuno, T., Nishizono, M., and Ogura, T. (2004) Allelic characterization of the leaf-variegated mutation *var2* identifies the conserved amino acid residues of FtsH that are important for ATP hydrolysis and proteolysis. *Plant Mol. Biol.* 56, 705-716.
15. Sakamoto, W., Tamura, T., Hanba-Tomita, Y., and Murata, M. (2002) The *VAR1* locus of *Arabidopsis* encodes a chloroplastic FtsH and is responsible for leaf variegation in the mutant alleles. *Genes Cells* 7, 769-780.
16. Lindahl, M., Spetea, C., Hundal, T., Oppenheim, A. B., Adam, Z., and Andersson, B. (2000) The thylakoid FtsH protease plays a role in the light-induced turnover of the photosystem II D1 protein. *Plant Cell* 12, 419-431.
17. Kato, Y., Miura, E., Ido, K., Ifuku, K., and Sakamoto, W. (2009) The variegated mutants lacking chloroplastic FtsHs are defective in D1 degradation and accumulate reactive oxygen species. *Plant Physiol.* 151, 1790-1801.
18. Miura, E., Kato, Y., Matsushima, R., Albrecht, V., Laalami, S., and Sakamoto, W. (2007) The balance between protein synthesis and degradation in chloroplasts determines leaf variegation in *Arabidopsis* yellow variegated mutants. *Plant Cell* 19, 1313-1328.
19. Huesgen, P. F., Schuhmann, H., and Adamska, I. (2009) Deg/HtrA proteases as components of a network for photosystem II quality control in chloroplasts and cyanobacteria. *Res. Microbiol.* 160, 726-732.
20. Schuhmann, H., Huesgen, P. F., and Adamska, I. (2012) The family of Deg/HtrA proteases in plants. *BMC Plant Biol.* 12, 52.
21. Haussühl, K., Andersson, B., and Adamska, I. (2001) A chloroplast DegP2 protease performs the primary cleavage of the photodamaged D1 protein in plant photosystem II. *EMBO J.* 20, 713-722.
22. Huesgen, P. F., Schuhmann, H., and Adamska, I. (2006) Photodamaged D1 protein is degraded in *Arabidopsis*

- mutants lacking the Deg2 protease. *FEBS Lett.* 580, 6929-6932.
23. Sun, X., Fu, T., Chen, N., Guo, J., Ma, J., Zou, M., Lu, C., and Zhang, L. (2010) The stromal chloroplast Deg7 protease participates in the repair of photosystem II after photoinhibition in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 152, 1263-1273.
 24. Sun, X., Peng, L., Guo, J., Chi, W., Ma, J., Lu, C., and Zhang, L. (2007) Formation of DEG5 and DEG8 complexes and their involvement in the degradation of photodamaged photosystem II reaction center D1 protein in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19, 1347-1361.
 25. Kapri-Pardes, E., Naveh, L., and Adam, Z. (2007) The thylakoid lumen protease Deg1 is involved in the repair of photosystem II from photoinhibition in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19, 1039-1047.
 26. Kato, Y., Sun, X., Zhang, L., and Sakamoto, W. (2012) Cooperative D1 degradation in the photosystem II repair mediated by chloroplastic proteases in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 159, 1428-1439.
 27. Itzhaki, H., Naveh, L., Lindahl, M., Cook, M., and Adam, Z. (1998) Identification and characterization of DegP, a serine protease associated with the luminal side of the thylakoid membrane. *J. Biol. Chem.* 273, 7094-7098.
 28. Kato, Y., and Sakamoto, W. (2009) Protein quality control in chloroplasts: a current model of D1 protein degradation in the photosystem II repair cycle. *J. Biochem.* 146, 463-469.
 29. Kley, J., Schmidt, B., Boyanov, B., Stolt-Bergner, P. C., Kirk, R., Ehrmann, M., Knopf, R. R., Naveh, L., Adam, Z., and Clausen, T. (2011) Structural adaptation of the plant protease Deg1 to repair photosystem II during light exposure. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 18, 728-731.
 30. Mann, N. H., Novac, N., Mullineaux, C. W., Newman, J., Bailey, S., and Robinson, C. (2000) Involvement of an FtsH homologue in the assembly of functional photosystem I in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Lett.* 479, 72-77.
 31. Silva, P., Thompson, E., Bailey, S., Kruse, O., Mullineaux, C. W., Robinson, C., Mann, N. H., and Nixon, P. J. (2003) FtsH is involved in the early stages of repair of photosystem II in *Synechocystis* sp PCC 6803. *Plant Cell* 15, 2152-2164.
 32. Komenda, J., Barker, M., Kuviková, S., de Vries, R., Mullineaux, C. W., Tichy, M., and Nixon, P. J. (2006) The FtsH protease slr0228 is important for quality control of photosystem II in the thylakoid membrane of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 281, 1145-1151.
 33. Barker, M., de Vries, R., Nield, J., Komenda, J., and Nixon, P. J. (2006) The deg proteases protect *Synechocystis* sp. PCC 6803 during heat and light stresses but are not essential for removal of damaged D1 protein during the photosystem two repair cycle. *J. Biol. Chem.* 281, 30347-30355.
 34. Komenda, J., Tichy, M., Prásil, O., Knoppová, J., Kuviková, S., de Vries, R., and Nixon, P. J. (2007) The exposed N-terminal tail of the D1 subunit is required for rapid D1 degradation during photosystem II repair in *Synechocystis* sp PCC 6803. *Plant Cell* 19, 2839-2854.
 35. Akiyama, Y. (2009) Quality control of cytoplasmic membrane proteins in *Escherichia coli*. *J. Biochem.* 146, 449-454.
 36. Motohashi, K., and Hisabori, T. (2006) HCF164 receives reducing equivalents from stromal thioredoxin across the thylakoid membrane and mediates reduction of target proteins in the thylakoid lumen. *J. Biol. Chem.* 281, 35039-35047.
 37. Reiland, S., Messerli, G., Baerenfaller, K., Gerrits, B., Ender, A., Grossmann, J., Gruissem, W., and Baginsky, S. (2009) Large-scale *Arabidopsis* phosphoproteome profiling reveals novel chloroplast kinase substrates and phosphorylation networks. *Plant Physiol.* 150, 889-903.
 38. Stael, S., Rocha, A. G., Wimberger, T., Anrather, D., Voithknecht, U. C., and Teige, M. (2012) Cross-talk between calcium signalling and protein phosphorylation at the thylakoid. *J. Exp. Bot.* 63, 1725-1733.
 39. Kato, Y., and Sakamoto, W. (2013) Possible compensatory role among chloroplast proteases under excess-light stress condition. *Plant Signal Behav.* 8, e23198.

The Cooperative Degradation of D1 Protein in Photosystem II Repair Cycle

Yusuke Kato*, Wataru Sakamoto

Institute of Plant Science and Resources, Okayama University

光化学系IIの光阻害に対するチラコイド膜内腔タンパク質の役割[‡]

京都大学 大学院生命科学研究科 統合生命科学専攻/JSTさきがけ

伊福 健太郎^{**}

光合成の水分解—酸素発生反応を行う光化学系II (Photosystem II: PSII) の機能は、常に損傷が修復されることで維持されている。したがって、PSII修復系は光阻害を回避する上で必須な役割を担っており、多段階のステップが時空間的に厳密に制御された形で進行することが明らかとなっている。本稿では、光阻害に対するPSII修復系に関してPSIIの分子集合の局面から紹介する。特にPSIIの活性部位が存在するチラコイド内腔に存在する因子の役割について、筆者らの研究成果を含めて最近の知見をまとめた。

1. はじめに

光化学系II (Photosystem II、以下PSIIとする) 複合体は、地球上の光エネルギー・物質変換の根幹をなす水分解-酸素発生反応を行う。水の酸化分解という激しい反応を行うため、PSIIは確率的に損傷を受ける宿命にあり、絶えず修復されることでその機能は維持されている。PSIIの「光阻害」とは、この損傷と修復の動的平衡のバランスが崩れ、損傷が修復を上回ったときに生じるPSIIの機能低下のことを指す。PSIIの損傷過程に関しては様々な議論が存在するが、PSIIの修復機能が植物の光合成と生存に必須な役割を持つことは間違いない。しかしながら、その分子機構に関しては未解明な部分が多く残されており、現在も盛んに研究が行われている。

光で損傷したPSIIの修復過程においては、PSII複合体の部分的解体、反応中心タンパク質であるD1タンパク質の選択的分解、新しいD1タンパク質の合成と挿入、PSII複合体の再構築と触媒部位であるマンガンクラスター (Mn₄CaO₅クラスター) の再構築、さらには集光タンパク質の結合などといった多段階のステップが時空間的に厳密に制御された中で進行する¹⁾。さらに真核光合成生物では、PSII複合体のサブユニットは葉緑体と核の両ゲノムにコードされることから、両ゲノムからのサブユニット供給状態は連携してコントロールされる必要がある。本稿では、PSIIの光阻害への対応における複合体の分子集合について最近の知見をまとめた上で、我々が研究している葉緑体チラコ

イド膜内腔タンパク質、特にPSIIの膜表在性タンパク質の役割を中心に紹介する。損傷を受けたPSIIのD1タンパク質のプロテアーゼによる選択的分解、及びその再合成に関しては、本解説記事の他の総説を参照されたい。

2. PSII複合体の分子集合過程

PSII複合体の分子集合過程については、新しくPSII複合体を形成する新規合成経路 (*de novo synthesis*) と、損傷したPSIIを修復する経路 (*repair cycle*) を分けて考える必要がある。PSII複合体の分子集合は、モジュール様の小複合体が段階的にドッキングすることで行われる。図1にシアノバクテリアのPSII複合体の主要なサブユニット配置と、分子集合の際のモジュール構造を示す。新規PSII複合体の形成過程については、大まかに分けて三つの構造ドメインに分けて考えることができる²⁾。すなわち、(1) D1/D2タンパク質のヘテロダイマー、シトクローム (Cyt) *b*₅₅₉の α/β サブユニット (PsbE/F)及びPsbIを含む反応中心コア (Reaction Center: RC)、(2) PSIIのコア (内側) 集光タンパク質であるCP47モジュールとCP43モジュール、そして (3) いくつかの膜表在性タンパク質 (OECタンパク質) である。

図2は各々のモジュールが段階的に分子集合する過程の概略を示している。PSIIの分子集合は、新たに形成されたRCモジュールに、CP47、CP43、膜表在性タンパク質が段階的に結合することで進行する。各々の

[‡] 解説特集「光阻害」

* 連絡先 E-mail: ifuku@kais.kyoto-u.ac.jp

過程において、複数のPSIIの低分子量サブユニットが結合し、さらに一過的に相互作用する補助的なタンパク質が関与し、最終的にPSIIダイマーの形成と集光タンパク質の結合によって活性型のPSII超複合体が完成する。膜表面性タンパク質や低分子量サブユニット、補助的なタンパク質及び集光タンパク質の種類に関しては、シアノバクテリアと葉緑体で大きく異なる部分があるが、基本的なPSII複合体形成プロセスは共通であると考えられている¹⁾

一方、PSIIの光障害からの修復過程においても、モジュール様の小複合体単位での解体と再構成が行われる(図2、右側)。光によりD1タンパク質が損傷すると複合体の部分的解体が行われ、CP43モジュールと膜表面性タンパク質が解離する。その結果生じたRC47*複体内において損傷を受けたD1タンパク質が選択的に分解除去された後、新しく合成されたD1

タンパク質が挿入され、新たにRC47複合体が形成される。その後の複合体成熟過程については、新規合成経路と同様であると考えられている¹⁾。

3. 細胞におけるPSII分子集合の場

シアノバクテリア (*Synechocystis* 6803) や緑藻クラミドモナスにおいては、PSIIの新規合成と修復の両経路はチラコイド膜上の異なるコンパートメントで進行することが報告されている。*Synechocystis* 6803においては、分画した膜面分を用いたプロテオーム解析によって、新しく合成されたPSII複合体形成の初期段階の中間体は原形質膜上に認められ、その後、チラコイド膜へ移行してさらなる分子集合が継続することが示唆されている³⁾。この膜間移行の詳細なメカニズムは明らかではないが、細胞表面に近いチラコイド膜上に認められるチラコイドセンター (TC)、及びその

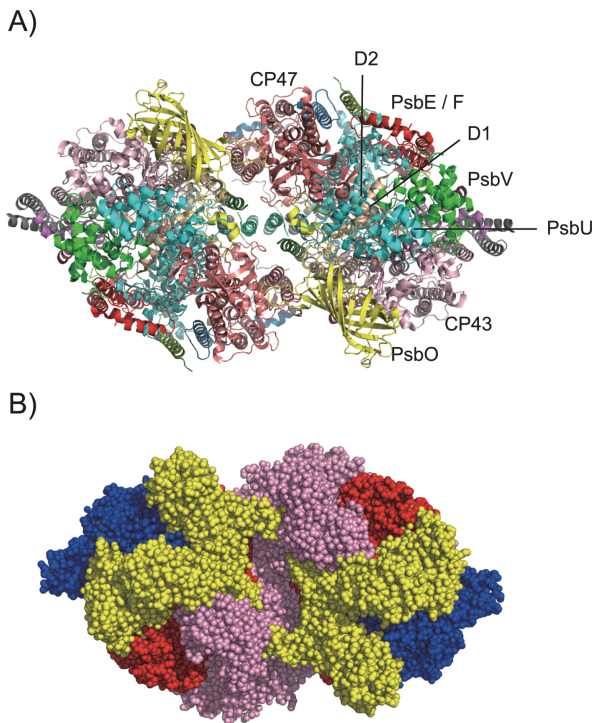


図1 シアノバクテリア光化学系II (PSII) 複合体のサブユニット構造

A) シアノバクテリア光化学系II複合体の結晶構造 (PDB_ID: 3ARC) に基づく光化学系IIのサブユニット配置を示す。膜表面性タンパク質が結合するチラコイド膜内腔側から見た図である。サブユニットの名称は主要なもののみ表記してある。B) 上の構造を分子集合のモジュール構造別に色分けしたスペースフィリングモデル。赤が反応中心モジュール(RC)、ピンクがCP47モジュール、青がCP43モジュール、そして黄色が膜表面性タンパク質を示す。

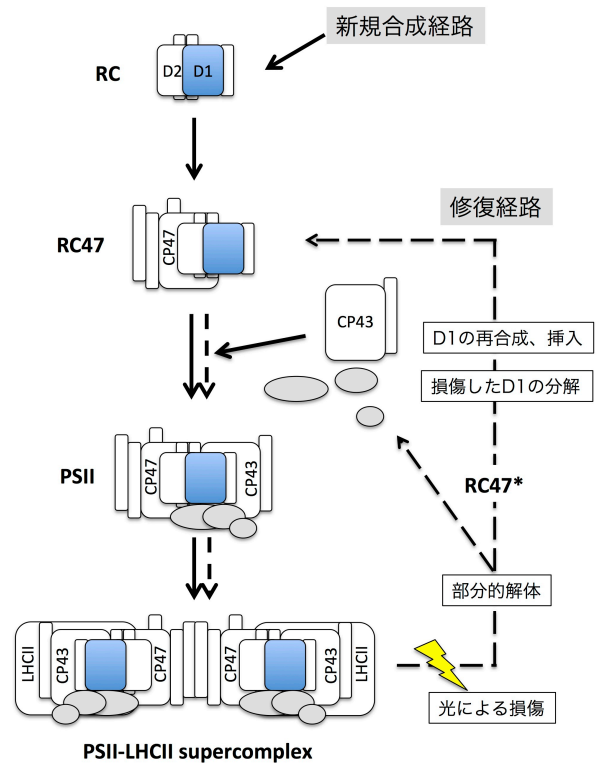


図2 PSIIの新規合成経路と修復経路の概略図

緑色植物の葉緑体チラコイド膜における、PSII複合体の段階的な分子集合過程を示す。実線の矢印は新規合成経路、右側の点線の経路は損傷したPSIIの修復経路を示す。簡単のため、RC複合体形成にいたる新規合成経路の前半部分は省略している。右下にあるRC47*は、損傷したD1タンパク質を含むRC47複合体を意味する。低分子量サブユニットの数や位置に関しては、あくまで模式的なものである。

周辺を取り囲むPratA-defined membrane (PDM) と呼ばれる膜構造体の関与が考えられている⁴⁾。PDMには、C末端側のプロセッシングを受けていないD1タンパク質前駆体 (pD1) と、pD1タンパク質の安定化とC末端プロセッシングの促進に関与するとされるPratAとYCF48タンパク質が局在する。TPR タンパク質であるPratAはペリプラズム空間に蓄積し、二価のマンガンイオンを結合する能力を有することから、マンガンの輸送や初期のPSII複合体への取り込みにも関与することが考えられている⁵⁾。これに対し、シアノバクテリアにおけるPSII修復サイトについては明確な証拠はないが、D1分解酵素やPSIIサブユニットの局在パターンから少なくともチラコイド膜上で行われると考えられ⁶⁾、PDM周辺でのタンパク質合成が関与することが考えられている⁵⁾。

一方、緑藻クラミドモナスでは、CO₂固定を行うピレノイド周縁部のチラコイド膜上にtranslation zone (T-zone)と呼ばれる局所領域が存在し、そこで初期のPSIIサブユニットの合成は行われることが報告された⁷⁾。これに対し、損傷したPSIIの修復サイトはチラコイド膜全体に渡って認められることから、クラミドモナスにおいてはPSIIの新規合成経路と修復経路は空間的に明確に区別されて進行すると考えられる。図2では、PSIIの新規合成経路と損傷PSIIを修復する経路の間で、複合体形成の中間体を共有しているかの様を示しているが、少なくとも*Synechocystis* 6803やクラミドモナスについては、両経路の空間分布の違いからこのモデルがあてはまらない可能性もある。

緑藻と同様に葉緑体を持つ高等植物においては、集光タンパク質を結合した活性型のPSIIはスタックしたグラナチラコイドに集積する⁸⁾。そのため物理的な制約から、タンパク質合成装置はグラナ間をつなぐストロマチラコイドに局在し、PSIIの新規合成や修復はそこで行われると考えられる。しかしながら、高等植物の葉緑体において、PSIIの新規合成と修復の両経路に空間的に明確な区別があるかは明らかではない。また、PSIIは複合体形成や損傷の状態にあわせてグラナとストロマチラコイド間を行き来せねばならないが、その駆動力の実体は解明されていない。強光下においてグラナのスタッキング構造が変化し、そのことが複合体の水平移動を促進しているとの報告がなされており、PSIIサブユニットのリン酸化修飾の関与が示唆されている⁹⁾。

4. PSII膜表在性タンパク質の役割

2011年、好熱性シアノバクテリア*Thermosynechococcus vulcanus*のPSII複合体のX線結晶構造解析が原子分解能で報告された¹⁰⁾。その結果、水分解を触媒するマンガングラスター (Mn₄CaO₅)の原子配置に加え、それを配位するアミノ酸側鎖についても詳細が明らかとなった。CP43モジュールの結合に伴ってマンガングラスターを配位するすべてのアミノ酸残基が揃うことから、活性のあるマンガングラスターの形成はこの後の段階で行われると考えられる。そしてマンガングラスターの形成と安定化に重要な役割を果たすのが、PSIIのチラコイド膜内腔側に結合する膜表在性タンパク質である。

図1に示すように、シアノバクテリアのPSII結晶構造において、膜表在性タンパク質であるPsbO、PsbU、PsbVはCP43モジュールとRC複合体との境界領域の膜タンパク質表面に結合しており、RC47複合体に組み入れられたCP43モジュールの相互作用を安定化していると考えられる。これら膜表在性タンパク質はいずれもマンガングラスターを直接配位するアミノ酸残基は持たないが、マンガングラスターの周辺構造を保って活性に必須なカルシウムや塩素イオンなどの無機イオンの脱離を防ぐと同時に、基質となる水と生成物であるプロトンの出入り口を確保するという重要な役割を持つことが示唆されている¹⁰⁾。加えて、PSIIの膜表在性タンパク質はPSIIの修復サイクルにおいて複合体からの解離と再結合を繰り返す必要があり、円滑なマンガングラスターの解体と再構築の過程においても重要な役割を果たしていると考えられる。事実、PSII膜表在性タンパク質を欠く変異株はいずれも光阻害感受性となる^{11,12)}。

緑色植物型のPSIIはPsbOを有するものの、PsbVやPsbUは持たず、それらとは全くアミノ酸配列が異なるPsbPとPsbQを結合している¹³⁾。PsbPとPsbQについては、各々の単独での結晶構造は判明しているが¹⁴⁻¹⁶⁾、PSII反応中心への結合トポロジー、結合部位等の詳細はほとんど解明されていない。シアノバクテリアにもPsbPやPsbQのホモログが広く存在し、それら原核生物型PsbP (CyanoP) とPsbQ (CyanoQ) の立体構造が解明された結果、緑色植物型のものと非常に良く似ていることが判明している^{17,18)}。また分子系統解析からも、それらが緑色植物型のPsbPとPsbQのプロトタイプであることが支持されている^{19,20)}。しかしながら、CyanoPとCyanoQのPSIIへの結合様式に関して

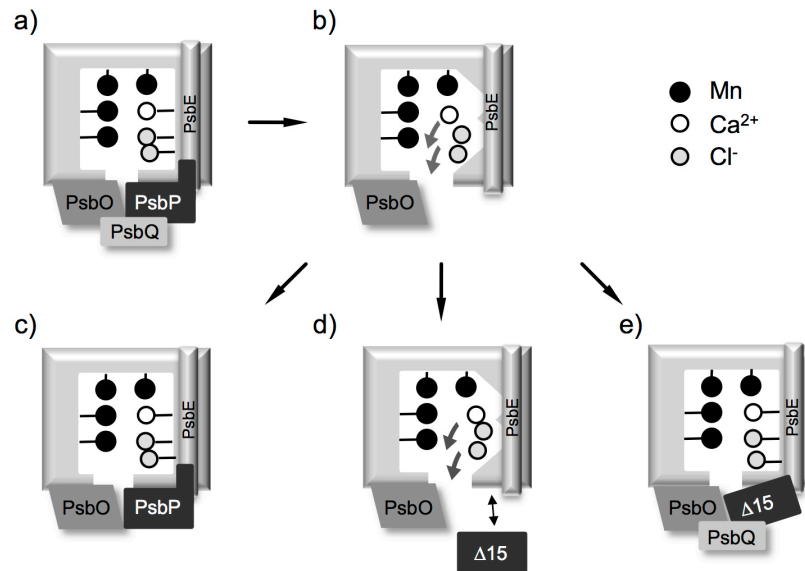


図3 緑色植物のPSII膜表在性タンパク質の分子機能

a) 緑色植物のPSIIは、チラコイド膜内腔側の膜表在性タンパク質としてPsbOに加え、PsbPとPsbQを結合する。PsbOはマンガングラスターの安定な結合に必須であり、PsbPとPsbQは酸素発生活性に必須な無機因子 (Ca^{2+} , Cl^-)の結合に関与する。そしてPsbPのN末端は、PSIIのPsbE (Cyt b_{559} α)と相互作用している。b) PsbPとPsbQが解離すると、マンガングラスターの周辺構造が変化し、 Ca^{2+} や Cl^- の結合能が低下する。c) この構造変化は、PsbP単独の再結合によって回復するが、d) N末端配列を欠く変異PsbP ($\Delta 15$)はPSIIと正しく相互作用できない。e) PsbQは $\Delta 15$ タンパク質のPSIIとの相互作用を回復させることができ、それに伴って酸素発生活性も部分的に回復する。すなわち、PsbQはPsbPとPSIIの結合を補助する役割を持つ。参考文献29)と31)の結果をもとに作図した。

は、*in silico* 解析による予測があるのみである²¹⁾。CyanoPとCyanoQはN末端に脂質修飾を有するリポタンパク質であり、静電的な相互作用で結合する高等植物のPsbPやPsbQとは結合様式が異なると考えられている²²⁾。

RNAiによるタバコやシロイヌナズナの遺伝子発現抑制株を用いた解析から、PsbQの欠損はPSII機能に大きな影響を及ぼさないが、PsbPの発現抑制は深刻なPSIIの機能低下を引き起こすことが明らかとなっている²³⁻²⁵⁾。とりわけマンガングラスターが不安定化し、強光によるPSIIへのダメージが亢進することが認められる²³⁾。高等植物PsbPの立体構造は、N末端側のドメインと、 β シート構造の両側を α ヘリックスで挟んだ $\alpha\beta\alpha$ 構造を持つ中央部の二つのドメイン構造からなるが、様々な植物に由来するPsbPの機能比較から、PsbPのN末端配列が酸素発生活性維持に重要な役割を持つことが判明している^{26,27)}。フーリエ変換赤外分光測定 (FTIR) を用いた解析により、PsbPの結合に伴いPSIIのマンガングラスター周辺構造が変化すること、及びPsbPがマンガングラスター周辺の構造変化を引き起こすためにはPsbPのN末端配列が必須であることが明らかとなった²⁸⁾ (図3)。さらに筆者らは1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimideを用いた化学架橋実

験において、PsbPのN末端がPSIIのシトクローム b_{559} α サブユニットであるPsbEと相互作用することを報告した²⁹⁾。PsbPとPsbEの相互作用はクラミドモナスでも示唆されている³⁰⁾。興味深いことに、シアノバクテリアのPSIIにおいてPsbPと似た役割を持つことが示されているPsbVも、結晶構造においてN末端を介してPsbEと相互作用していることが認められる。しかしながらPsbVとPsbE間の相互作用部位は、マンガングラスターやその周辺の塩素イオン結合サイトとはやや離れており、PSIIにおけるイオン保持能との関連に関しては、FTIRを含めたさらなる解析が必要である。

PsbQは4本のヘリックスの束からなる中心構造に加え、N末端側にPSIIとの相互作用に重要な柔軟性に富む領域を有し、この領域がPSIIとの相互作用に関与することが示唆されている¹⁶⁾。*In vitro*の再構成実験では、PsbQの結合はN末端を欠損するPsbPのPSIIへの正常な相互作用を部分的に回復することから、PsbPのPSIIへの結合を安定化する役割を持つことが考えられる³¹⁾ (図3)。シロイヌナズナを用いた最近の研究から、PsbQはPSII-LHCII超複合体の安定化に寄与することが報告された³²⁾。タバコPsbP-RNAi株においても集光アンテナと結合した活性型PSIIであるPSII-LHCII超複合体の蓄積が顕著に減少し、LHCIIと結合しない

表1 光化学系IIの分子集合に関与するチラコイド膜内腔因子

<i>A. thaliana</i>	<i>Synechocystis</i> 6803	特徴・機能など	文献
CtpA	CtpA	D1のC末端プロセッシング	38
HCF136	YCF48	RC複合体形成と安定化	39
LPA19 (Psb27-H2)	Psb27	D1成熟の促進、CP43モジュールの安定化など	40
Psb27-H1	—	PSIIの修復過程、PSII-LHCII複合体の安定化	41, 42
CYP38	—	イムノフィリン、PSIIの分子集合	43
FKBP20-2	—	PSII-LHCII複合体の形成	44
PPL1	—	PsbPホモログ、PSIIの修復過程	45
Deg1	—	PSII複合体の形成	46
TLP18.3*	—	PSIIの修復過程	47

*チラコイド膜へのアンカー配列を有していることが示唆されている。

PSIIコア複合体が蓄積することが認められている³³⁾。またLHCIIタンパク質の一部を欠損する変異植物体を用いた解析から、PsbPやPsbQのPSIIへの結合と、LHCIIとPSIIとの相互作用に相関があることが報告された³⁴⁾。PsbPやPsbQタンパク質同様、LHCタンパク質も緑色植物で特異的に機能分化したタンパク質である。上記の結果は両者の進化が機能的にも連携し、PSII複合体の最終的な分子集合や活性化状態を調節している可能性を示唆している。

一方、紅藻や珪藻はシアノバクテリアや緑色植物とも異なる独自のPSII膜表在性タンパク質を有していることが明らかとなっている。すなわち、紅藻のPSIIはPsbO、PsbU、PsbVに加え独自のPsbQ' (プライム) タンパク質を結合しており³⁵⁾、珪藻のPSIIは独自のPsb31タンパク質を有する³⁶⁾。精製したPSII標品を用いた*in vitro*の機能解析によって、それらはPSII活性の最適化に重要な役割を持つ事が示唆されている。しかしながら、各々のPSII複合体における相互作用様式や、細胞における生理機能などに関しては解明されていないところが多い。光合成生物種間でPSII膜表在性タンパク質の組成が異なることが、PSIIの分子集合や活性制御、ひいては各々の生物種における光阻害への対応にどのように影響しているのかは今後の研究課題である。

5. その他のチラコイド膜内腔タンパク質の役割

PSII膜表在性タンパク質は、PSII複合体に結合していない遊離の状態でもチラコイド膜内腔にプールとして存在し、主要なチラコイド膜内腔タンパク質となっている。それに加えて、チラコイド膜内腔を対象にし

たプロテオーム解析から、タンパク質のフォールディングやアッセムブリーを助けるシャペロン類、並びに、異常のあるタンパク質を除去するプロテアーゼ等が存在することが認められている³⁷⁾。チラコイド膜内腔は植物の生理状態によってpHやイオン環境がダイナミックに変化する環境であり、これらの内腔タンパク質は、そうした環境において膜タンパク質機能を維持する上で重要な役割を持つと考えられる。表1に示したのは、シロイヌナズナで報告されているPSIIの分子集合に関与するチラコイド膜内腔タンパク質である。CtpA³⁸⁾、HCF136³⁹⁾、LPA19⁴⁰⁾など、シアノバクテリアに機能的なホモログがあるものについては、比較的分子機能の解明が進んでいる。それ以外のものに関しては緑色植物で独自に機能分化したと考えられ、詳細な分子機能についてはさらなる解析が必要である。

筆者らはこれまでに、緑色植物のチラコイド膜内腔に多数蓄積しているPsbPやPsbQと相同性のあるタンパク質に注目して研究を行った。シロイヌナズナでは二つのPsbP-like protein (PPL)、三つのPsbQ-like protein (PQL)、そしてPsbPと弱い相同性を示す少なくとも七つのPsbP-domain protein (PPD)の存在が確認されている。筆者らは高等植物におけるPsbPとPsbQホモログの転写プロファイル解析を行い、その一部が環境ストレス下における光合成電子伝達活性の機能維持に重要な役割を持つことを推定した⁴⁸⁾。mRNAの共発現パターンを調べるATTED-IIプログラム⁴⁹⁾によれば、PPL1遺伝子はPSIIの分子集合に関与するイムノフィリンの一種であるCYP38⁴³⁾ (表1) や、強光環境下で発現が誘導されるSEP (Stress-Enhanced Protein) などとの発現相関が高い。実際にシロイヌナズナ遺伝子欠損変異体を

用いた解析を行った結果、最も原核生物型 P s b P (CyanoP) に似た配列をもつ PPL1 (PsbP-like protein 1) が、強光で障害をうけた PSII の修復過程に関わることが明らかとなった⁴⁵⁾。しかしながら、BN-PAGE による解析では PPL1 と PSII 複合体や中間体との相互作用は認められておらず、PSII 修復系における PPL1 の分子機能は明らかではない。他の PsbP のパラログである PPL2⁴⁵⁾ や PQL^{50,51)}、PPD1⁵²⁾ タンパク質は、光化学系 I 周辺での循環的電子伝達に関わる葉緑体 NAD(P)H デヒドロゲナーゼ様複合体⁵³⁾ や光化学系 I の分子集合に関わることが明らかとなっている。したがって、PPL1 もチラコイド膜タンパク質の安定性や折りたたみ、もしくは、それらの正しい相互作用を導く上で重要な役割を持つ可能性が考えられる。今後の PPL1 の分子機能の解明は、PSII の光阻害に対するチラコイド膜内腔タンパク質の役割について新しい知見をもたらすと期待している。

6. おわりに

本解説記事では PSII の光阻害に対する PSII 修復過程に関して、PSII サブユニットの分子集合の局面を中心に紹介した。特に、PSII の膜表面タンパク質を含むチラコイド膜内腔タンパク質の分子機能について詳しく述べた。論文化が間に合わず、PsbP や PPL1 に関する筆者らの最新の知見を紹介できなかったが、チラコイド膜内腔におけるタンパク質間の機能的関係や分子相互作用などに関する報告は近年増加傾向にあり、今後、大きく進展することが期待される。一方、本稿では PSII の低分子量サブユニットの分子機能や、PSII の分子集合を助ける補助的タンパク質の役割に関して、全てを網羅して紹介できなかった。加えて PSII の分子集合や修復においては、色素や酸化還元コファクターの合成や分解、組込みのプロセスも非常に重要な要素であるが、それについても本稿では触れていない。そうした部分に関しては、最近の総説¹⁾などを参照いただければ幸いです。

謝辞

本解説記事で紹介した筆者らの研究の一部は、JST さきがけ「光エネルギーと物質変換」領域の支援のもと、京都大学 大学院生命科学研究所 全能性統御機構学分野 (佐藤文彦教授) において行われたものです。

また、FTIR 解析については名古屋大学理学研究科の野口巧先生、タンパク質相互作用に関する質量分析については奈良先端科学技術大学院大学の深尾陽一朗先生との共同研究による成果です。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。最後に、本執筆の機会を頂きました埼玉大学の西山佳孝先生に感謝申し上げます。

Received July 16, 2013, Accepted July 25, 2013, Published August 31, 2013

参考文献

1. Nickelsen, J., and Rengstl, B. (2013) Photosystem II assembly: from cyanobacteria to plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 609-635.
2. Komenda, J., Sobotka, R., and Nixon, P. J. (2012) Assembling and maintaining the Photosystem II complex in chloroplasts and cyanobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15, 245-251.
3. Zak, E., Norling, B., Maitra, R., Huang, F., Andersson, B., and Pakrasi, H. B. (2001) The initial steps of biogenesis of cyanobacterial photosystems occur in plasma membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 13443-13448.
4. Rengstl, B., Oster, U., Stengel, A., and Nickelsen, J. (2011) An intermediate membrane subfraction in cyanobacteria is involved in an assembly network for Photosystem II biogenesis. *J. Biol. Chem.* 286, 21944-21951.
5. Stengel, A., Gügel, I. L., Hilger, D., Rengstl, B., Jung, H., and Nickelsen, J. (2012) Initial steps of photosystem II *de novo* assembly and preloading with manganese take place in biogenesis centers in *Synechocystis*. *Plant Cell* 24, 660-675.
6. Komenda, J., Barker, M., Kuviková, S., de Vries, R., Mullineaux, C.W., Tichy, M., and Nixon, P. J. (2006) The FtsH protease *slr0228* is important for quality control of photosystem II in the thylakoid membrane of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 281, 1145-1151.
7. Schottkowski, M., Peters, M., Zhanm, Y., Rifai, O., Zhang, Y., and Zerges, W. (2012) Biogenic membranes of the chloroplast in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 19286-19291.
8. Aro, E. M., Suorsa, M., Rokka, A., Allahverdiyeva, Y., Paakkarinen, V., Saleem, A., Battchikova, N., and Rintamäki, E. (2005) Dynamics of photosystem II: a proteomic approach to thylakoid protein complexes. *J. Exp. Bot.* 56, 347-356.
9. Herbstová, M., Tietz, S., Kinzel, C., Turkina, M. V., and Kirchhoff, H. (2012) Architectural switch in plant photosynthetic membranes induced by light stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 20130-20135.

10. Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J. R., and Kamiya, N. (2011) Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature* 473, 55-60.
11. Shen, J. R., Burnap, R. L., and Inoue, Y. (1995) An independent role of cytochrome *c*-550 in cyanobacterial photosystem II as revealed by double-deletion mutagenesis of the *psbO* and *psbV* genes in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry* 34, 12661-12668.
12. Inoue-Kashino, N., Kashino, Y., Satoh, K., Terashima, I., and Pakrasi, H. B. (2005) PsbU provides a stable architecture for the oxygen-evolving system in cyanobacterial photosystem II. *Biochemistry* 44, 12214-12228.
13. Enami, I., Okumura, A., Nagao, R., Suzuki, T., Iwai, M., and Shen, J. R. (2008) Structures and functions of the extrinsic proteins of photosystem II from different species. *Photosynth. Res.* 98, 349-363.
14. Ifuku, K., Nakatsu, T., Kato, H., and Sato, F. (2004) Crystal structure of the PsbP protein of Photosystem II from *Nicotiana tabacum*. *EMBO Rep* 5, 362-367.
15. Calderone, V., Trabucco, M., Vujicic, A., Battistutta, R., Giacometti, G. M., Andreucci, F. Barbato, R., and Zanotti, G. (2003) Crystal structure of the PsbQ protein of Photosystem II from higher plants. *EMBO Rep.* 4, 900-905.
16. Balsera, M., Arellano, J. B. Revuelta, J. L., de las Rivas, J., and Hermoso, J. A. (2005) The 1.49 Å resolution crystal structure of PsbQ from photosystem II of *Spinacia oleracea* reveals a PPII structure in the N-terminal region. *J. Mol. Biol.* 350, 1051-1060.
17. Michoux, F., Takasaka, K., Boehm, M., Nixon, P. J., and Murray, J. W. (2010) Structure of CyanoP at 2.8 Å: implications for the evolution and function of the PsbP subunit of photosystem II. *Biochemistry* 49, 7411-7213.
18. Jackson, S. A., Fagerlund, R. D., Wilbanks, S. M., and Eaton-Rye, J. J. (2010) Crystal structure of PsbQ from *Synechocystis* sp. PCC 6803 at 1.8 Å: implications for binding and function in cyanobacterial photosystem II. *Biochemistry* 49, 2765-2767.
19. De Las Rivas, J., Balsera, M., and Barber, J. (2004) Evolution of oxygenic photosynthesis: genome-wide analysis of the OEC extrinsic proteins. *Trends Plant Sci.* 9, 18-25.
20. Sato, N. (2009) Phylogenomic and structural modeling analyses of the PsbP superfamily reveal multiple small segment additions in the evolution of photosystem II-associated PsbP protein in green plants. *Mol. Phylogenet. Evol.* 6, 176-186.
21. Fagerlund, R. D., and Eaton-Rye, J. J. (2011) The lipoproteins of cyanobacterial photosystem II. *J. Photochem. Photobiol. B* 104, 191-203.
22. Thornton, L.E., Ohkawa, H., Roose, J. L., Kashino, Y., Keren, N., and Pakrasi, H. B. (2004) Homologs of plant PsbP and PsbQ proteins are necessary for regulation of Photosystem II activity in the cyanobacterium *Synechocystis* 6803. *Plant Cell* 16, 2164-2175.
23. Ifuku, K., Yamamoto, Y., Ono, T. A., Ishihara, S., and Sato, F. (2005) PsbP protein, but not PsbQ protein, is essential for the regulation and stabilization of Photosystem II in higher plants. *Plant Physiol.* 139, 1175-1184.
24. Yi, X., Hargett, S. R., Frankel, L. K., and Bricker, T. M. (2006) The PsbQ protein is required in Arabidopsis for photosystem II assembly/stability and photoautotrophy under low light conditions *J. Biol. Chem.* 281, 26260-26267.
25. Yi, X., Hargett, S.R., Liu, H., Frankel, L. K., and Bricker, T. M. (2007) The PsbP protein is required for photosystem II complex assembly/stability and photoautotrophy in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 282, 24833-24841.
26. Ifuku, K., and Sato, F. (2001) Importance of the N-terminal sequence of the extrinsic 23 kDa polypeptide in Photosystem II in ion retention in oxygen evolution. *Biochim Biophys Acta* 1546, 196-204.
27. Ifuku, K., and Sato, F. (2002) A truncated mutant of the extrinsic 23-kDa protein that absolutely requires the extrinsic 17-kDa protein for Ca²⁺ retention in photosystem II. *Plant Cell Physiol.* 43, 1244-1249.
28. Tomita, M., Ifuku, K., Sato, F., and Noguchi, T. (2009) FTIR evidence that the PsbP extrinsic protein induces protein conformational changes around the oxygen-evolving Mn cluster in photosystem II, *Biochemistry* 48, 6318-6325.
29. Ido, K., Kakiuchi, S., Uno, C., Nishimura, T., Fukao, Y., Noguchi, T., Sato, F., and Ifuku, K. (2012) The conserved His-144 in the PsbP protein is important for the interaction between the PsbP N-terminus and the Cyt *b*₅₅₉ subunit of photosystem II. *J. Biol. Chem.* 287, 26377-26387.
30. Nagao, R., Suzuki, T., Okumura, A., Niikura, A., Iwai, M., Dohmae, N., Tomo, T., Shen, J. R., Ikeuchi, M., and Enami, I. (2010) Topological analysis of the extrinsic PsbO, PsbP and PsbQ proteins in a green algal PSII complex by cross-linking with a water-soluble carbodiimide, *Plant Cell Physiol.* 51, 718-727.
31. Kakiuchi, S., Uno, C., Ido, K., Nishimura, T., Noguchi, T., Ifuku, K., and Sato, F. (2012) The PsbQ protein stabilizes the functional binding of the PsbP protein to photosystem II in higher plants. *Biochim Biophys Acta* 1817, 1346-1351.
32. Allahverdiyeva, Y., Suorsa, M., Rossi, F., Pavesi, A., Kater, M. M., Antonacci, A., Tadini, L., Pribil, M., Schneider, A., Wanner, G., Leister, D., Aro, E. M., Barbato, R., and Pesaresi, P. (2013) Arabidopsis plants lacking PsbQ and PsbR subunits of the oxygen-evolving complex show altered PSII super-complex organization and short-term adaptive mechanisms. *Plant J.*, in press, PubMed PMID: 23647309.
33. Ido, K., Ifuku, K., Yamamoto, Y., Ishihara, S., Murakami, A., Takabe, K., Miyake, C., and Sato, F. (2009) Knockdown of the PsbP protein does not prevent assembly of the dimeric PSII core complex but

- impairs accumulation of photosystem II supercomplexes in tobacco. *Biochem. Biophys. Acta* 1787, 873-881.
34. Caffarri, S., Kouril, R., Kereiche, S., Boekema, E. J., and Croce, R. (2009) Functional architecture of higher plant photosystem II supercomplexes, *EMBO J.* 28, 3052-3063.
 35. Enami, I., Kikuchi, S., Fukuda, T., Ohta, H., and Shen, J. R. (1998) Binding and functional properties of four extrinsic proteins of photosystem II from a red alga, *Cyanidium caldarium*, as studied by release-reconstitution experiments, *Biochemistry* 37, 2787-293.
 36. Nagao, R., Moriguchi, A., Tomo, T., Niikura, A., Nakajima, S., Suzuki, T., Okumura, A., Iwai, M., Shen, J. R., Ikeuchi, M., and Enami, I. (2010) Binding and functional properties of five extrinsic proteins in oxygen-evolving photosystem II from a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*. *J. Biol. Chem.* 285, 29191-29199.
 37. Sun, Q., Zybailov, B., Majeran, W., Friso, G., Olinares, P. D., and van Wijk, K. J. (2008) PPDB, the Plant Proteomics Database at Cornell. *Nucleic Acids Res.* 37, D969-974.
 38. Yamamoto, Y., Inagaki, N., and Satoh, K. (2001) Overexpression and characterization of carboxyl-terminal processing protease for precursor D1 protein: regulation of enzyme-substrate interaction by molecular environments. *J. Biol. Chem.* 276, 7518-7525.
 39. Plucken, H., Muller, B., Grohmann, D., Westhoff, P., and Eichacker, L. A. (2002) The HCF136 protein is essential for assembly of the Photosystem II reaction center in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 532, 85-90.
 40. Wei, L., Guo, J., Ouyang, M., Sun, X., Ma, J., Chi, W., Lu, C., and Zhang, L. (2010) LPA19, a Psb27 homolog in *Arabidopsis thaliana*, facilitates D1 protein precursor processing during PSII biogenesis. *J. Biol. Chem.* 285, 21391-21398.
 41. Chen, H., Zhang, D., Guo, D., Wu, H., Jin, M., Lu, Q., Lu, C., and Zhang, L. (2006) A Psb27 homologue in *Arabidopsis thaliana* is required for efficient repair of photodamaged Photosystem II. *Plant Mol. Biol.* 61, 567-557.
 42. Dietzel, L., Bräutigam, K., Steiner, S., Schüffler, K., Lepetit, B., Grimm, B., Schöttler, M. A., and Pfannschmidt, T. (2011) Photosystem II supercomplex remodeling serves as an entry mechanism for state transitions in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23, 2964-2977.
 43. Sirpiö, S., Khrouchtchova, A., Allahverdiyeva, Y., Hansson, M., Fristedt, R., Vener, A.V. Scheller, H. V., Jensen, P. E., Haldrup, A., and Aro, E. M. (2008) AtCYP38 ensures early biogenesis, correct assembly and sustenance of Photosystem II. *Plant J.* 55, 639-651.
 44. Fu, A., He, Z., Cho, H.S., Lima, A., Buchanan, B. B. and Luan, S. (2007) A chloroplast cyclophilin functions in the assembly and maintenance of photosystem II in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 15947-15952.
 45. Ishihara, S., Takabayashi, A., Ido, K., Endo, T., Ifuku, K., and Sato, F. (2007) Distinct functions for the two PsbP-like proteins PPL1 and PPL2 in the chloroplast thylakoid lumen of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 145, 668-679.
 46. Kapri-Pardes, E., Naveh, L., and Adam, Z. (2007) The thylakoid lumen protease Deg1 is involved in the repair of Photosystem II from photoinhibition in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19, 1039-1047.
 47. Sirpiö, S., Allahverdiyeva, Y., Suorsa, M., Paakkarinen, V., Vainonen, J., Battchikova, N., and Aro, E. M. (2007) TLP18.3, a novel thylakoid lumen protein regulating Photosystem II repair cycle. *Biochem. J.* 406, 415-425.
 48. Ifuku, K., Ishihara, S., and Sato, F. (2010) Molecular functions of oxygen-evolving complex family proteins in photosynthetic electron flow. *J. Integr. Plant Biol.* 52, 723-734.
 49. Obayashi, T., Hayashi, S., Saeki, M., Ohta, H., and Kinoshita, K. (2009) ATTED-II provides coexpressed gene networks for *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Res.* 37, D987-991.
 50. Yabuta, S., Ifuku, K., Takabayashi, A., Ishihara, S., Ido, K., Ishikawa, N., Endo, T., and Sato, F. (2010) Three PsbQ-like proteins are required for the function of the chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complex in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 51, 866-876.
 51. Suorsa, M., Sirpiö, S., Paakkarinen, V., Kumari, N., Holmström, M., and Aro, E. M. (2010) Two proteins homologous to PsbQ are novel subunits of the chloroplast NAD(P)H dehydrogenase. *Plant Cell Physiol.* 51, 877-883.
 52. Liu, J., Yang, H., Lu, Q., Wen, X., Chen, F., Peng, L., Zhang, L., and Lu, C. (2012) PsbP-domain protein1, a nuclear-encoded thylakoid lumenal protein, is essential for photosystem I assembly in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 24, 4992-5006.
 53. Ifuku, K., Endo, T., Shikanai, T., and Aro E. M. (2011) Structure of the chloroplast NADH dehydrogenase-like complex: nomenclature for nuclear-encoded subunits. *Plant Cell Physiol.* 52: 1560-1568.

Functions of Thylakoid Lumenal Proteins Against Photoinhibition of Photosystem II

Kentaro Ifuku*

Graduate School of Biostudies, Kyoto University; JST, PRESTO

報告記事

第4回 日本光合成学会（年会・公開シンポジウム）開催報告

シンポジウムオーガナイザー：田中 歩（北海道大学 低温科学研究所）
 シンポジウムオーガナイザー：鹿内 利治（京都大学 大学院理学研究科）
 シンポジウムオーガナイザー：佐藤 直樹（東京大学 大学院総合文化研究科）
 年会世話人：日原 由香子（埼玉大学 大学院理工学研究科）

第4回日本光合成学会（年会・公開シンポジウム）が、2013年5月31日~6月1日の2日間にわたって名古屋大学 野依記念学術交流館で行われました。参加者は176名で、懇親会には113名が参加しました。今回の公開シンポジウムでは、特定の研究分野の最新知見を紹介するという従来のやり方とは趣向を変え、「30年後の光合成研究」という抽象的なテーマのもと、若手研究者・ベテラン研究者がそれぞれの立場・研究分野から思うところを語るという、ユニークな試みがなされました。若手研究者の代表として、理化学研究所の岩井優和先生が「"too famous but too unknown"を打破するために必要なことは何か?」、京都大学の石北央先生が「基礎的な分子化学で光合成を語れるようになる日」、京都大学の永野惇先生が「予測とデザインをはじめよう。野外におけるトランスクリプトームのモデリングから」、東京大学の成川礼先生が「光合成生物の生き様の理解とそれに基づく合目的な改変・制御の展望」というタイトルで、それぞれ講演されました。いずれの先生も、最新の手法を用いたオリジナリティーの高い研究に取り組んでおられる様子がよく分かりました。それにしても、30年間というタイムスパンの実感を持たない若手にとって、今回のシンポジウムテーマはなかなか難しいものではなかったかと想像します。真摯にテーマに向き合い、熟考された様子がそれぞれのプレゼンテーションから感じられました。



一方、ベテラン研究者を代表して、立命館大学の民秋均先生が「人工光合成への期待」、東北大学の牧野周先生が「作物の光合成能力の改善は可能か? これからの挑戦」、京都大学の佐藤文彦先生が「フラスコの中から光合成研究の未来をみる」、岡山大学の高橋裕一郎先生が「過去30年間の光化学系複合体の研究から30年後の研究展開を読む」というタイトルで講演されました。それぞれの研究分野で長く最前線を走って来られた先生方だけに、将来への視線は非常に鋭く、その問題提起に触発されたか、講演後の議論も非常に活発で、時間が全く足りないほどでした。さらには元名古屋大学の伊藤繁先生が、「物事は繰り返す! 30年前の資料から、30年後を予想してみよう!」と題した講演でシンポジウムを総括されました。サイエンスの辿る4つの時代（神話→ロマンス→科学→ビジネス）というお話が個人的に印象に残りました。



今回の年会の大きな特徴として、参加者数に対して演題数が急増したことが挙げられます。第3回年会の参加者が約190名、一般講演

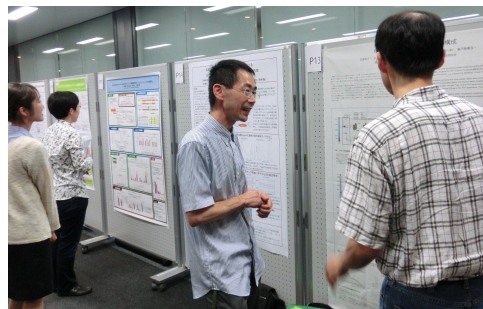
（口頭およびポスター発表）が57演題であったのに対して、今回は参加者176名に対して、講演数は口頭発表6演題、ポスター発表72演題の、計78演題でした。学生参加者が全体の3分の1程度と多かったことから、学生が研究成果を発表する場のひとつとして、光合成学会が徐々に認知されてきていることが実感されます。ポスター演題数が多いため、恒例の「ポスター発表1分間プレゼンテーション」は時間的に厳しいかなとも思ったのです

が、実際にはほとんど時間延長することもなく終了しました。「ポスター数が増えたからこそ、その全貌を把握することのできる1分プレゼンはますます重要だ」、「自分の仕事を、ポイントを絞って1分で紹介することは学生にとって非常に良いトレーニングになる」といったポジティブなご意見が数多く聞かれました。

さらに今回の年会では新たな試みとして、「企業プレゼンテーション」の時間を設けました。6月1日午後のセッションの開始前に、オプトシリウス株式会社の北野充郎氏による「オーシャンオプティクス社製 小型分光器の紹介」、バイオロジック社のZohra Mana氏による”JTS-10: photosynthesis measuring system”の2講演が行われました。最新の測定機器で何を測定することができ、どんな研究の可能性が広がるのか、企業ブースに立ち寄っただけでは分からない具体的な情報が得られ、このような機会を設けることは、企業と研究者の双方にとってプラスであったのではないのでしょうか。

2日間の会期中に、シンポジウム講演あり、一般講演あり、ポスタープレゼンあり、企業プレゼンありの盛りだくさんなプログラムに加えて、活発なディスカッション、とても充実した会になり、年会世話人としては働き甲斐がありました。反省点としては、プログラムが過密であったため、講演（とくに一般講演）に対する質疑応答時間を十分に確保できなかったことが挙げられます。また、一般講演が6枠しか取れず、口頭発表のご希望に添えないケースが生じてしまいました。今後も参加者数、演題数が増加していくようであれば、一般参加はすべてポスター発表とし、シンポジウム講演での討論をさらに充実させる手もあるのではないかと思います。最後に、会場での一部始終をお世話して下さいった名古屋大学の野口巧先生の研究室の皆様、とくに加藤祐樹先生に深く御礼申し上げます。

(日原由香子記)



報告記事

第4回 日本光合成学会優秀ポスター賞受賞者

第4回日本光合成学会シンポジウムにおける優秀ポスター賞は、参加者による投票の結果、以下の方々（五十音順）が受賞されました。今回は合計5名の受賞者が選ばれました。受賞者の方々の研究については、順次、「光合成研究」において、紹介していく予定です。

浅田 瑞枝（名古屋大学 大学院理学研究科）

光化学系II酸素発生系S2状態におけるMn価数の解明

大鳥 久美（近畿大学 農学部）

C/Nバランス制御の初期応答に及ぼす光合成機能強化の影響

華岡 光正（千葉大学 大学院園芸学研究科）

葉緑体の分化・発達に伴った光合成遺伝子の転写制御

速水 菜月（岐阜大学 応用生物科学部）

光防御関連遺伝子ELIP2プロモーターから同定された強光、UV-B、低温ストレス応答を統合する転写制御配列

増田 真二（東京工業大学 バイオ研究基盤支援総合センター）

植生分布で偏りが見られるルビスコ内点変異の意味付け



報告記事

若手の会活動報告 ～第八回セミナーの開催、新体制での運営開始～

立命館大学 生命科学部 生命情報学科
浅井 智広

2013年6月1日の本会終了後、名古屋大学理学部の講義室をお借りし、若手の会の第八回のセミナーを開催しました。大学院生、ポスドク、助教といった現場で日々研究に勤しむ若手の研究者約30名が集まり、活発な議論が交わされました。はじめに、微細藻類の代謝をシステムバイオロジ的な手法で研究されている神戸大学の蓮沼誠久先生、レーザー分光法で光合成装置の構造と機能を研究されている東北大学の柴田稷先生に、ご自身の研究の特徴や魅力、最新の成果について、わかりやすくお話しいただきました。両先生のご講演内容は、私たち若手の光合成研究者が心得ておくべき知識や考え方がたくさん含まれていて、多くの参加者にとって興味深いものとなったと思います。その後恒例となった、研究紹介を兼ねた自己紹介を参加者全員にさせていただきました。セミナーの具体的な内容や詳しい様子については、積極的にセミナーで議論して下さった埼玉大学の門脇太郎さんの参加報告記事をご覧ください。また、開催直前の無理なお願いにも関わらず、セミナーの準備を手伝って下さった名古屋大学の長尾遼さんには、この場を借りてお礼申し上げます。

また今回のセミナーから、若手の会の運営体制を新しくしました。これは、新しいアイデアや理想、活気に満ちた若手研究者の集まりである若手の会が、長期にわたって同じ体制で運営されるのは好ましくなく、一定の頻度での新陳代謝も必要だという考えからです。まず、これまで会長を勤めていただいた東京大学の成川礼さんに替わり、二代目会長を私が勤めることとなりました。成川さんには、創設から現在に至るまで若手の会の運営にご尽力いただき、若手の会の発展を牽引してくださいました。今後は、幹事として、若手の会の円滑な運営と発展にご協力いただきたいと思います。さらに、東京大学の渡辺麻衣さんと溝上祐介さんに、幹事補佐として新たに運営に加わっていただくこととなりました。幹事の中で最も若いお二人が新たな発想で、若手の会を発展させてくださることを大いに期待しています。

光合成学会若手の会では、実年齢や身分、所属を問わず、多くの研究者の方々の積極的な参加を歓迎します。若手の会の活動内容や最新情報は、ホームページ (<https://sites.google.com/site/photosynwakate/home>) で紹介していますので、ご覧ください。また興味のある方は、若手の会のメーリングリストから随時、最新情報をお知らせしますので、cazai@fc.ritsumei.ac.jpにご連絡ください。若い気持ちで現場の研究を推進している研究者が交流することは、学際性の強い光合成研究では絶対不可欠であると、私は考えています。この記事を読んでいただいた先生方には、ご自身の参加はもちろんのこと、ご指導されている学生さんやポスドクの方に、是非、若手の会への参加をお勧めいただきたいと思います。



セミナー終了後の集合写真

新運営体制 (2013年6月～)

会長	:	浅井 智広	(立命館大学)
幹事	:	大西 紀和	(基礎生物学研究所)
		岡島 公司	(大阪府立大学)
		川上 恵典	(大阪市立大学)
		辻 敬典	(筑波大学)
		成川 礼	(東京大学)
幹事補佐	:	溝上 祐介	(東京大学)
		渡辺 麻衣	(東京大学)

報告記事

光合成学会若手の会第八回セミナーに参加して

埼玉大学 大学院理工学研究科
門脇 太郎

平成25年5月31日から6月1日にかけて第四回光合成学会年会在名古屋大学野依記念学术交流館で行われ、年会終了後に光合成若手の会第八回セミナーが行われました。前々から若手の会の話聞いていたのですが、私にとってはこれが初めての参加となりました。セミナーの内容は二つの講演と各参加者の自己紹介であり、お菓子や飲み物が用意されており、終始アットホームな雰囲気でした。

一つ目の講演は蓮沼誠久先生(神戸大学 自然科学系先端融合研究科環)による「シアノバクテリアのシステムバイオロジー解析とバイオリファイナーへの応用」でした。講演内容としては微細藻類を用いた有用物質生産と炭素の安定同位体を用いて網羅的に光合成生物の代謝を解析したという内容でした。近年微細藻類やシアノバクテリアを利用したバイオ燃料の生産に対する関心が高まっています。しかし、ただ単純に遺伝子導入をしても目的の形質を与えることができないことは多々あり、このような点を改善するため、網羅的な代謝情報(様々な代謝産物の蓄積量、蓄積速度など)を得ることにより、代謝改変戦略を立案することが重要になるそうです。今回は150種類もの代謝産物を同時に解析し、さらに炭素の安定同位体を用いてその代謝の流れを同時にモニタリングする技術について紹介していただきました。私自身光合成生物がどのように環境の変化を検知し、適応するかその機構及びそのダイナミクスに興味があり、この代謝プロファイリングの技術は非常に魅力的であると感じ、この網羅的で動的な代謝産物の情報は生物の本質にせまるのに非常に有用であると感じました。

二つ目の講演は柴田稷先生(東北大学 大学院理学研究科化学専攻)による「レーザー分光で探る光合成」でした。講演内容としては酸素発生型の光化学系IIの構造に立脚した理論モデルを作製し、光化学系IIの様々な光学スペクトルの実験データの再現に成功したという内容でした。酸素発生型光合成の光化学系タンパク質は、それまで知られていた非酸素発生型のものと比較して著しく複雑で、対称性のない構造をしており、このことは光合成系の反応機構を定量的に解析する上で非常に障害となるそうです。現在、光化学系のタンパク質に関してはその複雑な構造がオングストロームの精度で解明されており、これまで知られてきた量子力学の理論の威力を存分に発揮できる可能性がある魅力的な系だそうです。私自身は普段は物理法則に基づいた理論モデルを作るのではなく、今回、理論と実験を比較する現場に関して聞かせていただき、改めて実験と理論の両方から光合成の研

究が発展していることがわかりました。

また研究紹介の後には約30名の参加者の自己紹介があり、それぞれ自身の研究内容のほか、趣味や経歴、近況などを紹介などユーモアに溢れた内容でした。参加者は学部生から幅広く、また、研究テーマは生物物理的な視点から生理学まで非常に多岐に及び、とても興味深く聴かせて頂きました。

総括して、このセミナーは自身の研究分野から少し離れた様々な研究分野に触れられ、自身の視野を広げることができる良い機会であると感じました。そして改めて光合成というテーマに対し、奥深さを学び、まだまだ未知の領域があり、これから解き明かしていくべき課題が無数に存在していると感じました。そして私自身、その中のほんの一部でも明らかに光合成分野の発展に貢献できるよう、これからも研究に従事していきたいと思えます。

最後になりましたが、セミナーを主催して頂き、本稿を執筆する機会を与えてくださいました立命館大学の浅井智広先生及び東京大学の成川礼先生にこの場をお借りして感謝申し上げます。

事務局からのお知らせ

★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：日本光合成学会、口座番号：00140-3-730290）あるいは銀行振込（ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290 名前：ニホンコウゴウセイガクカイ）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。

★会員名簿管理方法の変更と会費納入のお願い

学会の運営は、皆様に納めていただいております年会費によりまかなわれております。昨年度、会費滞納者を名簿から削除するの願いをしました。当該年度の会費が未納の場合、光合成研究が送られてくる封筒に、会費未納が印字されています。ご都合のつくときに、会費を納入下さい。1年間会費を滞納された場合、次年度よりお名前が会員名簿から削除され、光合成研究は届かなくなります。再入会される場合は、未納の分もあわせてお支払いいただきます。2011年1月に名簿の変更を行いましたので、複数年度の会費滞納者はおられなくなりました。会費納入状況などにつきましては、ご遠慮なく事務局（shikanai@pmg.bot.kyoto-u.ac.jp）までお問い合わせください。会員の皆様のご理解とご協力をお願い申し上げます。

日本光合成学会会員入会申込書

平成 年 月 日

日本光合成学会御中

私は日本光合成学会の趣旨に賛同し、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

〒060-0819 札幌市北区北19条西8丁目

北海道大学 低温科学研究所

生物適応機構学（田中歩）研究室内

日本光合成学会

TEL:011-706-5493 / FAX:011-706-5493

ホームページ: <http://photosyn.jp>

郵便振替口座 加入者名：日本光合成学会 口座番号：00140-3-730290

銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290

名前：ニホンコウゴウセイガッカイ

日本光合成学会会則

第1条 名称

本会は日本光合成学会（The Japanese Society of 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。幹事の任期は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。
- 第4 本会則の改正を平成21年6月1日から施行する。

日本光合成学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

秋本誠志	神戸大学大学院理学研究科	園池公毅	早稲田大学教育学部
池内昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	高市真一	日本医科大学生物学教室
池上 勇	帝京大学	高橋裕一郎	岡山大学大学院自然科学研究科
石北 央*	大阪大学大学院理学研究科	田中 歩	北海道大学低温科学研究所
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	田中 寛	東京工業大学資源化学研究所
伊藤 繁	名古屋大学	田中亮一*	北海道大学低温科学研究所
井上和仁	神奈川大学理学部	民秋 均	立命館大学総合理工学院
伊福健太郎*	京都大学大学院生命科学研究科	都筑幹夫	東京薬科大学生命科学部
白田秀明	帝京大学医学部	出羽毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
榎並 勲	東京理科大学	寺島一郎	東京大学大学院理学系研究科
遠藤 剛	京都大学大学院生命科学研究科	徳富(宮尾)光恵	農業生物資源研究所
大岡宏造	大阪大学大学院理学研究科		光合成研究チーム
大杉 立	東京大学大学院農学生命科学研究科	輿 達也	東京理科大学理学部
太田啓之	東京工業大学	仲本 準	埼玉大学大学院理工学研究科
	バイオ研究基盤支援総合センター	永島賢治	神奈川大学
大友征宇	茨城大学理学部	南後 守	大阪市立大学大学院理学研究科
大政謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科	西田生郎	埼玉大学大学院理工学研究科
小川健一	岡山県農林水産総合センター	西山佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
	生物科学研究所	野口 航*	東京大学大学院理学系研究科
小野高明	茨城大学工学部生体分子機能工学科	野口 巧	名古屋大学理学研究科
小保方潤一*	京都府立大学・生命環境科学研究科	長谷俊治	大阪大学蛋白質研究所
小俣達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	林 秀則	愛媛大学
垣谷俊昭	名古屋大学		無細胞生命科学工学研究センター
菓子野康浩	兵庫県立大学理工学部	原登志彦	北海道大学低温科学研究所
金井龍二	埼玉大学	彦坂幸毅	東北大学大学院生命科学研究科
神谷信夫	大阪市立大学大学院理学研究科	久堀 徹	東京工業大学資源化学研究所
熊崎茂一	京都大学大学院理学研究科	日原由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
栗栖源嗣	大阪大学蛋白質研究所	檜山哲夫	埼玉大学
小池裕幸	中央大学理工学部	福澤秀哉	京都大学大学院生命科学研究科
小林正美	筑波大学大学院数理工学研究所	藤田祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
坂本 亘	岡山大学資源生物科学研究所	前 忠彦	東北大学
佐賀佳央*	近畿大学理工学理学科	牧野 周	東北大学大学院農学研究科
櫻井英博	早稲田大学	増田真二	東京工業大学
佐藤和彦	兵庫県立大学		バイオ研究基盤支援総合センター
佐藤公行	岡山大学	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
佐藤直樹	東京大学大学院総合文化研究科	松浦克美	首都大学東京都市教養学部
佐藤文彦	京都大学大学院生命科学研究科	松田祐介	関西学院大学理工学部
鹿内利治	京都大学大学院理学研究科	真野純一	山口大学農学部
重岡 成	近畿大学農学部	皆川 純	基礎生物学研究所
篠崎一雄	理化学研究所植物科学研究センター	宮下英明	京都大学大学院地球環境学堂
島崎研一郎	九州大学大学院理学研究院	宮地重遠	海洋バイオテクノロジー研究所
嶋田敬三	首都大学東京	村田紀夫	基礎生物学研究所
白岩義博	筑波大学生物科学系	山谷知行	東北大学大学院農学研究科
沈 建仁	岡山大学大学院自然科学研究科	横田明穂	奈良先端科学技術大学院大学
杉浦昌弘	名古屋市立大学		バイオサイエンス研究科
	大学院システム自然科学研究科	和田 元	東京大学大学院総合文化研究科
杉浦美羽	愛媛大学 プロテオサイエンスセンター		
杉田 護	名古屋大学遺伝子実験施設		
杉山達夫	名古屋大学		
鈴木祥弘	神奈川大学理学部		

*平成25年より新幹事

編集後記

今号は編集委員の西山佳孝さんにとりまとめをお願いして「光阻害」の特集を組みました。主に光化学系IIの光阻害を研究されている方々に最新の知見をまとめていただき、とても読み応えのある特集になったと思っております。お忙しい中、原稿を書いていただいた著者の方々に厚くお礼申し上げます。私は光阻害の研究に直接携わる機会はありませんでしたが、タンパク質合成や代謝回転のコストを評価する上で、植物タンパク質のなかで代謝回転速度が非常に速いD1タンパク質とその損傷・修復機構には以前から興味がありました。西山さんの「序論」にも光阻害研究の歴史について触れられていますが、光化学系IIの光阻害については古くから数多くの知見が蓄積しています。しかしその損傷・修復機構にはまだ多くの点で不明であり、光合成装置の精密な機構の奥深さを感じます。今号に対するご意見や本誌に対するご要望がございましたら、knoguchi@biol.s.u-tokyo.ac.jpまで是非お知らせください。

＜東京大学 野口 航＞

記事募集

日本光合成学会では、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。書評も歓迎します。

記事の掲載を希望される方は、会誌編集長、野口 (knoguchi@biol.s.u-tokyo.ac.jp) まで御連絡ください。

「光合成研究」編集委員会

編集長 野口 航 (東京大学)
編集委員 西山 佳孝 (埼玉大学)
編集委員 園池 公毅 (早稲田大学)
編集委員 田中 亮一 (北海道大学)

日本光合成学会 2013-2014年役員

会長	田中 歩 (北海道大学)	
事務局長	鹿内 利治 (京都大学)	
常任幹事	池内 昌彦 (東京大学)	前会長
常任幹事	野口 航 (東京大学)	編集長
常任幹事	西山 佳孝 (埼玉大学)	編集委員
常任幹事	園池 公毅 (早稲田大学)	編集委員
常任幹事	久堀 徹 (東京工業大学)	渉外
常任幹事	太田 啓之 (東京工業大学)	渉外
常任幹事	皆川 純 (基礎生物学研究所)	光生物協会
常任幹事	日原 由香子 (埼玉大学)	年会 2013年
常任幹事	熊崎 茂一 (京都大学)	年会 2014年
会計監査	大岡 宏造 (大阪大学)	
編集委員	田中 亮一 (北海道大学)	
ホームページ	高林 厚史 (北海道大学)	

光合成研究 第23巻 第2号 (通巻67号) 2013年8月31日発行

日本光合成学会

〒060-0819 札幌市北区北19条西8丁目

北海道大学低温科学研究所

生物適応研究室内

TEL & FAX : 011-706-5493

e-mail : jspr@photosyn.jp

ホームページ : <http://photosyn.jp/>

郵便振替口座 加入者名 : 日本光合成学会 口座番号 : 00140-3-730290

銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290

名前 : ニホンコウゴウセイガツカイ
