

光合成研究

第24巻 第3号 (通巻71号) 2014年12月

NEWS LETTER Vol. 24 NO. 3 December 2014

THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

研究紹介 葉緑体ATP合成酵素の機能的多様性	上妻馨梨 (広島大)	76
解説特集 「浅田浩二先生を偲んで」 活性酸素と alternative electron flow 研究の現状		81
序文	遠藤 剛 (京都大)	82
解説 活性酸素は生体分子にどう作用するか? - 酸化シグナルを伝える活性カルボニル種の生成と作用	真野 純一 (総合科学実験センター)	84
解説 Water-water cycle と光化学系I循環的電子伝達 ~浅田浩二先生を偲んで	遠藤 剛 (京都大)	90
解説 これまで欠けていた、速度論的評価に基づく、オルタナティブ・エレクトロン・フロー活性の比較と光合成におけるO ₂ の役割	高木 大輔 三宅 親弘 (神戸大)	97
報告記事 若手の会活動報告 ~サイエンスアゴラ2014への出展~	浅井 智広 (立命館大)	111
報告記事 サイエンスアゴラ2014 “一緒に考えよう! 「光合成でつくる未来」” 出展報告	辻 敬典 (筑波大)	112
事務局からのお知らせ		115
日本光合成学会会員入会申込書		117
日本光合成学会会則		118
幹事会名簿		120
編集後記		121
記事募集		121
賛助法人会員広告		

研究紹介

葉緑体ATP合成酵素の機能的多様性[§]

広島大学・大学院理学研究科・附属植物遺伝子保管実験施設
上妻馨梨*

葉緑体ATP合成酵素複合体は、その複合体の中心に位置する γ サブユニットのジスルフィド結合によって活性制御されており、光環境下ではジスルフィド結合の還元切断によって活性化されている。シロイヌナズナの γ サブユニット遺伝子は2つの*ATPC1*と*ATPC2*にコードされているが、光合成の場である葉において*ATPC2*の発現はほとんど検出されないことから、その機能は全く不明であった。本研究において、*ATPC2*は地下部で発現しており、*ATPC1*とは異なる機能を持つことが明らかになった。この結果は、葉緑体ATP合成酵素が光合成によるATPの合成だけでなく、器官別に異なる機能を持つことを示唆している。

1. はじめに

ATP合成酵素は原核生物の細胞膜、真核生物のミトコンドリア内膜、光合成生物の葉緑体チラコイド膜に存在し、電子伝達に伴って形成される膜を介したプロトンの電気化学的勾配を用いてATPを合成する。ATP合成酵素は生物種や細胞内小器官の由来に関わらず、酵素を構成するサブユニットが回転することでATPの合成/加水分解を行うというユニークな共通の動作原理で働いている。ATP合成酵素の基本構造は、膜内在のF₀部分と膜表在で球状のF₁部分の2つの複合体で構成され、それぞれのサブユニット構造と機能は、生物種を通じてほぼ保存されている¹⁾。しかし、葉緑体型

のATP合成酵素 (CF₀CF₁) には、細菌やミトコンドリア由来の酵素と大きく異なり、酵素活性はチオレドキシンを介して光制御されている。葉緑体型ATP合成酵素の回転軸である γ サブユニットには、中央付近にジスルフィド結合を形成する2つのシステイン残基 (Cys) があり、その酸化還元によって酵素活性が制御されている²⁾。この2つのシステインを含む制御領域は葉緑体型の γ サブユニットのみに特徴的なもので、制御領域を持たない細菌の γ サブユニットにこの制御領域を遺伝子的に挿入すると、酵素活性が光制御される^{3,4)}。

シロイヌナズナの葉緑体ATP合成酵素- γ サブユニットは、2種類の遺伝子*ATPC1*と*ATPC2* (At4G04640, At1G15700) によってコードされており、アミノ酸配列は73%と高い相同性を持つことが20年前にすでに報告されていた⁵⁾。しかし、*ATPC2*の発現量が極わずかであることから⁶⁾、その欠損変異体の光合成活性は野生型と変わらず、*ATPC2*の機能や生理的役割などの研究はこれまでほとんど行われていなかった。

本研究では γ 2-ATP合成酵素 (*ATPC2*由来) の機能を明らかにするために、*ATPC1*欠損変異体に*ATPC2*を過剰発現させた γ 2-ATP合成酵素優性植物体 (*gamera*) を作製し、解析することで、その新規な機能を明らかにしたので、その概要について紹介する。

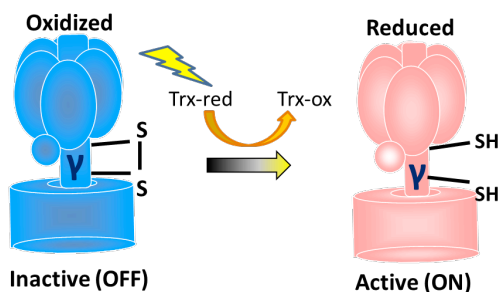


図1 光制御される葉緑体ATP合成酵素の模式図

光環境下ではチオレドキシ (Trx) を経由して γ サブユニットが還元型になり活性化する。暗黒下ではシステインがジスルフィド結合を形成し、不活性型になる。

§ 第5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: kohzuma@hiroshima-u.ac.jp

2. γ 2-ATP合成酵素の特性

ATPC2の機能解析を行うためにシロイヌナズナにおいて γ 2-ATP合成酵素優性な形質転換体を作製した。ATPC1にT-DNAが挿入されている*dpa1*変異体をバックグラウンドとし、*CaMV35S*プロモーターでATPC2を過剰発現させることで、全ATP合成酵素の約95%を γ 2型が占める γ 2-ATP合成酵素優性植物体 (*gamera*) を作製した。なお、野生型では葉における全ATP合成酵素の90%以上が γ 1-ATP合成酵素である。

γ 2-ATP合成酵素の特性を明らかにするために、チラコイド膜におけるカロテノイド吸収のElectrochromic Shift (ECS)を用いて*in vivo*で酵素の構造変化を見積もった。このECS解析法は、葉緑体のチラコイド膜内外に形成されるプロトンの電気化学的勾配 (*pmf*) を間接的に測定する手法である。電子伝達系によって形成された*pmf*は、主にATP合成酵素がATP合成を行う過程で解消していくため、*pmf*の挙動からATP合成酵素活性を測定することが可能である^{7,8)}。葉緑体ATP合成酵素（この場合 γ 1-ATP合成酵素を指す）の活性は光制御されており、光照射によって還元型（活性型）になった酵素はより多くのプロトンをチラコイドルーメンからストロマへ輸送する。しかし、消光後は徐々に酸化型（不活性型）へ構造を変化するためプロトンの流出は低下する。そのため、数分の光照射によって誘導された還元型ATP合成酵素、あるいは暗黒下で完全に酸化されたATP合成酵素を持つ植物葉にパルス光を照射するとチラコイド膜に*pmf*が形成され、その後、ATP合成酵素によるATP合成に伴って*pmf*は解消される。還元型のATP合成酵素を持つチラコイド膜の*pmf*解消速度は速く、酸化型では解消速度が遅くなる。野生型と*gamera*の成熟葉を用いて、光照射直後と光照射後60分間暗所に置いた場合でチラコイド膜の*pmf*解消の挙動を調査した（図2A）。光照射直後の野生型では速い*pmf*の解消が見られ、暗処理後はその解消速度は半分以下に遅くなった。一方、*gamera*では60分間以上暗黒下に置いても光照射直後と同様、速い*pmf*の解消速度を保持していることが観察された。この結果は、 γ 2-ATP合成酵素が γ 1-ATP合成酵素と異なり、光の有無によらず常に活性化状態を保持していることを示唆していた⁹⁾。

ATPC2はATPC1と同様に γ サブユニットの制御領域に2つのCysを持つ。*gamera*のチラコイド膜が暗所で高い*pmf*の解消能を持つ原因としては、 γ 2サブユニットの2つのCysがジスルフィド結合を形成しないこと、あるいは

2つのCysがジスルフィド結合しているものの何らかの理由でプロトンが漏洩しやすくなっていることの2通りが予想された。そこで、暗所における γ 2サブユニットのジスルフィド結合の有無を検証した（図2B）。検証には還元型のシステインを特異的に修飾する4-acetamido-4'-maleimidylstilbene-2,2'-disulfonate (AMS)を用いた。AMSと結合した還元型 γ サブユニットは酸化型 γ サブユニットに比べて電気泳動時の移動度が小さくなる。 γ サブユニットのバンドは特異的抗体によって検出した。野生型において、暗黒下では γ サブユニットは酸化型であり、光照射下 γ サブユニットは還元型であった。一方、*gamera*の γ 2サブユニットでは暗黒条件下においても還元型と同じ移動度であることが観察された。この事は、 γ 2サブユニットの制御領域に存在する2つのCysが、暗黒処理下においてもジスルフィド結合を形成できないことを示唆する⁹⁾。これらの結果から、 γ 2-ATP合成酵素は光に非感受性であり、その構造は還元型を保持することが明らかになった。

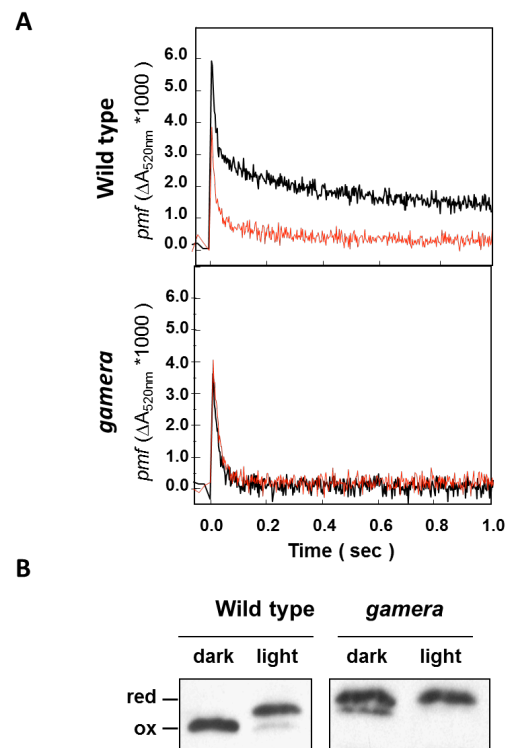


図2 γ 2-ATP合成酵素の酸化還元状態

(A) ECS解析法を用いた*pmf*解消速度の測定。赤ラインは光照射直後1分間、黒ラインは光照射後60分間暗処理し、非飽和パルス照射した後の*pmf*解消の挙動。*gamera*は暗処理後も速い*pmf*解消速度を保持した。(B) AMSラベリング法による γ サブユニットの酸化還元型の検出。*gamera*の γ 2サブユニットは暗黒処理をしても還元型を保持した。(Kohzuma et al., 2012を改変)

3. γ 2-ATP合成酵素の局在と側根形成への影響

γ 2-ATP合成酵素が暗黒下でも還元型を保持することから、光が照射されない環境下において重要な役割を持つ酵素であることが推測された。実際、*ATPC*プロモーターの局在解析を行った結果、*ATPC1*は植物全体に発現しているのに対し、*ATPC2*は葉などの地上部組織では発現せず、地下部組織、特に根と胚軸の境目に強く発現していることが明らかになった（図3A）。次に、根の形態を観察したところ、*gamera*では側根が野生型と比較して約2倍長いこと、また*ATPC2*の欠損変異体（*atpc2*）では野生型の1/3程度の長さであることが観察された⁶⁾（図3B）。これらの結果から、 γ 2-ATP合成酵素は根に近い光の微弱な環境下で発現しており、還元型（活性型）を保持することによって側根形成など光合成におけるATP合成とは異なる役割を持つことが示唆された。

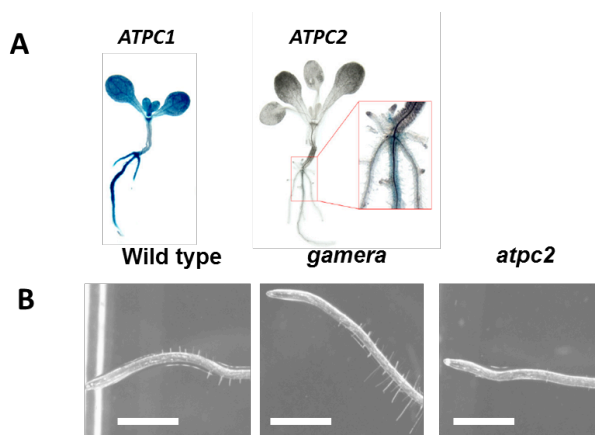


図3 *ATPC2*の局在と*ATPC2*発現量が側根形成に及ぼす影響

(A) プロモーター-GUSを用いた *ATPC1*, *2*の局在解析。*C1*は植物全体に、*C2*は地下部、特に根と胚軸の境目に強く局在することが明らかになった。(B) 野生型、*gamera*、*atpc2*の根の形態。*ATPC2*の発現量が多いほど側根伸張が観察された。スケールバーは1 mm。

4. 根における γ 2-ATP合成酵素の役割

地上部と地下部との境目の未熟なプラスチドにおいて γ 2-ATP合成酵素はどのような働きを持つのだろうか？その疑問に少しでも近づくため、*gamera*を最大4日間暗黒条件に曝し、その光合成明反応の挙動を調べた。通常、暗所に置かれた植物は光合成関連タンパク質の分解が積極的に誘導され、それと共に電子伝達活性も低下していく⁹⁾。4日間の暗黒処理で γ 1-ATP合成酵素優性である野生型のPSIIの最大量子収率（ F_v/F_m ）は50%低下したが、 γ 2-ATP合成酵素優性である

*gamera*ではほとんど低下しなかった（図4A）。この結果から*gamera*の電子伝達系が4日間の暗黒処理後も安定であることが予測されたため、PSIIタンパク質の蓄積量を観察した（図4B）。PSIIのルーメン側に局在する酸素発生複合体（OEC）を構成するOEC17、23は野生型においてその蓄積量が大きく低下したのに対し、*gamera*では非常に安定であった。一方、膜貫通タンパク質であり反応中心を構成するD1タンパク質は4日間の暗黒処理において、両者ともその蓄積量に変化は見られなかった。これらの現象から、ATP合成酵素が暗黒下で活性型であることがPSIIのタンパク質とその機能の安定性を高めていることが推測された。暗黒下において、野生型の γ サブユニット（主に γ 1）は酸化型になり酵素が不活性になるが、 γ 2-ATP合成酵素のように暗黒下において活性型を維持することは、 γ 2-ATP合成酵素が実際はATP加水分解酵素（ H^+ -ATPase）として機能している可能性を示唆する。ATP分解の過程でストロマのプロトンはルーメンへ流入するため、チラコイド膜を介したプロトン勾配つまり *pmf*の形成が推測される。そこで、 γ 2-ATP合成酵素優性である*gamera*が暗黒下で*pmf*を形成する能力を保持するかどうか検証した。チラコイド膜タンパク質が膜に移項、挿入される経路には幾つかメカニズムが存在するが、OEC17、23といったタンパク質はチラコイド膜を介して形成されるプロトン勾配、すなわち*pmf*を利用して挿入されるTwin arginine transporter (Tat) 依存型挿入経路を経由することが知られている¹⁰⁾。この機構を利用し、野生型および*gamera*の単離チラコイド膜を用いて、OEC23がチラコイド膜へ挿入される様子を *in vitro*で観察した（図4C）。その結果、暗黒下における野生型由来のチラコイド膜ではATP存在下、および還元剤であるDTT非存在下では、OEC23の挿入が起らなかったのに対し、*gamera*のチラコイド膜では挿入が起こった。Tat依存経路を要求するOEC23が膜へ挿入されたということは、 γ 2-ATP合成酵素をもつチラコイド膜に*pmf*が形成されていることを示唆しており、ATP分解によるプロトンのルーメンへの流入を意味している（図4D）。これらの結果から、チラコイド膜を介して形成された*pmf*がTat経路を含む何らかの機構によってタンパク質を安定に導き光合成活性を維持することが明らかになった（未発表）。

しかしながら、これらの現象は光合成器官である葉で観察されたものである。実際、未熟なプラスチドに

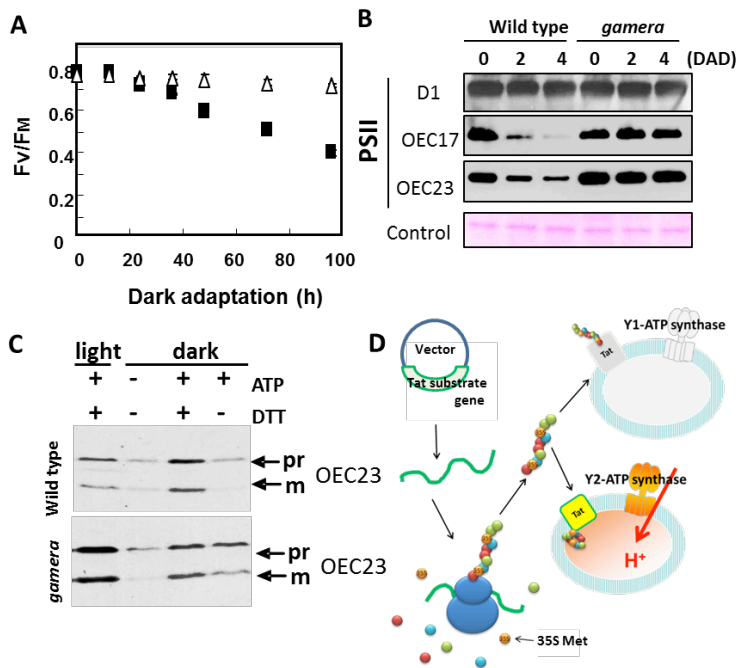


図4 暗黒処理した野生型とgamera

(A) 最大4日間暗黒処理した際のF_v/F_m。黒四角が野生型。白三角がgamera。(B) PSIIタンパク質の蓄積量の変化。野生型のOEC17、23の蓄積量低下が観察された。(C) OEC23を基質に用いたチラコイド膜への挿入実験。gameraにおいてOEC23の膜への挿入が観察された。(D) *in vitro*挿入実験における野生型とgameraのATP合成酵素特性とそれがTatタンパク質挿入に及ぼす影響をまとめた模式図。

光化学系は存在しないとされている。ただ、エチオプラストにおいてATP合成酵素 (CF₀CF₁の両方) の存在が確認されていることから¹¹⁾、ATPC2が存在するような組織のプラスチドにおいてATP合成酵素が複合体として存在し、何らかの働きを持っていてもおかしくない。未熟なプラスチドのチラコイド膜においてもタンパク質の合成と挿入は行われているはずである。そのエネルギーの担い手としてγ2-ATP合成酵素がpmfの形成に寄与しており、そのエネルギーが地下部における形態形成などに関与しているのかもしれない。

5. 今後の展望

夜間、ATP合成酵素が不活性化する理由はATP分解を抑制するためであると考えられてきた。今回、γ2-ATP合成酵素が暗所で高い活性を持つことと、それに伴うpmf形成の実態が明らかになった。その過程において、γ2-ATP合成酵素を優性に持つ植物体とγ1-ATP合成酵素を持つ野生型とを比較しても、通常生育下および長期暗黒条件下、いずれにおいても特に不利な点が見当たらない。つまり、ATP合成酵素が光制御されなければならない理由が明確に説明できないのである。ATP合成酵素はチラコイド膜における唯一のプロトンチャネルであり、プロトン濃度を調節している重要なタンパク質複合体である。今後は、ATP合成酵素が光制御されている理由をプロトン濃度調節という視点から観察し、その機能的多様性の全貌を明らかにしていきたい。

謝辞

本稿で紹介した研究はミシガン州立大学のDavid M Kramer博士の研究室在籍時に、ミュンヘン大学のJörg Meurer博士との共同研究のもと行われた。この場を借りて、二人の博士とこの研究に協力して下さった多くの方へ感謝申し上げたい。また、このような執筆の場を与えて下さった日本光合成学会および編集委員の皆様、執筆にあたりアドバイス下さった広島大学の島田裕士博士にお礼申し上げます。

Received November 2, 2014, Accepted November 15, 2014, Published December 31, 2014

参考文献

1. Capaldi, R.A. and Aggeler, R. (2002) Mechanism of the F₁F₀-type ATP synthase, a biological rotary motor. *Trends Biochem. Sci.* 27, 154-160.
2. Groth, G. and Strotmann, H. (1999) New results about structure, function and regulation of the chloroplast ATP synthase (CF₀CF₁). *Physiol. Plant.* 106, 142-148.
3. Bald, D., Noji, H., Stumpp, M.T., Yoshida, M. and Hisabori, T. (2000) ATPase activity of a highly stable α3β3γ subcomplex of thermophilic F₁ can be regulated by the introduced regulatory region of gamma subunit of chloroplast F₁. *J. Biol. Chem.* 275, 12757-12762.
4. Kim, Y., Konno, H., Sugano, Y. and Hisabori, T. (2011) Redox regulation of rotation of the cyanobacterial F₁-ATPase containing thiol regulation switch. *J. Biol. Chem.* 286, 9071-9078.

5. Inohara, N., Iwamoto, A., Moriyama, Y., Shimomura, S., Maeda, M. and Futai, M. (1991) Two genes, *atpC1* and *atpC2*, for the gamma subunit of *Arabidopsis thaliana* chloroplast ATP synthase. *J. Biol. Chem.* 266, 7333-7338.
6. Kohzuma, K., Dal Bosco, C., Kanazawa, A., Dhingra, A., Nitschke, W., Meurer, J. and Kramer, D. M. (2012) Thioredoxin-insensitive plastid ATP synthase that performs moonlighting functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 3293-3298.
7. Kanazawa, A. and Kramer, D.M. (2002) In vivo modulation of nonphotochemical exciton quenching (NPQ) by regulation of the chloroplast ATP synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 12789-12794.
8. Kohzuma, K., Cruz, J.A., Akashi, K., Hoshiyasu, S., Munekage, Y.N., Yokota, A. and Kramer, D. M. (2009) The long-term responses of the photosynthetic proton circuit to drought. *Plant Cell Environ.* 32, 209-219.
9. Keech, O., Pesquet, E., Ahad, A., Askne, A., Nordvall, D., Vodnala, S.M., Tuominen, H., Hurry, V., Dizengremel, P. and Gardestrom, P. (2007) The different fates of mitochondria and chloroplasts during dark-induced senescence in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell Environ.* 30, 1523-1534.
10. Braun, N.A. and Theg, S.M. (2008) The chloroplast Tat pathway transports substrates in the dark. *J. Biol. Chem.* 283, 8822-8828.
11. Ploscher, M., Reisinger, V. and Eichacker, L.A. (2011) Proteomic comparison of etioplast and chloroplast protein complexes. *J. Proteomics* 74, 1256-1265.

Characterization of the Novel Chloroplast ATP synthase

Kaori Kohzuma*

Lab of Plant Chromosome and Gene Stock, Hiroshima University

解説特集

「浅田浩二先生を偲んで」

活性酸素とalternative electron flow研究の現状



Editor: 遠藤 剛 (京都大学 生命科学研究科)

序文

遠藤 剛 (京都大学 生命科学研究科)

P. 82

活性酸素は生体分子にどう作用するか？

— 酸化シグナルを伝える活性カルボニル種の生成と作用

真野 純一 (山口大学 大学研究推進機構 総合科学実験センター)

P. 84 ~ 89

Water-water cycleと光化学系I循環的電子伝達 ~ 浅田浩二先生を偲んで

遠藤 剛 (京都大学 生命科学研究科)

P. 90 ~ 96

これまで欠けていた、速度論的評価に基づく、オルタナティブ・エレクトロン・フロー活性の比較と
光合成におけるO₂の役割 ~ 生理的な意味が見える、本丸へ挑む~

高木 大輔 三宅 親弘 (神戸大学)

P. 97 ~ 110

解説

序文[‡]

京都大学 生命科学研究所

遠藤 剛^{*}

今回の特集では、昨年（2013年）暮れに亡くなられた浅田浩二先生（京都大学名誉教授）の御業績を偲び、私たち門下生たちが先生の偉大な足跡をたどりながら、先生の教えをもとに発展させてきた研究を紹介しようと思います。

浅田先生のライフワークはご存知のように葉緑体での活性酸素の生成と消去のメカニズムの解明である。先生のご研究により、以下のような葉緑体での活性酸素生成と消去の分子機構が明らかにされた。葉緑体での活性酸素の生成機構はいくつか報告されているが、光化学系Iで不可避的に起こる酸素分子の1電子還元（Mehler反応）に起因するものは、最も重要なもののひとつと考えられている。この反応でできる活性酸素はスーパーオキシドラジカルであり、これから派生する過酸化水素やヒドロキシラジカルは、細胞の多くの成分に傷害をあたえる。浅田先生は、スーパーオキシドラジカルが過酸化水素を経て安定かつ無毒な水にまで還元（消去）される過程でスーパーオキシドジスムターゼ、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ、モノデヒドロアスコルビン酸還元酵素、デヒドロアスコルビン酸還元酵素等がネットワークをつくって機能することを明らかにされた。その際、活性酸素の消去に使われる還元力は実は光化学系Iで生成する余剰な還元力であるという精妙な分子機構の解明も先生のご研究の重要な成果のひとつと評価されている。先生は、光化学系IIで酸化分解される水が、光化学系Iで生成した活性酸素の還元消去の安全な最終産物として生じるという自ら見出した電子伝達経路をWater-water cycle (WWC) と命名し、国際的に認められる用語となっている（図1）。

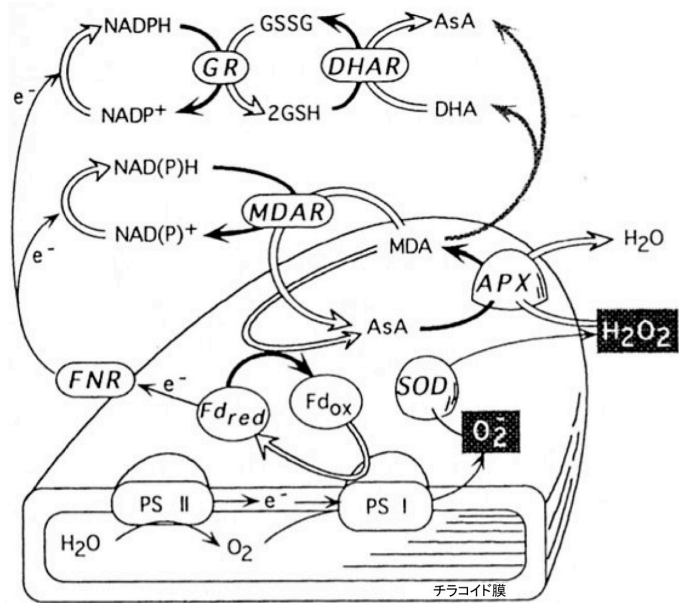


図1 Water-water cycleの概念モデル（浅田先生ご自身による作図を一部修正）

APX: アスコルビン酸ペルオキシダーゼ； DHAR:デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ； Fd:フェレドキシン； FNR:フェレドキシンNADP+レダクターゼ； GR:グルタチオンレダクターゼ； MDAR:モノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼ
SOD: スーパーオキシドジスムターゼ

[‡] 解説特集「浅田浩二先生を偲んで」

^{*} 連絡先 E-mail: tuendo@kais.kyoto-u.ac.jp

効率は最高で3~4%にすぎないことに注目し、どのような環境条件の組み合わせが、どのような分子機構で光合成効率を低下させているのか?という疑問の解明を志した。またこの研究の過程で、植物以外の生物が太陽光によって障害を受けるにもかかわらず常に太陽光にさらされている光合成生物がどうして「日焼け」しないのかという疑問を持ち、これがライフワークとなった葉緑体での活性酸素の生成と消去のメカニズムの解明の研究に発展した。SODの精製と酵素学的解析から始められた活性酸素研究の大きなブレークスルーは、活性酸素の還元にアスコルビン酸が利用されることと、この反応で酸化状態となった酸化型アスコルビン酸が、再生(還元)されるときに、光化学系I由来の還元力が利用されることの発見である。この発見を報告した1981年の論文は、*Plant and Cell Physiology*誌に発表された論文の中でも最も引用回数の多い論文のひとつである。この論文に発表されたWWCの初期のモデルは、その後の研究により、図1のような複雑な代謝ネットワークとして完成したわけだが、興味のあるかたは、Nakano and Asada (1981)の原著掲載モデルと最終モデルを比較していただきたい。

WWCの解析により植物のストレス応答における活性酸素の役割は明確になったが、今日では活性酸素の役割は、傷害因子としての理解から酸化シグナル因子としての理解へと重要度が増している。

先生の業績はWWCの解明にとまらず、光合成と光阻害、地球の酸素濃度の変遷と生物進化、光合成と酸素、光合成の環境応答について顕著な業績を挙げられているが、本特集では、浅田先生のご指導の下で始めた様々な研究を基盤として門下生たちが独自に発展させていった活性酸素研究、ストレス応答研究、光合成循環電子伝達研究の現状と展望を概観する。山口大の真野さんには、葉緑体で生成する活性酸素から派生する過酸化脂質由来「活性カルボニル種」の生理作用についての研究を始められた経緯とこれまでの研究成果をご紹介いただき、これらが、細胞に傷害を与えるというマイナスの作用のみならず、酸化シグナルとして機能している可能性を解説していただく。遠藤は、浅田先生の指導の下で始めた、Alternative electron flow (AEF, 付加的電子伝達)の一経路である光化学系I周辺の循環的電子伝達の生理的機能について、WWCと比較しながら考察する。最後に神戸大の三宅さんには、様々なAEF経路を紹介いただき、現在大きな課題となっているそれぞれの経路の定量的解析についての現状をまとめていただいた。

解説

活性酸素は生体分子にどう作用するか？－酸化シグナルを伝える活性カルボニル種の生成と作用[‡]

山口大学 大学研究推進機構 総合科学実験センター
真野 純一*

活性酸素種 (ROS) は、植物の環境ストレス傷害、ホルモン応答、発生、老化などさまざまな局面で細胞の運命を決定づける因子である。傷害因子としてまたシグナル因子として、ROSはどの生体分子にどう作用するのだろうか？ROSは細胞内では膜脂質を酸化し過酸化脂質をつくる。過酸化脂質の酸化分解によって生成する多様なカルボニル化合物は、タンパク質に結合する性質をもっている。筆者は、環境ストレスを受けた植物の組織において反応性の高い「活性カルボニル種 (RCS)」が増大し、その特異的消去酵素を過剰発現させると植物の環境ストレス耐性が強まることを見いだした。さらに、*in vivo*でRCSに特異的に修飾される標的タンパク質を複数同定した。これらの結果は、ROSの下流で生じるRCSこそが酸化シグナルを担う作用分子であることを示している。

1. はじめに

酸素分子が還元されまたは励起されて生じる活性酸素種 (ROS) は、植物の環境ストレス傷害、ホルモン応答、発生、老化などさまざまな局面で細胞の運命を決定づける因子である。故浅田浩二先生は京都大学食糧科学研究所で1970年代から四半世紀にわたって「葉緑体での活性酸素の生成と消去」を追究し、葉緑体の活性酸素消去酵素系であるWater-water cycleを確立された。この代謝系は現在ほとんどの植物生理学の教科書に記載されている。日本の研究が植物生理学に本質的な貢献をおこなった好例だとおもう。筆者は浅田研究室に大学院生、助手として11年間在籍し、Water-water cycleが構築される過程を間近で見てきた。この過程の回顧は別の形でまとめた（光合成学会ウェブサイト「私の論文」）。本稿では、ROSの副産物である過酸化脂質由来「活性カルボニル種」の生理作用について筆者が近年行ってきた研究を紹介したい。

2. 研究の背景ときっかけ

ROSが細胞毒性をもつという理解が植物生理学者の間に広まったのは1990年代で、これに大きく貢献したのはゲント大学のProf. Marc van MontaguとProf. Dirk

Inzéのグループである。スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) を過剰発現した植物の環境ストレス耐性を示した彼らの一連の研究成果 (1992年に総説¹⁾) によって「環境ストレス傷害の原因は活性酸素」という理解が広まった。彼らはAsada and Takahashi (1987)の総説「Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis」²⁾に触発されてSODの実験を始めたと聞いている。この組換え植物実験の成果から、それまで着実に実証データが積み重ねられてきた葉緑体活性酸素消去系の重要性が広く認められるようになった。

「活性酸素=毒物」という図式は広まったが、細胞の酸化傷害プロセスの生化学はそれほど単純ではなく、現在もその究明が進められている。一方ROS研究の先端は90年代にはROSのシグナル作用に移っていた（謎だった血管拡張因子の正体がNO・フリーラジカルであるという1987年の発見³⁾がこのトレンドをつくった）。ROSのシグナル伝達（「酸化ストレス応答」）機構の研究は動物や微生物の研究者が先行し、植物研究者はそれに追従するかたちだった。Montagu研のポストクのDr. Sergei KushnirとDr. Elena Babychuk夫妻は、植物の酸化ストレス応答機構解明の目的で、次のような実験を行った。出芽酵母*Saccharomyces cerevisiae*の*yap1*-株（酸化ストレス応答転写因子Yap1

[‡] 解説特集「浅田先生を偲んで」

* 連絡先 E-mail: mano@yamaguchi-u.ac.jp

を欠損し酸化ストレスに弱い) にシロイヌナズナ cDNA を発現させ、この株の酸化ストレス耐性スクリーニングから、酵母の酸化ストレス応答シグナルを回復させるシロイヌナズナ遺伝子を同定しようとしたのである。この結果得られた新規遺伝子 P1, P2, P3, P4 のコードするタンパク質は、彼らの期待とは違い、そのアミノ酸配列からいずれも NAD(P)H 依存の酸化還元酵素と予測された⁴⁾。このうち P1 遺伝子 (*At5g16970*) は、シロイヌナズナの地上部で発現し、植物体への酸化ストレス処理により発現誘導されることから、葉で抗酸化機能を担う新規酵素をコードすると考えられた。Dr. Inzé から浅田先生にこの P1 タンパク質の性質解明の依頼があり、当時浅田研で助手を務めていた筆者がその任に当たることになった。

新規酵素 2-アルケナルレダクターゼ

P1 タンパク質の生理的基質を解明すれば植物の新しい抗酸化防御機構の発見になる。大いに期待して研究を始めたが、答は簡単には見つからなかった。アミノ酸配列からはキノンレダクターゼと予測でき、実際にいくつかの人工物キノンが基質となった。しかしプラストキノンやフィロキノンなど植物の主なキノンは基質にならない。Babiychuk らが遺伝子スクリーニングのさい酵母にストレスを与えるのに用いた酸化剤 diamide (図1) を還元する活性も見つかったが、この化合物も人工物である。手探り状態のなかで、2つ幸運があった。まず京大・化研(当時)の中村薫先生が diamide の構造からの類推でメチルビニルケトン(図1) が基質となることを見つけて下さった。筆者はこの新たに見つかった基質が脂質代謝物に似ていると感じ、山口大の松井健二さんに相談すると、類似構造をもつ (E)-2-ヘキセナールという過酸化脂質分解産物アルデヒドを提示してくれた。この化合物が P1 タンパク質の電子受容体として還元されたのである(図1)。これが生理的基質の発見であった。2001年の10月30日のことで、P1 タンパク質の実験を始めた1995年9月25日から6年もかかってしまった。

この (E)-2-ヘキセナールは過酸化脂質の酵素分解産物のひとつだが、毒性をもつ。P1 タンパク質はこの化合物以外にも、共役二重結合をもつアルデヒドまたはケトンを選

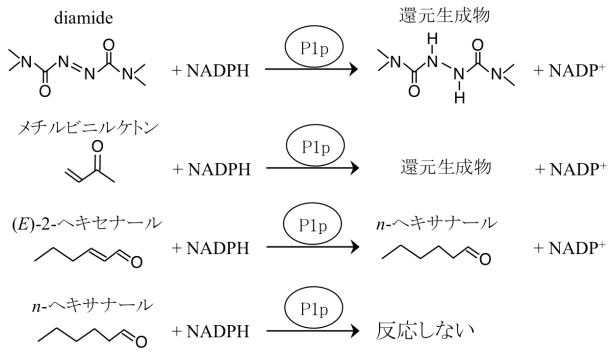


図1 P1タンパク質 (P1p) の触媒する酸化還元反応

元した。さらに基質特異性の解析から、この P1 タンパク質はアルデヒドを還元するのではなく、アルデヒドの C=O 結合に共役した -C=C- 二重結合を特異的に還元することが分かった(図1)。共役二重結合があるとカルボニル化合物の反応性は約10倍大きくなることが *in vitro* 実験から知られており、細胞毒性も強くなる(これを「活性カルボニル種; RCS」と定義した(図2))。P1 タンパク質の生理機能はこの RCS の還元解毒であると説明できる。新規抗酸化酵素の発見である。やや興奮気味に4ヶ月程度でドラフトを書き(筆者にしては最速)、2002年の *Plant Cell Physiol.* に掲載された⁵⁾。実はこの論文執筆中に全く同じ反応を触媒するラット由来酵素の報告を見つけ(2001年11月の *J. Biol. Chem.* 掲載⁶⁾。一年遅れだった)、世界初の発見にはならなかった。それでも独自の発見であることを何か残そうと新規酵素名を IUBMB の命名委員会に申請し、ラットの酵素と並んで新規酵素番号 EC 1.3.1.74 として登録された。推奨名は 2-alkenal reductase とな

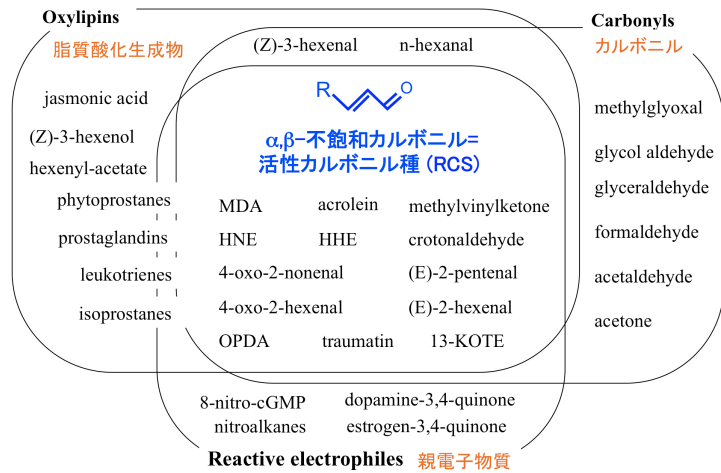


図2 活性カルボニル種 (RCS) とその関連化合物群
脂質酸化分解産物のうち共役二重結合をもつカルボニル化合物を RCS と定義した。RCS は求電子性の高い「親電子物質 (RES)」にも分類される。

り、現在はこの酵素名と略称「AER」（Eはalkenalの不飽和結合を表すeから）を用いている。

AERは植物の環境ストレス耐性を強める

AERは酵母の酸化ストレス耐性を高めるが、植物でストレス耐性に役立つのだろうか？Inzéのグループは1997年にすでにシロイヌナズナP1タンパクを過剰発現させたタバコを作成しており、それがパラコート耐性を示すという結果も得ていたが、当時は耐性機構が説明できなかつたため投稿論文は却下されていた。P1タンパクのAER活性でこの耐性メカニズムが説明できるようになった。強光耐性のデータも新たに加え、最初の遺伝子単離から10年がかりでようやく植物での新しい酸化ストレス防御能の論文がアクセプトされた⁷⁾。この論文は浅田先生も共著者であり、筆者としては、やっと（先生が京都大から福山大に移られて8年で）浅田研時代からの課題を解決し、助手の務めを果たした思いがした。これが結果として浅田先生との共著論文では最後のものになった。なお、この頃にはAERの他にもアルデヒドデヒドロゲナーゼやアルド=ケトレダクターゼといったカルボニル解毒酵素でも過剰発現植物の環境ストレス耐性が報告され、環境ストレス傷害とカルボニル化合物の毒性との関係に注目する研究者が少しずつ増えてきていた（表1）。

活性カルボニル種（RCS）のストレス傷害への関与

AERが植物のストレス防御に寄与することがわかったので、植物の環境ストレスにおけるRCSの重要性評価を研究の新たな目的とした。これには解明すべき課

題が3つあった。すなわち、(1) 環境ストレスによって植物体内でどのようなRCSが増えるかというRCS生成について、(2) AER過剰発現株ではRCS増大が少ないか？というRCSと傷害との因果関係について、そして(3) RCSはどのように植物細胞に障害をもたらすかという作用メカニズムについてである。

動物に関しては1980年代からRCSの生体内での生成と毒性が研究されており、1991年のEsterbauerらの総説以降、4-hydroxy-(E)-2-nonenal (HNE) が過酸化脂質分解産物の主要な毒物として認識されるようになっていた。AERは他のカルボニル解毒酵素よりHNEに対する特異性が高かつた⁵⁾ので、AER過剰発現株ではHNE含量が低くなっているはずである。ただRCSにはHNE以外に何種類もの化合物がある。このため、RCSを網羅的に定量するHPLC解析法を開発することにした。2004年の卒論生から始め、卒論生3人が引継ぎ、学振外国人特別研究員のDr. Sergey A. Khorobrykhの援軍も得て、4年がかりでカルボニルの抽出／誘導体化／高分離溶離／定量法を完成した。細胞に存在する20種以上のカルボニル種を網羅的に定量することができ、いまのところ他所では得られないユニークな結果を生み出す強力な武器になっている。

この解析法によって、植物には猛毒であるアクロレインやHNEなどのRCSが数μMレベルで含まれていることがわかった。これらのRCSはストレスをかけた植物で増大し、ストレス耐性のあるAER過剰発現株では増大しないはずである。しかし葉のカルボニルレベルはばらつきが大きく、またストレスによって減ってしまうなど、思ったような結果が得られない。結

表1 カルボニル消去酵素の過剰発現組換え植物のストレス耐性¹⁴⁾
ALDH, アルデヒドデヒドロゲナーゼ; AKR, アルド=ケトレダクターゼ

酵素	遺伝子源	組換え宿主	耐性を示したストレス	発表年
ALDH	シロイヌナズナ	シロイヌナズナ	NaCl, 重金属, MV, H ₂ O ₂	2001
		ダイズ	NaCl, 乾燥, H ₂ O ₂	2006
	タバコ	NaCl, 乾燥, MV		
	トウモロコシ	タバコ	NaCl, 乾燥, CuSO ₄	2008
AKR	アルファルファ	タバコ	乾燥	2000
		イネ	タバコ	UV-B, MV
			低温, カドミウム	2004
			高温, MV	2011
AER	シロイヌナズナ	タバコ	MV, 強光	2005
			アルミニウム	2010
		シロイヌナズナ	NaCl	2008

局、期待したストレスとRCSとの相関性は、葉ではなく根で最初に認められた。これは植物の酸化ストレス耐性研究を行っていた鳥取大農学部（当時）の田中淨先生がAER過剰発現タバコで行った根のアルミニウムストレス実験である。Alイオンによる根の伸長阻害は、伸長領域のミトコンドリアでのROS発生促進である。タバコ芽生えにAlストレスを与えると、根ではHNE、アクロレイン、マロンジアルデヒドなどの数種類のRCSと、ホルムアルデヒド、*n*-ヘキサナールなどのカルボニルが増大した。一方、AER過剰発現株はAlを加えてもカルボニル種の増大が小さく、そしてAl耐性を示したのである。重要なのは、Al耐性を示すAER過剰発現株も感受性の野生株も、根に同じだけAlを蓄積し、同じだけ活性酸素を生成していたことである。これは、AER過剰発現株のAl耐性がカルボニル消去能に帰因できるという理想的な結果であった。厳しいレフリーに再実験も求められながらも、田中研の博士課程の股侖那さんはほぼ一人ですべての実験をやり遂げ、学位請求期限の一週間前によく論文が受理された⁸⁾。同じ頃、葉で苦勞していたカルボニルの解析でも、強光照射により増大し、AER株では増大しないRCSとしてアクロレインと(*E*)-2-ペンテナールを同定できた⁹⁾。

RCSの標的は何か？

RCSが増大すれば組織傷害が生じる。では、細胞内では何がRCSの標的なのか？動物細胞ではHNEに阻害される標的としてミトコンドリアのリポ酸酵素などが90年代末には知られており、植物でもオーストラリアのA. H. Millarのグループが単離ミトコンドリアとHNEを用いて同様の結果を得ていた^{10,11)}。葉緑体へのRCSの影響を評価するため、ハウレンソウから葉緑体を単離し、様々なカルボニルを加え、光合成の部分活性測定をおこなった。2004年卒論生の平岡英司くんが始め、2005年卒論生の宮武史尊くんが熱意を持って取り組んだこの研究では、ストロマのチオール制御酵素、とくにホスホリブロンキナーゼがRCSによって敏感に失活するのに対しチラコイド電子伝達系はRCSに強いこと、そしてストロマのグルタチオンがRCSに対する第一の防御としてはたらくこと（一方、アスコルビン酸はRCS消去に役立たない）が明らかになった。田茂井政宏さん（近畿大）から貴重な基質をいただき、SBPaseも標的として失活することを確かめた。この結

果をまとめた宮武君の2006年の植物生理学会年会での発表にはかなりの反響があったが、投稿論文は4つのジャーナルにつぎつぎと却下された。この論文投稿時には、まだ上述した植物でのカルボニル定量結果がなく、RCSがストレス傷害因子であることを審査員に納得させることが難しかったのである。徹底的に書き直して2009年によくやうやく *Planta* に受理された¹²⁾。その後ある論文¹³⁾で、この *Planta* 論文を根拠として「植物に対するカルボニルの毒性は確立されている」と書いてあるのを見つけた。これは結構うれしかった。

上述の実験はしかし、単離葉緑体を用いた *in vitro* の「ぶっかけ実験」であった。RCSが光合成を阻害するポテンシャルをもつことは示したが、葉の中で生じたRCSによって本当にストロマ酵素が失活するのか？という疑問は解決しない。まず *in vivo* でRCSに修飾される標的タンパク質の同定が必要である。しかしRCS修飾タンパク質の同定には精度の高い二次元電気泳動/イムノブロットング検出とプロテオーム解析という2つのテクニカルな関門があり簡単には始められない。2011年の生化学会大会でポスターが隣同士になった新潟大（当時）の白矢武士さんが、iTRAQという定量的差分プロテオーム解析を発表されていた。RCS修飾タンパク質をRCS抗体カラムで集め、このiTRAQ解析を行えば、二次元電気泳動を必要としない。白矢さんと上司の三ツ井敏明先生のご好意により、たいへん高価な標識試薬を使うこの解析を共同研究で進めてもらえることになった。問題は必要とされるタンパク量である。RCS修飾されるタンパクは、ストレスによって増えるとはいえ、細胞内のタンパク質の数パーセントに過ぎない。修士課程院生の永田光曜くんはシロイヌナズナを大量に均一に育て、塩ストレス処理を行い、HNE修飾されたタンパクをHNE抗体アフィニティビーズで集め、なんとかiTRAQ分析できるタンパク量を集めた。甲斐あってHNEに修飾されやすい17種のタンパク質が同定され、この成果は最近 *Plant Cell Physiol.* に掲載された¹⁴⁾。塩ストレス条件でHNE修飾を受ける標的は葉緑体ストロマ酵素が多いはずと私たちは予測していたが、細胞質、ペロキシソームのタンパク質の方が多かった（図3）。さらに意外なことにアポプラストのタンパク質もHNE修飾を受けていたのである。これは「塩ストレス→葉緑体での光過剰→葉緑体とペロキシソームの活性酸素増大」というスキームでは説明できない。塩ストレスで活性化される細胞膜の

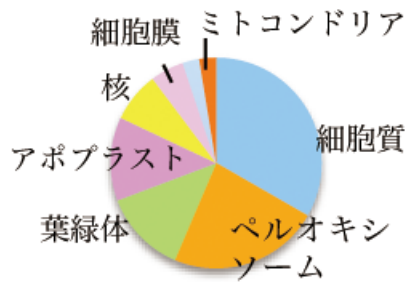


図3 シロイヌナズナの葉で塩ストレス時にRCS修飾が増大するタンパク質の細胞内分布

NADPHオキシダーゼがROS生成、脂質酸化に関わっているのではないかと考えている。標的タンパク質のRCS修飾と失活との関係は、今後詳細な解析が必要である。

活性カルボニル種が酸化シグナルを伝える

以上のように、植物の酸化ストレス時に生成するRCSを同定し、それらの光合成に対する効果を評価し、植物の環境ストレス耐性に対するRCS除去能の意義を示すことができた。最初のAER酵素活性の発見から10年かけて、これで「活性酸素の下流で生じるRCSは植物のストレス障害要因のひとつである」と確信がもてるようになった。幸い機会を得て、この見解を総説としてまとめた¹⁵⁾。

さて、「ROS → RCS → タンパクへの作用」という図式を敷衍すると、環境ストレス傷害だけでなくROSの関わる他の生理現象にもRCSが関与すると考えられないだろうか？つまり「RCSは傷害因子というより酸化シグナル物質である」という説である。バングラデシュからの留学生Md. Sanullah Biswasくんはこのテーマに取り組み、タバコ培養細胞で酸化刺激によって始まるプログラム細胞死にRCSがシグナルとして作用することを証明した。紙面の都合で詳細は書かないが、特異的なRCS除去剤で細胞内のRCSレベルを抑制すると、酸化刺激でも細胞死は起こらないのである（投稿準備中）。さらにいくつかの植物ホルモンのシグナル伝達にもRCSが関与する証拠を最近得つつある。ROSがシグナルとしてはたらく現象は、他にも感染応答や導管要素形成などがあり、これらにもRCSが関与する可能性は高いと考えている。植物でのRCSの重要性の理解は次第に広がっており（「reactive electrophile species; RES」とも称される）¹⁶⁾、ROSと同程度の生理的広がりをもつ化合物群であるとの展望がはっきりし

てきたと感じている。とはいえ、カルボニルの生理生化学は生成、作用、消去のいずれに関してもほとんど未解明である。光合成に対するカルボニルの作用については山内靖雄さん（神戸大・院・農）¹⁷⁾、三宅親弘さん（神戸大・院・農）¹⁸⁾がそれぞれ先見性のある独自研究を展開されている。「カルボニルの伝道師」を自認する（？）筆者としては、もっと多くの方にカルボニル研究に参入していただき、日本の研究で世界をリードするようになればと願っている。

3. おわりに

浅田先生はご自分の研究を「葉緑体での活性酸素の生成と消去」とまとめられ、ROSの作用機構をあえて追究しないというスタンスだった。筆者が推定するに、ROSと生体分子との反応に関する膨大なin vitroデータが当時すでに蓄積されていて、しかもそれは植物特有の生化学現象ではないと判断されたのではなかろうか。しかし筆者は（勉強不足だったからなのだが）活性酸素の有害性にいまひとつ得心がいかず、活性酸素除去系の重要性をイメージできなかったため、浅田研在籍中、除去系研究にはほとんど携わらなかった。浅田先生が活性酸素の作用の例に引くのは、H₂O₂を葉緑体に加えたときの光合成炭酸固定の失活¹⁹⁾であった。しかしそれはカルビン回路チオール制御酵素の可逆的酸化で、葉緑体にとって致命的な障害とはいえないのでは？と筆者はいつも疑問に思っていた。その後出会ったRCS研究によって、ROSの作用メカニズムに関し発展的な知見を提供できるようになってきた。この研究の機会を与えてくださったのは浅田先生であり、先生にはRCS研究の見通しがつくところまでなんとか見届けてもらうことができた。長い間成果を出さない弟子に対して苦言もおっしゃらず、ただ見守ってくださったことに深く感謝し、ご冥福を祈りたい。

Received July 15, 2014, Accepted July 23, 2014, Published December 31, 2014

参考文献

1. Bowler, C., van Montagu, M. and Inzé, D. (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43, 83-116.
2. Asada, K. and Takahashi, M. (1987) Production and

- scavenging of active oxygen in photosynthesis, in *Photoinhibition* (Kyle, D.J., Osmond, C.B. and Arntzen, C.J., Eds.) pp 227-287, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
3. Ignarro, L.J., Buga, G.M., Wood, K.S., Byrns, R.E. and Chaudhuri, G. (1987) Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 9265-9269.
 4. Babiychuk, E., Kushnir, S., Belles-Boix, E., Van Montagu, M. and Inzé, D. (1995) *Arabidopsis thaliana* NADPH oxidoreductase homologs confer tolerance of yeasts toward the thiol-oxidizing drug diamide. *J. Biol. Chem.* 270, 26224-26231.
 5. Mano, J., Torii, Y., Hayashi, S., Takimoto, K., Matsui, K., Nakamura, K., Inzé, D., Babiychuk, E., Kushnir, S. and Asada, K. (2002) The NADPH:quinone oxidoreductase P1- ζ -crystallin in *Arabidopsis* catalyzes the α,β -hydrogenation of 2-alkenals: detoxication of the lipid peroxide-derived reactive aldehydes. *Plant Cell Physiol.* 43, 1445-1455.
 6. Dick, R.A., Kwak, M.-K., Sutter, T.R. and Kensler, T.W. (2001) Antioxidative function and substrate specificity of NAD(P)H-dependent alkenal/one oxidoreductase. *J. Biol. Chem.* 276, 40803-40810.
 7. Mano, J., Belles-Boix, E., Babiychuk, E., Inzé, D., Torii, Y., Hiraoka, E., Takimoto, K., Slooten, L., Asada, K. and Kushnir S. (2005) Protection against photooxidative injury of tobacco leaves by 2-alkenal reductase. Detoxication of lipid peroxide-derived reactive carbonyls. *Plant Physiol.* 139, 1773-1783.
 8. Yin, L., Mano, J., Wang, S., Tsuji, W. and Tanaka, K. (2010) The involvement of lipid peroxide-derived aldehydes in aluminum toxicity of tobacco roots. *Plant Physiol.* 152, 1406-1417.
 9. Mano, J., Tokushige, K., Mizoguchi, H., Fujii, H. and Khorobrykh, S. (2010) Accumulation of lipid peroxide-derived, toxic α,β -unsaturated aldehydes (*E*)-2-pentenal, acrolein and (*E*)-2-hexenal in leaves under photoinhibitory illumination. *Plant Biotechnol.* 27, 193-197.
 10. Millar, A.H. and Leaver, C.J. (2000) The cytotoxic lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-nonenal, specifically inhibits decarboxylating dehydrogenases in the matrix of plant mitochondria. *FEBS Lett.* 481, 117-121.
 11. Taylor, N.L., Day, D.A. and Millar, A.H. (2002) Environmental stress causes oxidative damage to plant mitochondria leading to inhibition of glycine decarboxylase. *J. Biol. Chem.* 277, 42662-42668.
 12. Mano, J., Miyatake, F., Hiraoka, E. and Tamoi, M. (2009) Evaluation of the toxicity of stress-related aldehydes to photosynthesis in chloroplasts. *Planta* 230, 639-648.
 13. Stitti, N., Adewale, I.O., Petersen, J., Bartels, D. and Kirch, H.-H. (2011) Engineering the nucleotide coenzyme specificity and sulfhydryl redox sensitivity of two stress-responsive aldehyde dehydrogenase isoenzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Biochem. J.* 434, 459-471.
 14. Mano, J., Nagata, M., Okamura, S., Shiraya, T., and Mitsui, T. (2014) Identification of oxidative-modified proteins in salt-stressed *Arabidopsis*: a carbonyl-targeted proteomics approach. *Plant Cell Physiol.* 55, 1233-1244.
 15. Mano, J. (2012) Reactive carbonyl species: their production from lipid peroxides, action in environmental stress, and the detoxification mechanism. *Plant Physiol. Biochem.* 59, 90-97.
 16. Farmer, E. E. and Mueller, M. J. (2013) ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 429-450.
 17. Yamauchi, Y., Hasegawa, A., Mizutani, M. and Sugimoto, Y. (2012) Chloroplastic NADPH-dependent alkenal/one oxidoreductase contributes to the detoxification of reactive carbonyls produced under oxidative stress. *FEBS Lett.* 586, 1208-1213.
 18. Takagi, D., Inoue, H., Odawara, M., Shimakawa, G. and Miyake C. (2014) The Calvin cycle inevitably produces sugar-derived reactive carbonyl methylglyoxal during photosynthesis: a potential cause of plant diabetes. *Plant Cell Physiol.* 55, 333-340.
 19. Kaiser, W.M. (1979) Reversible inhibition of the Calvin cycle and activation of oxidative pentose phosphate cycle in isolated intact chloroplasts by hydrogen peroxide. *Planta* 145, 377-382.

How do ROS act on biomolecules?

– Critical involvement of reactive carbonyl species as oxidative signal agents

Jun'ichi Mano*

Science Research Center, Yamaguchi University

Water-water cycleと光化学系I循環的電子伝達

～ 浅田浩二先生を偲んで[‡]

京都大学 生命科学研究所
遠藤 剛*

故浅田浩二先生の指導の下で始められたクロロフィル蛍光とP700酸化還元を指標とした光化学系I周辺の循環的電子伝達 (CET) の測定法の開発研究は、その後の分子レベルでの解析へと発展し、半世紀に渡るCETの機能と構造の謎が解き明かされつつある。ここでは、CETの生理機能にしぼって、生葉でのCETの機能をWater-water cycle (WWC) と比較して再考察する。CETの既知の2つの経路についての定量的理解が現状では不十分でありCET全体に占める寄与が不明である点、速度論的な解析データが報告されていない点等、現時点での解決すべき問題についても考える。

1. はじめに

浅田先生の提唱された活性酸素消去系 (Water-water cycle、以下WWC) は、近年では alternative electron transport (以下AET) と総称される電子伝達バイパスの経路であるが、先生の研究は別のバイパス経路である光化学系I (PSI) 循環的電子伝達系 (cyclic electron transport around PSI、以下CET) の解析にもつながっていった。本総説では、植物葉緑体でのCETの機能についてWWCと比較しながら考えたい。

WWCをごく簡略に説明しておく。PSIIでの酸素発生に伴う電子伝達フローの一部は不可避免的にPSIで酸素分子を一電子還元し、活性酸素の一種スーパーオキシドラジカルを生成するのだが、WWCでは、スーパーオキシドジスムターゼとアスコルビン酸ペルオキシダーゼによりスーパーオキシドラジカルは水にまで還元される。この還元反応にはPSIで生成した還元力が利用される。浅田先生は、PSIIの酸化側の水の酸化的分解に始まった電子伝達がPSI還元側で水の生成で終わることから、この電子伝達系路をWater-water cycleと名付けた。この経路の詳細については浅田先生ご自身による総説^{1,2)}をご覧ください。一方、CETとは、PSIで生成したフェレドキシンやNADPHといった還元力をプラストキノンに渡す電子伝達系路で、後述のように葉緑体チラコイド膜のNAD(P)Hデヒドロ

ゲナーゼ (NDH) 複合体を経由する経路とPGR5に依存する経路が現在までに明らかにされている。

最初に、浅田先生の研究室で行われたNDH複合体が関わるCETの研究とその後の進展について概説する。シアノバクテリアのCETの研究では、NDH欠損株³⁾を用いることにより、呼吸電子伝達鎖の構成成分であるNDH複合体 (NDH-1) が明所下ではCETに機能していることを明らかにしている^{4,7)}。呼吸電子伝達鎖と光合成電子伝達鎖が、キノンプール等を共有して相互作用していることを実験的に証明することができた点が評価されて植物生理学会PCP論文賞をいただいた。シアノバクテリアのNDH複合体については、最近ではAroのグループの研究により、サブユニット組成の異なる複合体が炭酸濃縮や呼吸に特化していることが明らかにされてきている⁸⁾。

一方、陸上植物については、ご存知のようにNDHサブユニット遺伝子がシアノバクテリアを祖先とする葉緑体ゲノムに残存している。発見当時、その機能が謎であった葉緑体NDHの機能も、シアノバクテリアのCETを考えれば、容易に推定可能であるが、陸上植物の葉緑体でのNDHに依存したCETについては、Shikanaiらのグループとの共同研究によりその存在が明らかになった^{9,10)}。その後、Shikanaiグループをはじめとする内外の研究グループにより、機能と構造につ

[‡] 解説特集「浅田浩二先生を偲んで」

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

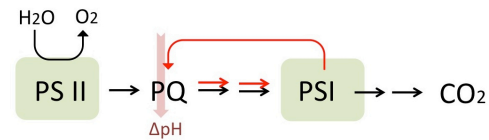
いての解析が大きく進展した。ただシロイヌナズナやタバコの葉緑体には、PGR5に依存したバイパス¹¹⁾があるため、NDH欠損株でも表現型がはっきりしなかった¹²⁾。一方、ATP要求性の高いC4植物では、NDH経路による循環的電子伝達の寄与が大きいようである¹³⁾ (後述)。植物葉緑体のNDHの構造に関しては、葉緑体ゲノムに見発見された11個の遺伝子がコードするサブユニット以外に、多数のサブユニット遺伝子とサブユニットではないがNDH活性に必須なポリペプチドの遺伝子が核にコードされていることが近年になって見出されている。Ifukuらの総説¹⁴⁾では、研究グループ毎に独自に命名していたサブユニット名の統一化を図っている。

浅田先生のCET研究については、光合成学会HPの「私の論文」コーナーに、もう少し詳しい経緯を述べたので興味のあるかたは目を通していただきたい。

2. 足りないATPを補うのはWWCなのかCETなのか？

C3植物が炭酸固定回路を連続的に駆動するためには、二酸化炭素1分子の固定にあたり、3分子のATPと2分子のNADPHが必要である。一方、教科書的な光合成の「直線的」電子伝達鎖では、炭酸固定に必要なATPを生成するために十分なプロトン勾配が形成できないとされている。Qサイクルがフルに機能する場合でも、 $H^+/ATP = 4$ の仮定(例えばPetersenら¹⁵⁾参照)で、ATP:NADPHの生成比は3:2となり、炭酸固定回路の駆動にはギリギリ足りるが、光呼吸(ATP:NADPH要求比は5:3)を駆動できない。足りないATPを補うためには、直線的電子伝達以外にプロトン勾配を作る仕組みが必要は必ずであるが、その有力な候補としてWWCとCETが挙げられてきた。光リン酸化反応の重要なサブシステムとしてCETは、cyclic photophosphorylation、一方、WWCは、Pseudocyclic photophosphorylationと並び称されてきた(図1)。また、電子伝達と共役して形成されるチラコイド膜内外のプロトン勾配は、PSIIでの過剰エネルギーの熱放散系を誘導するトリガーとなるため、生理的条件下でどちらかのAETが有効に機能するならば、足りないATPを補うのみならず、PSIIの過剰熱放散系を誘導して、PSIIを光阻害から守る機能も併せ持つことになる。長らく、浅田先生と共同研究をされてこられたWürzburg大のHeberは、この2つの機能(dual function)をCETが担うとした論

PSI循環的電子伝達 (Cyclic photophosphorylation)



Water Water Cycle (Pseudocyclic photophosphorylation)

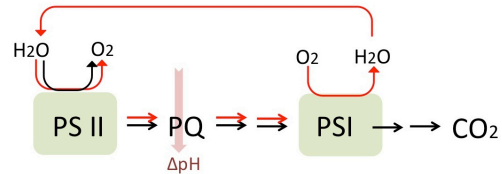


図1 光リン酸化反応としてのWWCとCET

電子伝達鎖では、電子伝達と共役した膜を介したプロトン輸送が起き、プロトン勾配を利用してATPが作られる。主要な光リン酸化反応である直線的電子伝達鎖(黒矢印)を補うためのサブシステムとしてWWCとCETの機能(赤矢印)が長い間想定されてきた。

文を1992年に発表している¹⁶⁾。一方、Heber研究室で研究を続けていたSchreiber(PAMクロロフィル蛍光計の開発者として有名)は、CETではなくWWCが、ATP生成、熱放散系誘導の主要な機構であるとしていた。例えば、彼らのクロロフィル蛍光を用いた実験では、WWCの中途生成物である過酸化水素をハウレンソウの無傷葉緑体に添加すると大きなphotochemical quenchingを誘導することから、過酸化水素はPSIからのよい電子受容体として機能することを示した¹⁷⁾。すなわち、直線的電子伝達フローのうち、かなりの割合がPSIからMehler反応で酸素分子の還元に使われ、WWC経路で水に還元される可能性が示された。

WWCとCETのどちらが重要かという論争に決着をつけるためには、それぞれのAETの定量的測定を生理学的条件で行う必要があった。

3. WWCの寄与

まず、WWCの定量的理解について考える。浅田先生の行った研究の中でも最も重要な実験のひとつは、無傷葉緑体での電子伝達に伴う $H_2^{16}O$ からの $^{16}O_2$ の発生(PSII)と $^{18}O_2$ の吸収(PSI)を質量分析で分別的に定量化したものである¹⁸⁾。炭酸固定が起こらない条件下で、無傷葉緑体に光照射すると $^{16}O_2$ の発生と $^{18}O_2$ の吸収が拮抗する。これは、PSIIでの水分解に伴って放出された電子がすべてPSIでのMehler反応によって酸素に受け渡され、活性酸素消去系により、水に還元されていることの証明であった。すなわち、

WWCはPSIIで生じた電子を100%受容する潜在力をもつことになる。しかし、生理的条件下で炭酸固定や光呼吸が起こる時に、*in vivo*でどれだけの電子がWWCに関与しているかは、別問題である。藻類やシアノバクテリアでは50-100%の電子がWWCへ流れる可能性が示されている^{2,19)}。一方陸上植物の場合、藻類やシアノバクテリアより低いことは確かであるが、いくつかのグループから異なった数値が報告されている。OsmondとGraceは、強光下での電子フローは、WWC、光呼吸、炭酸固定のそれぞれにほぼ1/3ずつ流れていると、*Hirschfeldia incana* (アブラナ科)の葉を用いたCanvinらの実験²⁰⁾をもとに見積もっている²¹⁾。Asada²⁾やBadgerら¹⁹⁾も同程度の数字を妥当としている。一方でRuuskaら²²⁾、Laiskら²³⁾、DrieverとBaker²⁴⁾は無視できる程度の寄与しかないと結論づけている。最近、Shiraoら²⁵⁾はこの問題に包括的に取り組むため多種の植物を対象とした研究を行い、WWCへのフローは1000 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の強光下において、裸子植物で10%、被子植物で1%程度であると報告している。このように生理的条件下でのWWCの電子フローがきわめて限定的であるとの結論がコンセンサスを得つつあるため、ATP生成への寄与も限定的であると考えるをえない。初期の研究では、炭酸固定系が十分に機能していない無傷葉緑体を主な実験材料としたことで、WWCを過大に見積もっていたことが、今では理解できる。

特定の代謝経路の機能を知るためには、それに関与するタンパク質の発現抑制株を選抜または作製してその表現型を調べるという逆遺伝学的手法が常用されるが、残念なことにWWCにかかわる酵素の発現抑制の研究では明確かつ予期した通りの表現型が現れることが少なく、明確な生理的な機能の解明にはむすびついていない。

4. CETの寄与

一方、CETについては、明確な表現型を示す形質転換体が得られている。ご存知のように、植物葉緑体にはNDH経路とPGR5 (またはFQR, ferredoxin quinone reductase) 経路の2経路があり、それらが相補的に機能していることがShikanaiグループにより明らかにされたが、その研究では、それぞれの経路の発現抑制株が利用された^{11,12,26)}。NDH経路は、葉緑体コードサブユニットの発現制御にかかわる核遺伝子

*CRR2*等の変異株を、またFQR経路については*PGR5*遺伝子の点変異株が用いられた。それぞれ単独の変異株は、通常の生育環境では野生型に近い正常な生育を示すが、二重変異株は、ほとんど生育しない。単独変異株の解析からPGR5経路がシロイヌナズナやタバコ等のC3植物では、主要な経路であり、それが機能しない時にはNDH経路が不完全ではあるが相補的に機能する。主経路であるPGR5の変異株の詳細な解析から、FQR経路が機能しない場合には、チラコイド膜内外のプロトン勾配形成が不十分となり、プロトン勾配が引き金となるPSIIでの熱放散誘導が起らずクロロフィル蛍光のnon-photochemical quenching (NPQ) 形成機能が低下することが明らかとなった¹¹⁾。この明確な表現型は、前述のHeberらによるCETのdual function説を実験的に証明したことになる。

サブ経路であるNDHの生理的機能は、未だはっきりした決着がない。ただ、様々なストレス条件下でNDH欠損株が不利であることが示されている。例えば、断続的な強光照射で、タバコのNDH抑制株が光阻害を受けやすいことが示されている^{27,28)}。また、タバコやシロイヌナズナのNDH抑制株は強光照射でストロマに還元力が蓄積しやすい²⁷⁻²⁹⁾。Wangら³⁰⁾は低温と高温で、タバコのNDH抑制株が低い電子伝達活性を示すことを明らかにした。Liら³¹⁾は、低温下では、タバコNDH欠損株は、低光強度でも電子伝達活性の低下が起こることを示した。最近、Yamoriら³²⁾は、イネのNDH抑制株で、低温下での光合成がかなり低下することを詳細に解析している。またHorváthら³³⁾は、水ストレス条件下で、タバコのNDH欠損株が生育遅延を示すことを報告している。

FQRとNDHの欠損株の表現型は、程度の差はあるが共通していて、それは電子伝達鎖およびPSI還元側の還元力の過剰蓄積 (いわゆる過還元) であり、PSIの光阻害 (Sonoikeの総説³⁴⁾参照) が引き起こされる状況と似ている (FQRについては参考文献11を、NDHについては参考文献27-29を参照)。先に述べたように直線的電子伝達では不十分なATP生成をCETが補っているとすると、CETの欠損はATP不足を招く。炭酸固定系を駆動するためにはATPとNADPHを3:2の割合で消費するため、ATPが不足するとPSI還元側で生成するNADPH等の還元力が使用されず余剰となってしまう、それが、酸化的傷害を誘引すると考えられる (図2)。

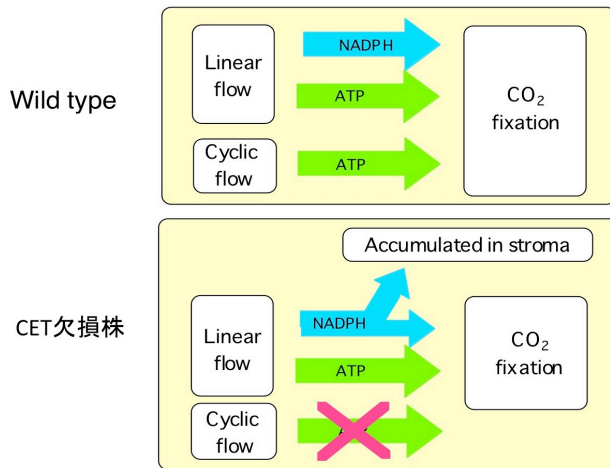


図2 CET欠損によるストロマへの還元力の蓄積を説明するための仮説

直線的電子伝達では炭酸固定と光呼吸を駆動するためのATPが不足するため、CETがそれを相補するが、欠損株では、ATPが炭酸固定と光呼吸を律速してしまうため、NADPHが余ってしまう。直線的電子伝達ではATPとNADPHの生成比は調節できない。

*In vivo*でのCET速度の測定としては、PSI反応中心クロロフィルP700の作用光下での酸化レベルと飽和閃光を照射した際の酸化レベルの差から、PSI電子伝達の量子収率 (Φ_{PSI}) を見積もるSchreiberら³⁵⁾の方法と、クロロフィル蛍光からPSIIでの電子伝達の量子収率 (Φ_{PSII}) を見積もる方法³⁶⁾を併用して、両者の差を循環的電子伝達速度とする方法³⁶⁾が代表的であり、Walz社が発売しているDual-PAMでは、両者の同時測定を行うことができる。Miyakeら³⁷⁾は、タバコの葉では強光下では Φ_{PSI}/Φ_{PSII} 比が1.8程度となり、CETは直鎖状電子伝達鎖と同程度の速度をもつことを示している。また、こうして見積もられた循環的電子伝達速度はPSIIでの制御的熱放散の指標であるクロロフィル蛍光のNPQ生成レベルと強い相関があり、上述のHeberのCETによるPSIIの保護機能仮説を支持する結果でもある。一方で、CETの定量法は原理の異なる手法がいくつか報告されていて³⁸⁾、それぞれの定量値にはかなりの差があることに注意をする必要がある。

以上のように、変異株の解析では明確な表現型が観察されるCETではあるが、NDHとFQRの詳細な速度論的解析は報告されておらず、LETに比較できる程度の反応速度がこれら既知の経路のみで説明できるか否かは、今後解析が必要となる。言い換えれば、既知のNDHおよびFQR経路のみでCET活性の大部分をカバーできるかのような議論は、いまのところ実験的根拠がない点に注意してほしい。Miyake³⁸⁾は、既知

のCET経路のほかに、ショートカットな経路の存在を示唆している。最も望まれる知見は、NDHおよびFQR経路の欠損株を用いた、*in vivo*でのCET速度の比較であろう。一方、NDH、FQR共に、膜に結合した複合体であるので、WWCを構成する酵素と異なり簡単な酵素化学的な速度論解析は困難と思われるが、これも将来取り組むべき課題である。

いずれにしても、生理的条件下での電子伝達速度を比較した場合、WWCに比べCETは、大きな電子フローをもつことが明らかになりつつある。しかしながら、CETを効率よく駆動するためには、電子伝達鎖が適切な酸化還元レベルにある必要があり、そのために、WWCによるわずかではあるが無視できない電子伝達活性が重要であるとの指摘もある³⁸⁾。

5. C4植物葉緑体のCET

C4植物では、炭酸濃縮機構を駆動するために、C3植物に比べて、炭酸1分子固定のため、2分子余分にATPが必要となる。CETが葉緑体でのATP生成に大きく寄与するのであれば、C4植物はC3植物に比べて高いCET活性をもつと推測される。こうした視点からC4植物葉緑体のCETは古くから注目を集めてきた。浅田先生が初期のCET研究³⁹⁾の材料としてトウモロコシを選択した理由もここにあるのだろう。

植物のもつ2経路のCETのどちらが、C4植物で活性を増大させているかを見るため、NDHとFQRそれぞれの活性に必須はタンパク質の発現レベルを幾種かのC4植物とタバコを用いて(少し乱暴だがシロイヌナズナタンパクの抗体を用いたウェスタン解析で)比較したところ、タバコに比べてC4植物ではNDHタンパク質(NDH-Hサブユニット)は10倍以上に増えていたが、FQRタンパク質(PGR5)は、同じレベルであり、C4代謝に要求されるATPは、NDH経路のCETで作られている可能性が示唆された¹³⁾。筆者らは、京都大学宇治キャンパス(浅田研究室の所在地)とその周辺の植物を広く採集して、NDH活性の指標である光照射後のFo'レベルの蛍光の一過的上昇を、半定量的に比較した(未発表)。その結果、一般にC4植物はC3植物に比べて高いNDH活性を示すこと、マツ属等葉緑体NDH遺伝子の欠落している植物には活性がないこと等を確認した。PSII活性の高い葉肉細胞でATP要求性が高いNAD-ME型C4植物は、総じて非常に高いNDH活性を示した。おもしろいことに、PSII活性

の低い維管束鞘細胞でATP要求性が高いNADP-MEタイプの場合には、比較的高いNDH活性を示す種（トウモロコシ等）と、NDH活性が検出されない種（ソルガム等）が混在していた。細胞の機能分化とNDH活性の局在性の関係が単純ではないことを示唆する結果であるが、その種間差の原因については詳細な解析を行っているところである。

NDH経路のCETがC4代謝に必須であるか否かを明らかにするため、現在、形質転換可能なC4植物 *Flaveria bidentis* を用いてNDHの核コードサブユニットの発現抑制株を作成し、解析している。同じ属にC3やC3-C4中間種を含む *Flaveria* を材料としたため、NDHがC4代謝に必須であれば、発現抑制株はC3化するかと期待したが、実際には、C4光合成を細々と行うがエネルギー不足で生育が遅延するという表現型であった（Ishikawa et al. 投稿準備中）。一旦、遺伝的にプログラムされたクランツ構造を伴う細胞分化は、ATP不足という代謝環境でも可塑性を示さないと言うことだ。近い将来に大気CO₂濃度がC4の優位性を奪う程度に上昇してもC4植物がC3植物に戻ることはできず、もはや無用になった炭酸濃縮経路を動かすコストを支払い続けなければならないことになるのだろうか。

6. おわりに

CETはArnonのグループが1950年代に提唱して以来⁴⁰⁾、その分子の実態が長いこと謎であった。浅田先生は、WWC研究のかたわら、光合成電子伝達研究に残されたブラックボックスのひとつとしてCETについても長いこと興味をもっておられたようであった。先生が1990年代初頭に始められたP700酸化還元やクロロフィル蛍光によりCET活性を測定する研究が端緒となって現在の分子レベルでの機能と構造の解明が多に進展したことは、忘れてはならない先生の業績のひとつと考える。

興味のある方は、本文中で紹介しきれなかったCETとWWCの機能を並列比較した総説^{38,41)}、葉緑体NDHについての総説⁴²⁾、CET装置の構造と機能についての総説⁴³⁾をご覧ください。

Received July 12, 2014, Accepted October 9, 2014,
Published December 31, 2014

参考文献

- 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.
- Asada, K. (2000) The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 355, 1419-1431.
- Ogawa, T. (1991) A gene homologous to the subunit-2 gene of NADH dehydrogenase is essential to inorganic carbon transport of *Synechocystis* PCC6803. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88, 4275-4279.
- Mi, H., Endo, T., Schreiber, U., Ogawa, T., and Asada, K. (1992) Electron donation from cyclic and respiratory flows to the photosynthetic intersystem chain is mediated by pyridine nucleotide dehydrogenase in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 33, 1233-1237.
- Mi, H., Endo, T., Schreiber, U., Ogawa, T., and Asada, K. (1994) NAD(P)H-dehydrogenase dependent cyclic electron flow around photosystem I in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803: a study of dark-starved cells and spheroplasts. *Plant Cell Physiol.* 35, 163-173.
- Mi, H., Endo, T., Ogawa, T., and Asada, K. (1995) Thylakoid membrane-bound, NADPH-specific pyridine nucleotide dehydrogenase complex mediates cyclic electron transport in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 36, 661-668.
- Schreiber, U., Endo, T., Mi, H., and Asada, K. (1995) Quenching analysis of chlorophyll fluorescence by a saturation pulse method: particular aspects relating to the study of eukaryotic algae and cyanobacteria. *Plant Cell Physiol.* 36, 873-882.
- Battchikova, N., Eisenhut, M., and Aro, E.-M. (2011) Cyanobacterial NDH-I complex: Novel insights and remaining puzzles. *Biochim. Biophys. Acta* 1807, 935-944.
- Shikanai, T., Endo, T., Hashimoto, T., Yamada, Y., Asada, K., and Yokota, A. (1998) Directed disruption of the tobacco *ndhB* gene impairs cyclic electron flow around photosystem I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95, 9705-9709.
- Endo, T., Shikanai, T., Sato, F. and Asada, K. (1998) NAD(P)H dehydrogenase-dependent, antimycin A-sensitive electron donation to plastoquinone in tobacco chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 39, 1226-1231.
- 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.
- Munekage, Y., Hashimoto, M., Miyake, C., Tomizawa, K., Endo, T., Tasaka, M. and Shikanai, T. (2004) Cyclic electron flow around photosystem I is essential for photosynthesis. *Nature* 429, 579-582.
- Takabayashi, A., Kishine, M., Asada, K., Endo, T. and Sato, F. (2005) Differential use of two cyclic electron flows around photosystem I for driving CO₂-concentration mechanism in C4 photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 16898-16903.
- 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.
15. Petersen, J., Förster, K., Turina, P. and Gräber, P. (2012) Comparison of the H⁺/ATP ratios of the H⁺-ATP synthases from yeast and from chloroplast. *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.* 109, 11150-11155.
 16. Heber, U. and Walker, D.A. (1992) Concerning a dual function of coupled cyclic electron transport in leaves. *Plant Physiol.* 100, 1621-1626.
 17. Neubauer, C. and Schreiber, U. (1988) Photochemical and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence induced by hydrogen peroxide. *Z. Naturforsch.* 44c, 262-270.
 18. Asada, K. and Badger, M.R. (1984) Photoreduction of ¹⁸O₂ and H₂¹⁸O₂ with a concomitant evolution of ¹⁶O₂ in intact spinach chloroplasts: Evidence for scavenging of hydrogen peroxide by peroxidase. *Plant Cell Physiol.* 24, 1169-1179.
 19. Badger, M.R., von Caemmerer, S., Ruuska, S. and Nakano, H. (2000) Electron flow to oxygen in higher plants and algae: rates and control of direct photoreduction (Mehler reaction) and rubisco oxygenase. *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 355, 1433-1446.
 20. Canvin, D.T., Berry, J.A., Badger, M.R., Fock, H. and Osmond, C.B. (1980) Oxygen exchange in leaves in the light. *Plant Physiol.* 66, 302-307.
 21. Osmond, C.B. and Grace, S.C. (1995) Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis? *J. Exp. Bot.* 46, 1351-1362.
 22. Ruuska, S.A., Badger, M.R., Andrews, T.J. and von Caemmerer, S. (2000) Photosynthetic electron sinks in transgenic tobacco with reduced amounts of Rubisco: little evidence for significant Mehler reaction. *J. Exp. Bot.* 51, 357-368.
 23. Laisk, A., Eichelmann, H., Oja, V., Rasulov, B. and Rämama, H. (2006) Photosystem II cycle and alternative electron flow in leaves. *Plant Cell Physiol.* 47, 972-983.
 24. Driever, S. and Baker, N.R. (2011) The water-water cycle in leaves is not a major alternative electron sink for dissipation of excess excitation energy when CO₂ assimilation is restricted. *Plant Cell Environ.* 34, 837-846.
 25. Shirao, M., Kuroki, S., Kaneko, K., Kinjo, Y., Tsuyama, M., Foresters, B., Takahashi, S. and Badger, M.R. (2013) Gymnosperms have increased capacity for electron leakage to oxygen (Mehler and PTOX reactions) in photosynthesis compared with angiosperms. *Plant Cell Physiol.* 54, 1152-1163.
 26. Hashimoto, M., Endo, T., Peltier, G., Tasaka, M., and Shikanai, T. (2003). A nucleus-encoded factor, CRR2, is essential for the expression of chloroplast *ndhB* in *Arabidopsis*. *Plant J.* 36, 541-549.
 27. Endo, T., Shikanai, T., Sato, F., and Asada, K. (1999) The role of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in photoprotection. *FEBS Lett.* 457, 5-8.
 28. Takabayashi, A., Endo, T., Shikanai, T., and Sato, F. (2002) Post-illumination reduction of the plastoquinone pool in chloroplast transformants in which chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase was inactivated. *Biosci. Biotech. Biochem.* 66, 2107-2111.
 29. Ishikawa, N., Endo, T. and Sato, F. (2008) Electron transport activities of *Arabidopsis* mutants with impaired chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase. *J. Plant Res.* 121, 521-526.
 30. Wang, P., Duan, W., Takabayashi, A., Endo, T., Shikanai, T., Ye, J.Y. and Mi, H. (2006) Chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco leaves functions in alleviation of oxidative damage caused by temperature stress. *Plant Physiol.* 141, 465-474.
 31. Li, X.-G., Duan, W., Meng, Q.-W., Zou, Q. and Zhao, S.-J. (2004) The function of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco during chilling stress under low irradiance. *Plant Cell Physiol.*, 45, 103-108.
 32. Yamori, M., Sakata, N., Suzuki, Y., Shikanai, T. and Makino, A. (2011) Cyclic electron flow around photosystem I via chloroplast NAD(P)H dehydrogenase (NDH) complex performs a significant physiological role during photosynthesis and plant growth at low temperature in rice. *Plant J.*, 68, 966-976.
 33. Horváth, E.M., Peter, S.O., Joët, T., Rumeau, D., Cournac, L., Horváth, G.V., Kavanagh, T.A., Schäfer, C., Peltier, G. and Medgyesy, P. (2000) Targeted inactivation of the plastid *ndhB* gene in tobacco results in an enhanced sensitivity of photosynthesis to moderate stomatal closure. *Plant Physiol.* 123, 1337-1350.
 34. Sonoike, K. (1996) Photoinhibition of photosystem I: its physiological significance in the chilling sensitivity of plants. *Plant Cell Physiol.* 37, 239-247.
 35. Klughammer, C. and Schreiber, U. (1994) An improved method, using saturating light pulses, for the determination of photosystem I quantum yield via P700⁺-absorbance changes at 830 nm. *Planta* 192, 261-268.
 36. 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.
 37. Miyake, C., Shinzaki, Y., Miyata, M. and Tomizawa, K. (2004) Enhancement of cyclic electron flow around photosystem I at high light and its contribution to the induction of non-photochemical quenching of chl fluorescence in intact leaves of tobacco plants. *Plant Cell Physiol.* 45, 1426-1433.
 38. Miyake, C. (2010) Alternative electron flow (water-water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: molecular mechanisms and physiological functions. *Plant Cell Physiol.* 51, 1951-1963.
 39. Asada, K., Heber, U. and Schreiber, U. (1992) Pool size of electrons that can be donated to P700⁺, as determined in intact leaves: Donation to P700⁺ from stromal components via the intersystem chain. *Plant Cell Physiol.* 33, 927-932.
 40. Tagawa, A., Tsujimoto, H.Y. and Arnon, D.I. (1963) Role of chloroplast ferredoxin in the energy conversion process of photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 49, 567-572.
 41. Endo, T., and Asada, K. (2006) Photosystem I and photoprotection. In *Photoprotection, gene regulation, and environment*, pp. 205-221. (Demming-Adams, B.

- Ed), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
42. Endo, T., Ishida, S., Ishikawa, N., and Sato, F. (2008) Chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase complex and cyclic electron transport around photosystem I. *Mol. Cells* 25, 158-162.
43. Shikanai, T. (2007) Cyclic electron transport around photosystem I: genetic approaches. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 199-217.

Comparison of physiological function of water- water cycle and cyclic electron transport around photosystem I

Tsuyoshi Endo*

Graduate School of Biostudies, Kyoto University

解説

これまで欠けていた、速度論的評価に基づく、 オルタナティブ・エレクトロン・フロー活性の比較と光合成におけるO₂の役割 ～生理的な意味が見える、本丸へ挑む～[‡]

神戸大学 大学院農学研究科
高木 大輔 三宅 親弘*

高等植物における光合成電子伝達反応にはRubiscoに依存する直線的電子伝達反応 (Linear electron flow; LEF) とは独立した代替的電子伝達反応 (Alternative electron flow; AEF) が存在している。これまで多くの研究によってAEFの活性、生理学的機能、ならびにAEFに関与するコンポーネントを欠損させた植物における表現型解析などが行われてきた。しかしながら、確立されたAEFの測定手法が存在していないことから、高等植物におけるAEFの理解に関して、現在コンセンサスが得られていない状況である。本稿は野生型高等植物において確認されるAEF活性を速度にて評価し、高等植物の光合成におけるLEFの速度と比較することで、AEFの機能、光合成における貢献を考察する。加えて、AEFの生理学的機能の解明に当たり、解決すべき問題点に関して考察する。

1. はじめに

高等植物の葉緑体に光が照射されると、チラコイド膜上の光化学系II (PSII)、光化学系I (PSI) 反応中心クロロフィルP680、P700の励起と電荷分離が起こり、光合成電子伝達反応が開始する。P680から放出された電子はプラストキノン (PQ)、シトクロム *b₆f* (Cytb₆f)、プラストシアニン (PC) を介してPSIへと伝達される。またP700から放出された電子はフェレドキシン (Fd)、フェレドキシンNADPHオキシドレダクターゼ (FNR) を介して、NADPHの生成に利用される。光合成電子伝達反応はNADPHの生成に加えて、ATPを生成する。PSIIにおけるH₂Oの酸化の際、また還元型のPQ (PQH₂) がCytb₆fに電子を渡す際にチラコイド膜ルーメン内部にH⁺が放出される。チラコイド膜を介したストロマ側とルーメン側のH⁺勾配は、チラコイド膜上に存在するCF₀CF₁-ATPaseにおいてATP生成の駆動力として利用される。このようにして光合成電子伝達反応により生成されたNADPHとATPは、Calvin cycleにおけるCO₂の固定、もしくは光呼吸に利用される。

Calvin cycleならびに光呼吸は、光合成電子伝達反応において生成されるエネルギーの主要な消費の場

であり、光合成の重要なシンクとして認識されている。一方で、光合成電子伝達反応にはRubisco依存的な光合成電子伝達反応に加えて、Rubiscoに非依存的な光合成電子伝達反応が存在している。これは代替的電子伝達反応 (Alternative electron flow; AEF) と呼ばれる¹⁾。高等植物における代表的なAEFとして、循環的電子伝達経路 (cyclic electron flow; CEF) とPSIにおけるメーラー反応 (water-water cycle; Mehler-ascorbate peroxidase pathway; WWC) が挙げられる。CEFにおいてはArnonら、またTagawaらがチラコイド膜を用いた実験によって、PSIIからの電子の供給なしにPSIのみの電子伝達でATPの合成が起こること、つまり循環的リン酸化反応が起こることを確認したのが始まりであり、現在では大きく分けると4つの経路があることが報告されている [NAD(P)H dehydrogenase (NDH), Ferredoxin-plastoquinone reductase (FQR), FNR-Cytb₆f complex (proton coupled, heme c-dependent proton uncoupled)]¹⁻⁴⁾。一方でWWCにおいては1951年にMehlerがチラコイド膜を用いた実験においてO₂がHill oxidantとして機能することを発見したのが始まりである⁵⁾。現在では、O₂還元が起こるPSIでの活性酸素消去系、またアスコルビン酸 (Asc) の再生反応系の存

[‡] 解説特集「浅田先生を偲んで」

* 連絡先 E-mail: cmiyake@hawk.kobe-u.ac.jp

在が明らかとされている^{6,7)}。

分子遺伝学、分子生物学の進歩により、AEFに関するコンポーネントが次々と明らかになっている。一方で、問題とすべきことは、高等植物の葉緑体内に存在する各種コンポーネントが、「真に生理学的に光合成に貢献しているかどうか」という事に対する考察である。変異体の獲得は、表現型を介した考察により、各種コンポーネントが植物内部でどのような役割を果たしているかを明らかとする非常に強力なツールである。しかし、そこには量と質の考察が軽んじられている場合が多い。つまり、各種コンポーネントの「ある」、「なし」に重きをおいて議論が展開されているとあってよい。発見された遺伝子、タンパク質の植物細胞内部における真の機能を明らかとするには、それらが質的または量的に生理現象を説明するのかという考察が必須である。今回は、高等植物の葉緑体での代表的なAEFであるCEFとWWCに焦点を当て、野生型植物において観測されるAEF活性、特に速度の面からAEFの考察を行う。

2. CEFの電子伝達活性評価

現在、高等植物において提唱されているCEFの生理学的機能を紹介する。CEFはPSIから出た電子を再び光合成電子伝達鎖上に戻す電子伝達経路であり、PQに電子を伝達する経路に関してはQ-cycleを活性化させる事によって、チラコイド膜ルーメン内部へのH⁺の取り込みを促進させ、H⁺依存的な非光化学的消光(NPQ: qE)やCO₂固定のためのATPの合成に貢献すると考えられている^{8,9)}。またCEFはPSIから電子を受

け取ることによって機能することから、PSI内部に電子が蓄積することを防ぐ役割もあると考えられている。これはPSIにおける活性酸素の生成を防ぐという意味で重要な防御機構である⁹⁻¹¹⁾。

それでは、CEFはどれくらいの活性を持っているのであろうか？CEFにおける電子の供給源であるPSIはCEFのみならずFd, FNRを介したNADPHの生成やWWCにおけるO₂還元などに電子を供給している。つまりCEFの活性はCEFに分配される電子の量によっても大きく左右される¹²⁻¹⁴⁾。光合成の誘導期においてはCalvin cycleや光呼吸といった光合成における大きな電子のシンクが完全に活性化する前の段階の為、電子はよりCEFに分配されることが予想される^{15,16)}。一方で、定常状態の光合成においては多くの電子がCalvin cycleや光呼吸に供給される為、CEFの活性は誘導期に比べて低下する。このことを踏まえて光合成の誘導期と定常状態に分けてCEF活性を考察したい。

A. 光合成誘導期におけるCEF活性

最初に光合成の誘導期、つまりCalvin cycleが活性化する前の光合成電子伝達反応におけるCEFの速度について紹介する。Joliotらは暗所に順応させた野生型のホウレンソウ並びにシロイヌナズナの葉に約7秒間、強力な励起光を照射し、その時に観測されるElectro chromic shift (ECS) のシグナルとDark interval relaxation kinetics (DIRK) analysisを組み合わせることで光合成電子伝達活性を見積もっている¹⁷⁻²⁰⁾。その報告によると、光合成誘導期のホウレンソウの葉では、68 s⁻¹のCEF活性と26 s⁻¹のLEF活性が検出され、シロイヌナズナの葉においては

表1 LEF, CEF, WWCの速度比較

	ターンオーバー速度 (s ⁻¹)	植物	測定条件	参考文献
LEF	~ 300	タバコ	光合成定常状態	Laisk et al. (2001) ²¹⁾
	~ 200	ヒマワリ	光合成定常状態	Laisk et al. (2001) ²¹⁾
	~ 200	n.d.	personal communication	Joliot et al. (2004) ¹⁸⁾
	~ 200	タバコ	光合成定常状態	Hald et al. (2008) ²²⁾
CEF	68	ホウレンソウ	光合成誘導期 (このときLEFは26 s ⁻¹)	Joliot & Joliot (2002) ¹⁷⁾
	119 ~ 130	シロイヌナズナ	光合成誘導期 (このときLEFは40 s ⁻¹)	Joliot et al. (2004) ¹⁸⁾
	~ 7	タバコ	光合成定常状態	Laisk et al. (2001) ²¹⁾
	~ 15	ヒマワリ	光合成定常状態	Laisk et al. (2001) ²¹⁾
	~ 200	ジャガイモ	光合成定常状態	Laisk et al. (2007) ¹⁰⁾
	~ 306	タバコ	光合成定常状態	Miyake et al. (2005) ²⁷⁾
WWC	~ 9	サヤインゲン	光合成定常状態	Driever & Baker (2011) ⁷⁹⁾
	~ 2	ユーカリ	光合成定常状態	Shirao et al. (2013) ⁸⁰⁾
	~ 31	セコイア	光合成定常状態	Shirao et al. (2013) ⁸⁰⁾
NO ₂ ⁻ reduction	~ 2	タバコ/ジャガイモ	光合成定常状態	Eichelmann et al. (2011) ³⁷⁾

119 ~ 130 s⁻¹のCEF活性と40 s⁻¹のLEF活性が検出されている(表1)。ここでのs⁻¹という単位は1秒間にPSIIもしくはPSIが、どの程度電子伝達反応を行っているのかを表す(回転数 [反応中心]⁻¹ s⁻¹)。また、これら植物の葉にDCMUを吸引させ、PSIIからQ_Aへの電子伝達を阻害した葉においても117 ~ 128 s⁻¹のCEF活性が検出されている。定常状態におけるLEF活性は~200 s⁻¹ほどの速度で駆動することから、Joliotらが検出した光合成誘導期におけるCEF活性は定常状態のLEF活性に相当するほどの高い活性を持っていることが分かる^{17,18,21-23}。

B. 光合成の定常状態におけるCEF活性

非ストレス下の定常状態におけるCEF活性に関しては、未だコンセンサスが得られておらず、定常状態においてCEF活性が存在するかしないかについては明らかとなっていない。コンセンサスが得られない原因としては、確立されたCEF活性の測定方法が存在していないことが理由として挙げられる。また、報告されている定常状態のCEF活性に関しては、いくつかの解決しなくてはならない矛盾点が存在している。

CEF活性の評価として、Far-red light (FR) を照射した場合に観測されるP700⁺の誘導のキネティクスにより評価する解析方法が知られている(図1)¹⁶。この解析ではFRを照射した場合に確認されるP700⁺生成の遅延の程度からCEF活性を評価する。このP700⁺生成の遅延はFRにより電荷分離を起こしたP700⁺に、CEFによって循環してきた電子が再度P700⁺に供給されることにより

起きていると考えられている¹⁶。暗所に順応させた葉においてはP700⁺の酸化は大きく遅れるが、一方で光に順応させた葉においてFRを照射した場合には、P700⁺はすぐさま最大のレベルまで誘導される(図1A)。この光に順応させた葉におけるP700⁺の誘導のキネティクスは、葉にメチルピオロゲンを吸引した場合に確認されるキネティクスと同じであることから、光順応後の葉においてはFR照射により生成する電子のほとんどがLEFに供給されており、CEFの活性はほとんど存在しないことが見て取れる(図1B)¹⁶。このように光合成電子伝達反応においてCalvin cycleや光呼吸といった大きな電子のシンクが活性化した場合に、CEFに供給される電子が減少することでCEFの活性が低下するという報告は他にも存在している^{13,15,24}。例えばLaiskらはLEFとCEFの活性をPSIの回転数(s⁻¹)に換算して比較を行っている。測定光が約2,000 μmol photons m⁻² s⁻¹の条件下におけるCEFの活性は強光生育の植物でLEFの-5.5~7.5%、弱光生育の植物で-1.4%~12.2%であることを報告している。この時のLEF活性は強光生育の植物で約200 s⁻¹、弱光生育で100 s⁻¹程の速度が確認されているため、CEF活性を速度に換算すると強光生育の植物では~15 s⁻¹、弱光生育の植物では~12 s⁻¹程の活性となる²¹。またKuvykinらは光合成電子伝達反応における各種反応の見かけの速度定数を用いて*in silico*にて定常状態のCEF活性を算出しているが、その計算においてもCEF活性はLEFの10%未満であることを報告している^{25,26}。

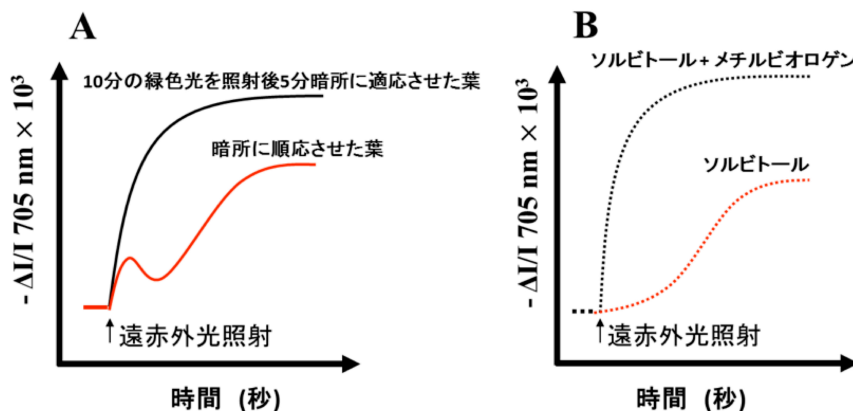


図1 FR照射によるCEF活性の評価

Joliot & Joliot (2005)をもとに作成。Aはホウレンソウの葉に150 mMソルビトールを吸引させたものと、ホウレンソウの葉に150 mMソルビトールと1 mMメチルピオロゲンを吸引させたものにおけるP700⁺の誘導のキネティクスを示したもの。P700⁺は遠赤外光の照射により誘導している。Bはエンドウの葉を暗所に順応させたものと、緑色光の照射によりCalvin cycleを活性化させた状態にし、その後5分暗所に置いたものにおけるP700⁺誘導のキネティクスを示す。

一方で、定常状態においても高いCEF活性が存在していることを示唆する報告もある。Laiskらがガス交換測定から算出する光合成電子伝達速度とP700⁺のDIRK-analysisから見積もるPSIにおける光合成電子伝達活性と比較したところ、強光条件下においてCEF活性の増加が確認され、速度にして40 ~ 100 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹程の活性が確認されている¹⁰。Laiskらが報告している葉面積当たりのPSIの量(0.5 ~ 1.8 μmol m⁻²)を参考にして、回転数に換算すると大凡20 ~ 200 s⁻¹となる

(表1)^{10,21)}。この値から考えると、これらの論文で報告されているCEF活性はLEFに相当することが分かる。Miyakeらはクロロフィル蛍光測定より見積もるPSIIの量子収率と830 nmにおける透過率変化から算出するPSIの量子収率からCEF活性を評価しており、その報告によると $\sim 153 \mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($\sim 306 \text{s}^{-1}$) 程のCEF活性速度が定常状態の光合成で観測されている(表1)²⁷⁾。PSIIとPSIの量子収率から見積もるCEF活性に関しても、光強度の増加はCEF活性の増加を引き起こすことが確認されている²⁸⁻³⁰⁾。

ここに示したように光合成の定常状態におけるCEF活性の報告には、ばらつきが存在する。これは生育環境(光、窒素量、温度等)の要因によっても変化するが、やはり個々の測定法の違いが大きな原因であろう。ただし、ここで注目すべきは定常状態でCEF活性があるという報告に関しては活性のオーダーが一致している、つまりLEF活性に相当する活性を示しているという事である。

3. CEFはH⁺の取り込みに貢献しているか?

次に野生型の植物において確認されるCEF活性が光合成におけるH⁺の取り込みを促進し、*in vitro*で確認されたようなATPの供給に貢献することで、CO₂固定をサポートしているのかを考えたい。最初にCalvin cycleを駆動させるために必要なNADPHとATPの量に関して整理する。Calvin cycleにおいて1分子のCO₂を固定するためには3分子のATPと2分子のNADPHが必要となる³¹⁾。続いて、LEFにより生成されるNADPHとATPの量について考える。光合成電子伝達反応ではPSIIにおいて、2分子のH₂Oが酸化されるとそれに伴って4つの電子と4つのH⁺の放出が行われ、1分子のO₂が発生する[$2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$]。1分子のNADPHの生成には電子を2つ必要とする[$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADPH}$]。したがって2分子のH₂OをPSIIにおいて酸化した場合、4電子が流れるのでNADPHは2分子生成される。このことから、2分子のH₂Oの酸化により駆動するLEFで3分子のATPを生成することができれば、LEFのみで1分子のCO₂の固定を行うことが可能である。PSIIにおける電子のアクセプターであるPQはPSIIとCytb₆/f間でQ-cycleを行っており、この機能によって電子伝達反応によるH⁺の取り込みが促進される。Q-cycleにおいて電子が1つ流れると2つのH⁺が取り込まれる(H⁺/e⁻ = 2)³²⁾。光合成電子伝達反応により2分子

のH₂Oが酸化された場合、流れる電子の量は4電子なので、これに伴いQ-cycleにおいて取り込まれるH⁺の数は、 $8\text{H}^+ [4\text{e}^- \times 2\text{H}^+/\text{e}^-]$ となる。2分子のH₂Oの酸化により供給される4H⁺と合わせると、LEFで生成されるH⁺は12H⁺となる。

問題は高等植物の葉緑体のATPaseがATPの生成にどれだけH⁺を必要とするかである。Seclertら(2000)の報告ではホウレンソウ葉緑体におけるATPaseのcリングは14個あることが報告されている³³⁾。この報告にしたがって3分子のATPの生成に14H⁺が必要であると仮定する。その場合、LEFでは12H⁺しか取り込めないで2H⁺不足している状態となる。この考察に基づくと、CEFが存在することによって2H⁺が補充されるが故に、Calvin cycleは問題なく駆動しているように目的論的に理解できる。

しかしながら、定常状態において確認されるCEF活性にはいくつかの矛盾点が存在する。第一に、仮にCEFがLEFで生成するH⁺の不足分を補っているのであれば、CEFは光強度にかかわらず、常に駆動している必要がある。理論的には常にLEFの約14%に相当するCEF活性が確認されていなくてはならない。しかし、前述のように弱光条件下においてはCEF活性が確認されないという報告が存在している^{9,10,21,34)}。この報告を考慮するとCEFがCalvin cycle駆動を駆動するに当たって、恒常的に不足しているATP合成をサポートしているとは考えにくい。

大気中のCO₂濃度の変化は葉内、並びに葉緑体内部のCO₂とO₂の分圧の変化を引き起こし、Rubiscoにおけるカルボキシレーション反応とオキシゲナーゼ反応のバランスに変化をもたらす³¹⁾。光合成におけるATPとNADPHの要求量はKramerとEvans(2011)で記載されているように $3+7\Gamma^*/\text{C}$ (ATP)、 $2+4\Gamma^*/\text{C}$ (NADPH)と表現することができる³⁵⁾。ここでの Γ^* は暗呼吸を考慮しない場合の、光合成におけるCO₂補償点、CはRubisco周囲におけるCO₂分圧を示す³⁶⁾。つまり、葉内のCO₂濃度が低くなりカルボキシレーション反応が抑制され、オキシゲナーゼ反応が促進されるような条件下では、NADPHに対してATPの要求量が増加することが分かる³⁵⁾。この時ATP/NADPH比は大凡1.67まで上昇するので、低CO₂条件下では、現在の大気条件下において光合成を駆動する場合よりも多くのATPが要求される。このことからCEFによるH⁺の取り込みの貢献は、低CO₂条件下で、より重要度が増すことが予想さ

れる。しかしながら、非ストレス条件下においてCEF活性を測定した論文に関しては、CO₂の変化に伴うCEF活性の変化は確認されていない¹⁰⁾。Miyakeが2005年に報告した論文では、高い光強度の条件下(1,100 μmol photons m⁻² s⁻¹)ではCEF活性は低CO₂条件下において増加することが確認されている。しかし一方で低い光強度(150, 250 μmol photons m⁻² s⁻¹)の条件下ではCEF活性はCO₂濃度に依存しないことを見出している²⁹⁾。前述のように光合成におけるATPとNADPHの要求量はΓ*とCに依存するため、CEFがATP合成に関与するのであれば、光強度ではなくCO₂の濃度の変化に反応しなくてはならないはずである。

以上の報告を含めるとCEFはH⁺の取り込みとカップリングしているとは考えにくい。それでは、今までとは反対の発想で、CEFが完全にH⁺の取り込みとカップリングしていることを仮定した場合に、矛盾は生じるのであろうか。Laiskらが2007年に報告した高CO₂条件下におけるガス交換測定より算出した、LEF速度200 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹とその時のCEF活性約100 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹をもとに考察する。以下の計算は、Laiskら(2010)で用いられたものを適用した¹¹⁾。LEF速度をATP要求速度に変換すると、[200 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹ / 4 × 3 = 150 μmol ATP m⁻² s⁻¹]となる。これをATP合成の為のH⁺要求速度に変換すると、[150 μmol ATP m⁻² s⁻¹ × 4.66 (H⁺/ATP) = 699 μmol H⁺ m⁻² s⁻¹]となる。このとき、LEF活性によって達成されるH⁺の取り込み速度は、[200 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹ + 200 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹ × 2 (H⁺/e⁻) = 600 μmol H⁺ m⁻² s⁻¹]となるので、Calvin cycleを駆動するためにCEFは99 μmol H⁺ m⁻² s⁻¹の速度でH⁺の取り込みをサポートする必要があると考えられる。この時CEFの活性は100 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹であるのでH⁺取り込み速度に換算すると[100 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹ × 2 (H⁺/e⁻) = 200 μmol H⁺ m⁻² s⁻¹]になることが分かり、要求される速度の2倍の速度でH⁺の取り込みが行われていることになる。測定条件が高CO₂であることを考慮すると光呼吸の駆動のためのATP合成に使われている可能性は低い。一方で葉緑体内部における窒素同化にもATPが利用されるが、そのフラックスは光合成の速度と比較すると低い為、過剰に取り込まれたH⁺のすべてが窒素同化を行う為のATP合成に使われているとは考えにくい(～1.0 μmol m⁻² s⁻¹)³⁷⁾(表1)。

また、Laiskらは低CO₂、低O₂条件下でFR照射により観測されるCEF活性がH⁺の取り込みとカップリング

していると仮定し、LEF活性から見積もるH⁺要求速度との比較を行っている¹¹⁾。その条件下で観測されるLEF活性は5 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹、CEF活性は50～70 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹であった。上記と同様の計算をすると、LEFでATPの合成に要求されるH⁺取り込み速度は17.5 μmol H⁺ m⁻² s⁻¹であり、LEFで達成されるH⁺取り込み速度は15 μmol H⁺ m⁻² s⁻¹となる。つまりこの条件下で要求されるCEFによるH⁺の取り込み速度はわずか2.5 μmol H⁺ m⁻² s⁻¹でよいが、観測されたCEF活性をもとに計算するとH⁺取り込み速度は100～140 μmol H⁺ m⁻² s⁻¹にまで達すると報告されている¹¹⁾。低O₂下で光呼吸が抑制されることと、窒素同化のフラックスを考慮すると、CEFによるH⁺の取り込み速度は過剰であることが示唆される。

Calvin cycleで要求するATP合成速度に相当するようなATP消費経路が存在しなければ、CEFの駆動によってチラコイド膜ルーメン側に絶えずH⁺が流入することとなる。H⁺の要求量以上にH⁺が取り込まれるとルーメンのpHが大きく低下することが予想される。ルーメン側のpHの低下はPQとCytb_{6/f}間の光合成電子伝達を大きく抑制する³⁸⁾。さらに、ルーメン側のpHの低下はCytb_{6/f}における光合成電子伝達のみならず、PSIIのOxygen evolving complex (OEC)、プラストシアニン(PC)の分解を誘導する³⁹⁾。つまり、CEFがH⁺の取り込みとカップリングしているのであれば、すぐさまルーメン側のpHが低下することによって、PQ-Cytb_{6/f}間の光合成電子伝達反応が抑制、PQ-poolにおける電子の蓄積、ならびにPSII、PCの機能が抑制されることによって、CEF自体も駆動できなくなるはずではないだろうか^{1,40,41)}。

上記の予想は、以下の論文によってサポートされる。そもそも、葉緑体のATPaseはH⁺の結合するcサブユニットは14個あるが、これは必ずしも3ATP作るのに14H⁺が必要であることを示しているわけではない。Steigmillerら(2008)やPetersenら(2012)ではホウレンソウから単離したATPaseを利用して、H⁺/ATPの比を計算している。Steigmillerらは3.9±0.3、Petersenらは4.0±0.3の値を得ている^{42,43)}。つまり、CEFがH⁺の取り込みに貢献しなくてもLEFの駆動によるH⁺の取り込みのみでCO₂の固定は可能であることを意味する。実際にAvensonらの報告によると、LEFで形成されるproton motive force (*pmf*_{LEF})とトータルのECSシグナル(*total pmf*)の間には直線の関係があることを報告し

ている。例えば、CEFが強光下で促進し、それがH⁺の取り込みに貢献するのであれば、LEFで形成されるpmfに加えて、追加的にpmfが増加するはずである。つまり、定常状態において、光強度の変化に応答するCEF活性の変化はチラコイド膜を介したH⁺勾配の形成に関与していない可能性がある^{44,46)}。

一方で、Furbank、Badgerらがチラコイド膜を用いた実験によって算出したATP/2e⁻の比は1.39であり、4電子流れた場合には2.78ATPしか生成できないことを示している⁴⁷⁾。この報告は、3分子のATPの生成のためには、14H⁺が必要であることを示唆する結果である。この報告に基づく、光合成の駆動に当たってはCEFによる追加的なH⁺が必要であることが示唆される。Calvin cycleや光呼吸に必要とされるATPの合成にH⁺がどれだけ必要となるかについては、現在も決着のつかない難題である。

4. CEFを制御するのはNDH complexとPGR5 – PGRL1 proteinか?

野生型植物で観測されるCEF活性はLEF活性に匹敵するという報告があることから、高い電子伝達活性を説明する分子メカニズムでなければCEFの機能解明に至ったとは言えない。現在、CEFに関わるコンポーネントとしてはNDH複合体とPGR5、PGRL1タンパク質が挙げられる^{8,9,48-50)}。これらのタンパク質の存在は野生型植物で観測されるCEF活性を説明できるであろうか。

NDHは複数のサブユニットからなる巨大な複合体であり、近年Fdの結合部位の存在が報告された^{51,52)}。これらの報告からNDHは光合成電子伝達反応に関与することが示唆される。しかしながら、チラコイド膜におけるNDH complexの量はチラコイド膜のタンパク質の0.2%に相当し、光合成電子伝達鎖100個につき1つの複合体がついている計算となる⁵³⁾。Laiskらが見積もるPSII量 (0.5 ~1.8 μmol m⁻²) を参考にすると、

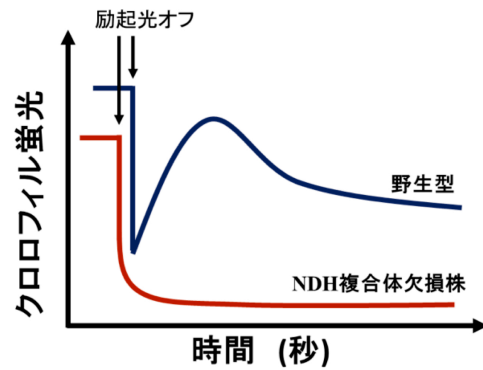


図2 クロロフィル蛍光を用いたNDH依存型CEF活性の評価 Hashimotoら (2003) ⁴⁸⁾をもとに作成。励起光の消灯後に確認されるクロロフィル蛍光のキネティクスを示す。野生型で励起光消灯後にクロロフィル蛍光の上昇が観測されるのは、励起光照射中に葉緑体ストロマに蓄積した還元力 (NADPH, Fd) が、NDHを介してPQプールに電子を伝達するためと考えられている。実際にNDH複合体の変異体においては野生型で確認されるようなクロロフィル蛍光の上昇は確認されない。

NDH複合体の量は凡そその100分の1と見積もれるので、5 ~ 18 nmol m⁻²となる。これがLaiskらの報告 (2007) 中の、野生型植物で確認されたCEF活性40 ~ 100 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹の電子伝達反応を行おうとする場合、NDH複合体のターンオーバーは [40 ~ 100 μmol e⁻ m⁻² s⁻¹ / 0.005 ~ 0.02 μmol m⁻² = 2,000 ~ 20,000 s⁻¹] となり、NDHは2,000 ~ 20,000 s⁻¹の速度で電子を伝達しなくてはならないことになる¹⁰⁾。Joliotら (2004) でもNDHの活性は、そのタンパク質量を考慮すると理論的に約10,000 s⁻¹の活性が必要であると提案されている¹⁸⁾。LEFのターンオーバー速度が約 200 s⁻¹であることから、タンパク質量に基づいて算出されたこの活性は生理学的に高すぎる。

NDHの活性は*in vivo*で測定可能であり、励起光消灯後のクロロフィル蛍光の上昇によってNDHの活性の「有無」が議論されている (図2) ^{8,52,54)}。今度は逆に、この評価系から見積もられる活性から、必要とされるNDH複合体の量を計算してみる。クロロフィルの蛍光

表2 NDH, PGR5, PGRL1, PTOXの速度比較

タンパク質	ターンオーバー速度 (s ⁻¹)	植物	測定条件	参考文献
NDH	1	シロイヌナズナ	励起光消灯後	Gotoh et al. (2010) ⁵⁴⁾
	0.1	トマト	クロロフィル蛍光 Kautsky effect	Trouillard et al. (2012) ⁵⁵⁾
PGR5	0.035	シロイヌナズナ	<i>In vitro</i>	Fisher & Kramer (2014) ⁵⁷⁾
PGRL1	~3	リコンビナントタンパク質	<i>In vitro</i>	Hertle et al. (2013) ⁵⁰⁾
PTOX	0.2~0.25	トマト	クロロフィル蛍光 Kautsky effect	Trouillard et al. (2012) ⁵⁵⁾

の上昇はストロマ中のNADPHがNDHを介してPQへと移動するために光合成電子伝達鎖が還元状態となることで起こると考えられている⁴⁸⁾。このことからクロロフィル蛍光の上昇の速度がNDHの活性であると考えられる。クロロフィル蛍光の上昇のハーフタイムから算出されるターンオーバーはGotohら(2010)では 1 s^{-1} と見積もられている(表2)⁵⁴⁾。またTrouillardら(2012)ではNDHの活性は 0.1 s^{-1} と見積もられている(表2)⁵⁵⁾。この活性でこれがLaiskらの報告(2007)の中で報告されているCEF活性 $40\sim 100\ \mu\text{mol e}^{-}\text{m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ を達成しようとするに $[40\sim 1,000\ \mu\text{mol m}^{-2}]$ のNDH複合体が必要となる¹⁰⁾。Rubiscoの量が $\sim 7\ \mu\text{mol m}^{-2}$ 程であることを考慮すると、見積もられる量のNDHが葉内に存在しているとは考えにくい⁵⁶⁾。これらの計算からNDH複合体の活性では野生型植物で見られるCEF活性のすべてを説明することは、不可能であることが示唆される。

PGR5, PGRL1が関与するCEF活性も*in vitro*のクロロフィル蛍光によって評価される^{9,49,50)}。これもNDHの活性評価と同様に電子がFdを介してPQへと移動するために光合成電子伝達鎖が還元状態となり、クロロフィル蛍光の上昇が起こると考えられている。しかしこのクロロフィル蛍光の上昇の半減期は非常に遅く、回転数に換算すると約 0.035 s^{-1} と見積もられる(表2)⁵⁷⁾。一方で、大腸菌において精製したPGRL1のタンパク質の回転数は $\sim 3\text{ s}^{-1}$ であることが見積もられる(表2)⁵⁰⁾。PGR5欠損シロイヌナズナ変異体、ならびにPGRL1AB欠損シロイヌナズナ変異体においては生育の低下、LEF活性、NPQの誘導が大きく抑制され、PSIにおいては電子の蓄積が確認されている^{9,49)}。しかしながら、PGR5, PGRL1がもつCEF活性は、LEF活性ならびに野生型植物で観測されるCEF活性とは程遠い為、野生型シロイヌナズナと*pgr5*, *pgr1lab*変異体の違いがCEF活性の違いとして説明することはできない。

またFisherとKramer(2014)は、このPGR5依存的CEF活性評価がPQへの電子の伝達ではなくPSIIへの電子の伝達を意味することを明らかとした⁵⁷⁾。ヒドロキシアミンとDCMUを処理したサンプルはPSIIからPQへの電子伝達が抑制されている為、PQにおける電子の蓄積はPSIIから発せられるクロロフィル蛍光に何の影響も与えないことが考えられる。しかしながら、PGR5-dependent CEFと思われるクロロフィル蛍光の上昇は、それらの処理を行った単離葉緑体でも増加することを見出している。つまり、この評価方法による

クロロフィル蛍光の増加は、全くもってPQのredoxの変化ではない。この報告から考えるに、PGR5がCEFに関与する可能性は低い。この主張に関しては以下の論文も参考にしてほしい^{58,59)}。このことを考慮すると新たなPGR5タンパク質の機能の考察が必要であることが示唆される。一方で、Okegawaらは単離葉緑体を用いた実験で、弱光下におけるPGR5依存的なCEFが、光合成定常状態の光合成速度と競合できるほどの活性を持つことを示している⁶⁰⁾。この対立議論の解決のためにも*in vitro*並びに*in vivo*においてLEFとCEFの活性を「速度」にて同時に測定する技術の確立が必要である。また、Okegawaらの報告の中では、野生型シロイヌナズナとPGR5欠損シロイヌナズナから単離した葉緑体は、Fd、NADP⁺存在下で同様のO₂発生速度を示すが、クロロフィル蛍光から見積もるPSIIの量子収率が両植物の間で大きく異なることを見出している⁶⁰⁾。PGR5タンパク質の有無が見せるPSIIに関するこの事実は、PGR5が担う生理学的機能の考察を行うに当たって非常に興味深いものといえる。FisherとKramer(2014)が提唱するように、PGR5がPSIIと相互作用しているのを反映しているのかもしれない。

5. *In vitro*における光合成電子伝達反応とO₂依存的電子伝達活性

高等植物の光合成電子伝達反応には、PSIにおいてO₂が電子のアクセプターとして機能することにより光合成電子伝達反応を促進させるWWC(Mehler-Ascorbate Peroxidase pathway)が存在している^{6,7,61)}。PSIにおいてO₂に電子が供給されると反応性の高いスーパーオキシドアニオン(O₂⁻)が生成されるが、チラコイド膜上または葉緑体ストロマに存在するスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)によって不均化されることによりH₂O₂へと変換され、その後チラコイド膜、ストロマ中に存在するアスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)によってH₂Oへと変換されることにより、無毒化している⁶²⁻⁶⁵⁾。

このO₂依存的電子伝達反応に関しては単離葉緑体を用いた実験が多くなされている。*In vitro*で観測されるO₂還元速度のK_mは $\sim 10\ \mu\text{M}$ と低く、非常に少量のO₂でも反応は進行し、単離葉緑体や単離チラコイド膜を用いて測定されるO₂還元速度は約 $20\ \mu\text{mol O}_2\ (\text{mg Chl})^{-1}\text{ h}^{-1}$ であることが過去に報告されている^{47,61,66-69)}。この速度は単離した葉緑体において電子のアクセプターを

O₂に限定した場合に観測される速度であり、NADP⁺やPGA、HCO₃⁻の存在下では、O₂還元速度は低下する^{47,67,70}。PSI以降に電子のアクセプターが存在するような条件下で、LEF活性に対してO₂の還元活性を比較した場合には~10%程の活性になることが報告されている^{47,67,70}。このことからO₂還元活性はLEFに相当するような高い光合成電子伝達活性とは言えない。

しかしながら、光合成電子伝達反応に与えるO₂の効果は非常に大きい。Schreiber、Neubauerらの単離葉緑体を用いた実験を見てみると、O₂が十分存在する条件下では白色光照射後、葉緑体から発せられる蛍光はNPQの誘導に伴って大きくクエンチングが起こるのに対し、低O₂条件下ではNPQはほとんど誘導されず、クロロフィル蛍光のクエンチングはほとんど確認されない⁵。NPQの大部分はチラコイド膜を介したプロトン勾配(ΔpH)に依存的なqEであることを考慮すると、O₂依存的な経路はH⁺の取り込みに貢献していることが予想される⁷¹。実際に、単離葉緑体においてΔpHの形成を9-アミノアクリジンのクエンチングやElectrochromic shiftにて評価すると、ΔpHの形成は、O₂が存在する条件下で促進されることが確認されている^{69,72,73}。また、O₂はPSIから電子を奪うことで、光合成電子伝達鎖上に電子が過剰に蓄積するのを防ぐ役割があることも報告されている^{67,73,74}。

O₂還元により生成するH₂O₂の消去はAPXにより行われるが、その際に基質としてアスコルビン酸(Asc)が利用され、モノデヒドロアスコルビン酸(MDA)が生じる^{64,65}。MDAはPSIにおいて電子のアクセプターとして機能でき、MDAの還元によるAscの再生は同時に光合成電子伝達反応の促進とH⁺の取り込みに貢献する⁷⁵。FortiとElliの報告では、単離チラコイド膜におけるATP合成活性はO₂のみをPSIの電子のアクセプターとした場合よりもAscを加えたものでは2倍になることが確認されている⁷⁶。このことから葉緑体においては、PSIにおいてO₂に電子を伝達することによって光合成電子伝達活性を向上させるが、さらに発生させたH₂O₂の消去に携わるAscの再生へも電子を伝達することによって、更なる光合成電子伝達活性の促進を起している。

6. 「浅田先生との研究の思い出」 活性酸素消去系からWWCの確立へ：光合成の老廃物であり、細胞毒として有害で厄介者にすぎなかったO₂

へ、光合成にとって不可欠で有益なものであるという概念を与えたUlrich Schreiber博士の功績～京都大学・浅田グループとビュルツブルグ大学・シュライバーグループの融合研究成果～

葉緑体での活性酸素生成は、過剰な光あるいは低CO₂条件などで光エネルギーが余ったときにO₂へエネルギーが逃げるのが原因として認識される。一方で、生成した活性酸素であるH₂O₂は、APXによって継続的に消去されなければ、植物はH₂O₂による酸化障害によって枯死する。この継続的なH₂O₂消去のためにはAPXの基質であるAscが再生されなければならないが、これは過剰な光エネルギーによってなされる。このように、光によって生成した活性酸素が光によって消去されるという合理的なシステムが活性酸素消去系として葉緑体チラコイド膜上に機能していることは、90年代終わりに確立された^{64,65}。一方で、これまで述べてきたように、PSIでのO₂還元が光合成電子伝達反応を誘導し、チラコイド膜ΔpH誘導、そしてNPQ形成に不可欠であることを示し、Mehler反応とAPX反応の光合成における意味を初めて与えたのがビュルツブルグ大学のSchreiber博士であった⁶。事実、O₂が存在すると、あるいは単離葉緑体にH₂O₂を添加すると、クロロフィル蛍光の大幅なクエンチングが確認される⁶。筆者の一人・三宅は、ポスドクでビュルツブルグ大学にて研究していた時、今ではポピュラーになったPAMクロロフィル蛍光解析において、O₂およびH₂O₂が、ドラマティックなクロロフィル蛍光クエンチングを誘導するのを目の当たりにして、葉緑体でのO₂/H₂O₂代謝の魅力に取りつかれた。

The Water-Water Cycleという言葉を用いた最初の論文(Schreiberグループとの共著)は幸いにもPlant Cell Physiology誌に1998年に掲載していただいた⁶¹。そこでは、まさしく、活性酸素消去系にSchreiber博士の概念を取り入れており、O₂のもつ2つの側面を融合したO₂代謝システムを完成させることができた。論文執筆の後半、チラコイド膜上での電子の流れを絵にすると、システムの名前を決める議論を浅田先生と熱くしたことを思い出す。三宅はO₂の魅力に取りつかれていたため「O₂-O₂サイクル」、浅田先生は「Water-Waterサイクル」の名称を提案された。その後、二人の間で多くの議論の後に、電子のオリジナルがPSIIでのH₂OなのでWater-Waterサイクルで行きましょうという浅田先生の結論に至った。この経緯は、浅田先生と二人の

間でなすことができた深い議論をもつ懐かしい思い出であり、そして、Schreiber博士のコンセプトがなかったらWWCという言葉は生まれなかったものである。私こと三宅が、1993年に、浅田先生から、「ピュルツブルグへ行き、日本にはいない光合成のO₂代謝の専門家になりなさい」と言われたことを今でも思い出す（このとき、なぜかしら、誰も行きたがらないので、私にその重大な責任が回ってきたのかなあという雰囲気があった。若い私は、何もわけがわからずその話に調子よく乗ったというのがこの顛末である。しかしながら、そのおかげで、PAM-Chl fluorometerの作製原理とその解析、さらに光合成電子伝達系の酸化還元成分の分光学的解析の原理とその手法をSchreiber博士に熱くご教授いただいたことは幸せなことであった。この貴重かつ稀有な経験は、これまでの私自身のサイエンスの基盤となっている）。

そして、浅田先生およびSchreiber博士の共通なサイエンスの柱は、とにかく、誰も見出していない生理現象に出会いなさいということであった。普段の研究において、三宅自身が実験結果を浅田先生に報告に行くと、「この結果は、○○年に××先生がすでに見出しており、その結果（新規に提唱されたコンセプト）を支持するだけにすぎず、それを提唱した先生が喜ぶだけである」というコメントをいただく始末であった。浅田先生のこだわりは、まさしく、新しい生理現象の発見であった。それを、直属の弟子である学生に求められていた。このような経緯、そしてピュルツブルグ大学でSchreiber博士のもとで学んだ、O₂の見事な役割（これもまた、Schreiber博士が最初に見出したものである）を目の当たりにして、O₂への執着、O₂が関わる生理現象に出会いを求める三宅自身の研究姿勢はこのときに出来上がった。

7. WWCは*in vivo*で機能しているか?

Badgerら（2000）の報告では、高等植物の*in vivo*におけるWWCは、全体の光合成電子伝達活性のわずか~10%ほどしか機能していないことを報告している⁷⁷⁾。実際に、Ruuskaら（2000）ではCalvin cycleと光呼吸に依存した光合成電子伝達活性と、クロロフィル蛍光から見積もる全光合成電子伝達活性とが、直線的な関係となり、O₂濃度を変えた環境やRubiscoの含量を変えた植物を用いた場合においても、この直線関係が維持されることを報告している⁷⁸⁾。またDriever

とBaker（2011）では質量分析システム（MS）を利用し光合成電子伝達反応における¹⁸O₂の還元を測定したが、光合成電子伝達反応におけるO₂の還元はほとんど無視できる程度であり(< 5%)、ほとんど光合成電子伝達反応に寄与しない可能性が報告されている（表1）⁷⁹⁾。Shiraoらは被子植物と裸子植物それぞれにおいてO₂の吸収速度を比較し、前者では~1%程、後者は~10%程の活性であることを報告している（表1）⁸⁰⁾。いずれの報告においても実際にO₂の還元は光合成電子伝達反応中に起きていることが確認されるが、光合成電子伝達活性としては非常に小さい。3分子のATP合成において要求されるH⁺が14個である場合、LEFに加えてAEFは少なくとも約14%駆動しなくてはならないことが予想されるため、WWCのみでATP合成をサポートしているとは言えない。

O₂を利用する光合成電子伝達経路として、Plastid terminal oxidase (PTOX) も挙げるのが可能であるが、PTOXにおける光合成電子伝達活性は0.2~0.25 s⁻¹と見積もられているため、LEF活性と比較するとWWCよりも光合成電子伝達における寄与は低いと考えられる（表2）⁵⁵⁾。

8. 高等植物の光合成電子伝達反応はO₂濃度の影響を受ける ~光合成電子伝達反応におけるO₂の役割は?~

前章で生葉におけるWWC活性は非常に低いという事を述べた。このことは生葉の光合成電子伝達反応におけるWWCの貢献度が低いことを意味するが、光合成電子伝達反応においてO₂は何も影響を与えないわけではない。ClarkeとJohnsonらはCO₂濃度1200ppm、O₂ 21%とCO₂濃度1200ppm、O₂ 2%の条件下において光合成電子伝達活性を評価したところ、2%O₂の条件下では21%O₂の条件下に比べてPSIIの量子収率が低下することを見出している⁸¹⁾。また、Laiskらは1500ppm CO₂条件下においてO₂濃度を21%から2%へと低下させると、PSIのアクセプターサイドにおいて光合成電子伝達反応の制限がかかり、それと同時にLEF活性が低下することを見出している¹⁰⁾。測定時のCO₂濃度が高いことを考慮するとRubiscoにおける光呼吸の影響はほとんどないことが考えられる為、PSIIの量子収率に影響を与えているのは、光呼吸以外のO₂に依存的な光合成電子伝達反応であることが示唆される。またShiraoら報告を見ると、定常状態の光合成におけるO₂

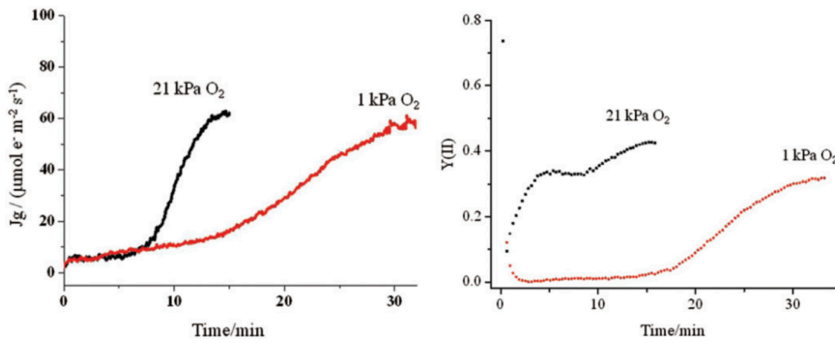


図3 低O₂条件下ではAEF活性が抑制され、光合成の開始が遅延する
 暗所に順応させたイネ（ノトヒカリ）に励起光（442 μ photon m⁻² s⁻¹）を照射した時のJg [Rubisco依存的電子伝達活性（カルボキシレーション速度+オキシゲネーション速度）]と光化学系IIにおける量子収率[Y(II)]の変化。測定は37 Pa CO₂, 21 kPa O₂（黒線）と37 Pa CO₂, 1 kPa O₂（赤線）の条件下において行った。測定において、励起光は測定開始30秒後に照射した（Miyake et al. 2012より引用）²³⁾。

還元活性は低いにも関わらず、飽和光照射時のクロロフィル蛍光の減衰速度はO₂の有無によって大きく変化しており、裸子植物においてはクエンチングの半減期がO₂の無い条件下において約2倍遅延することが見て取れる⁸⁰⁾。この実験は、暗所に適応させた植物に飽和光（~1 s）を照射した場合におけるクロロフィル蛍光のキネティクスを評価しているため、光合成のシンクであるCalvin cycleや光呼吸の影響は無視できると考えられる。つまりこの光合成電子伝達反応において確認されるO₂の影響も、光呼吸以外のO₂依存的な電子伝達反応が存在していることを示唆している。

またMiyakeらはイネを用いた実験において、低O₂条件下では光合成の開始が遅延することを報告している（図3）²³⁾。この報告では暗所に順応させた葉に赤色光を照射すると、大気条件下（40 Pa CO₂, 21 kPa O₂）では約7分後にCO₂固定、並びにRubisco依存的な光合成電子伝達反応（Jg）の開始が確認されるが、低O₂条

件下（40 Pa CO₂, 1 kPa O₂）ではCO₂の固定とJgの開始が確認されるまで約15分かかることが見出された。またこの報告では、大気条件下においてCO₂固定、Jgが開始する以前から、PSII、PSIにおける光合成電子伝達活性が見出されている。一方で低O₂条件下ではCO₂固定、Jg開始前の光合成電子伝達活性は見出されていない。このことから考えるとO₂はRubisco依存的な光合成電子伝達反応が活性化する以前に、AEFの駆動と光合成の開始をサポートする機能があることが示唆される。

生葉におけるWWC活性がLEF活性に比べると低いことが明らかとなったが、これは同時に光合成電子伝達反応におけるO₂の影響を無視しても構わないということと同義ではない（図4）。生理現象としてO₂の効果が確認されているこの段階において、光合成電子伝達反応がなぜO₂濃度の変化に応答するのか？という疑問に関してはまだまだ未知の領域であり、光合成電子伝達反応におけるO₂の生理学的役割、O₂応答の分子メカニズムの解明は、今後、光合成電子伝達反応の制御メカニズムを把握する上で重要な課題の1つであると考えられる。

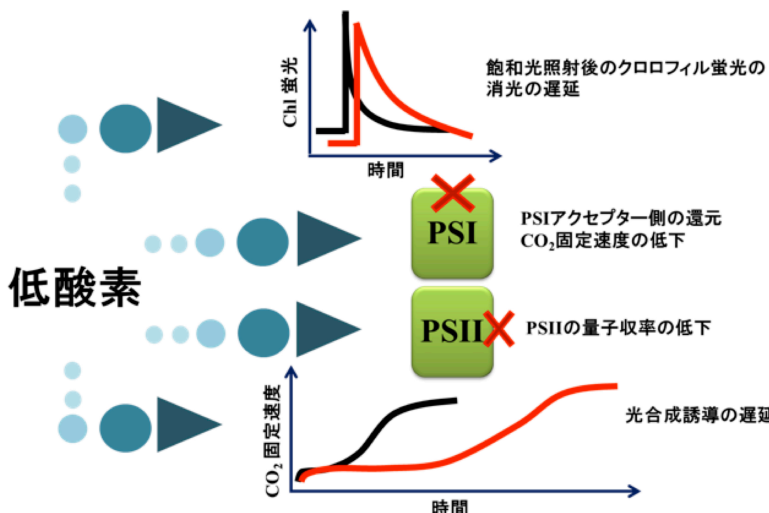
図4 O₂が高等植物の光合成に与える影響

高等植物の生葉において観測されるO₂が光合成に与える影響を取り上げた。ShiraoらはLow O₂条件下では、飽和光照射時に誘導されるクロロフィル蛍光の消光が大気条件下に比べて遅延することを見出している。黒線が大気条件下のクロロフィル蛍光を示し、赤線がLow O₂下のクロロフィル蛍光のキネティクスを示す（Shirao et al. 2013）⁸⁰⁾。

Laiskらは高CO₂条件下においてO₂濃度を低下させるとP700の還元レベルが上昇し、それに伴うCO₂固定速度の低下を見出している（Laisk et al. 2007）¹⁰⁾。

ClarkeとJohnsonは高CO₂条件下でO₂濃度を低下させるとPSIIにおける量子収率が低下することを見出している（Clarke & Johnson 2001）⁸¹⁾。

Miyakeらは低O₂条件下ではPSIIにおける量子収率の低下、ならびに光合成の誘導が遅れることを見出している（Miyake et al. 2012）²³⁾。黒線が37 Pa CO₂, 21 kPa O₂条件下のCO₂固定速度を示し、赤線が37 Pa CO₂, 1 kPa O₂条件下のCO₂固定速度のキネティクスを示す。



8. おわりに

葉緑体においてRubisco非依存的な光合成電子伝達反応の「存在」に関しては生理学的現象をもとにした報告を中心に、徐々に確立されたものになりつつある。しかしながら、その制御メカニズム、生理学的役割、分子メカニズムはほとんど明らかとなっていないといつてよい。今後は野生型植物において確認される各種AEF活性を説明する植物内のコンポーネントの探索が重要になると考えられる。一方で、光合成電子伝達反応の制御を明らかとする上でATP、NADPHの合成と消費のバランス、並びにATP/e-に対する考察も非常に重要である。ATPに関しては前述のように高等植物の葉緑体におけるATPaseが3分子のATPを生成するのに必要なH⁺の数は未だ決定されていない。ATPの合成にATPaseが要求するH⁺の数は、AEFが追加的なH⁺の取り込みをどの程度担うのかどうかに関与する要因である。それと同時にATPaseは代謝による[ATP]/[ADP][Pi]比の変化に応答して、ルーメン側からのH⁺の放出を調整し、光合成電子伝達反応におけるqEの制御に大きく関係する⁸²⁻⁸⁴)。これらの報告から光合成電子伝達反応の制御は、H⁺の取り込みと放出の両方のバランスを考慮しなくてはならない。

NADPHの酸化還元バランスも光合成電子伝達反応に大きく関与する²¹)。NADPHの消費が抑制されると葉緑体内部の代謝におけるATP/NADPHのバランスを崩すこととなり、同時にATPの消費の抑制を誘導する⁸⁵)。これらの報告から、今後は光合成電子伝達反応の制御を代謝との関連を密にして考察していく必要があると考えられる。

謝辞

今回の総説の執筆の機会を頂きました東京大学大学院 野口航准教授に厚く御礼申し上げます。

Received November 16, 2014, Accepted December 3, 2014,
Published December 31, 2014

参考文献

- Miyake, C. (2010) Alternative electron flows (water-water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: molecular mechanisms and physiological functions. *Plant Cell Physiol.* 51, 1951-1963.
- Arnon, D.I., Whatley, F.R. and Allen, M.B. (1955)

- Vitamin K as a cofactor of photosynthetic phosphorylation. *Biochim. Biophys. Acta.* 16, 607-608.
- Arnon, D.I. (1959) Conversion of light into chemical energy in photosynthesis. *Nature* 184, 10-21.
- Tagawa, K., Tsujimoto, H.Y. and Arnon, D.I. (1963) Role of chloroplast ferredoxin in the energy conversion process of photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 49, 567-572.
- Mehler, A.H. (1951) Studies on reactions of illuminated chloroplasts: I. Mechanism of the reduction of oxygen and other hill reagents. *Arch. Biochem. Biophys.* 33, 65-77.
- Schreiber, U. and Neubauer, C. (1990) O₂-dependent electron flow, membrane energization and the mechanism of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Photosynth. Res.* 25, 279-293.
- 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.
- Shikanai, T. (2007) Cyclic electron transport around photosystem I: genetic approaches. *Annu. Rev. Plant Biol.* 58, 199-217.
- 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.
- Laisk, A., Eichelmann, H., Oja, V., Talts, E. and Scheibe, R. (2007) Rates and roles of cyclic and alternative electron flow in potato leaves. *Plant Cell Physiol.* 48, 1575-1588.
- Laisk, A., Talts, E., Oja, V., Eichelmann, H. and Peterson, R.B. (2010) Fast cyclic electron transport around photosystem I in leaves under far-red light: a proton-uncoupled pathway? *Photosynth. Res.* 103, 79-95.
- Heber, U. and Walker, D. (1992) Concerning a dual function of coupled cyclic electron transport in leaves. *Plant Physiol.* 100, 1621-1626.
- Heber, U., Gerst, U., Krieger, A., Neimanis, S. and Kobayashi, Y. (1995) Coupled cyclic electron transport in intact chloroplasts and leaves of C₃ plants: Does it exist? if so, what is its function? *Photosynth. Res.* 46, 269-275.
- Heber, U. (2002) Irrungen, Wurrungen? The Mehler reaction in relation to cyclic electron transport in C₃ plants. *Photosynth. Res.* 73, 223-231.
- Cornic, G., Bukhov, N.G., Wiese, C., Bligny, R. and Heber, U. (2000) Flexible coupling between light-dependent electron and vectorial proton transport in illuminated leaves of C₃ plants. Role of photosystem I-dependent proton pumping. *Planta* 210, 468-477.
- Joliot, P. and Joliot, A. (2005) Quantification of cyclic and linear flows in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102, 4913-4918.
- Joliot, P. and Joliot, A. (2002) Cyclic electron transfer in plant leaf. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99, 10209-10214.
- Joliot, P., Béal, D. and Joliot, A. (2004) Cyclic electron flow under saturating excitation of dark-adapted *Arabidopsis* leaves. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1656, 166-176.
- 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.
20. Klughammer, C., Siebke, K. and Schreiber, U. (2013) Continuous ECS-indicated recording of the proton-motive charge flux in leaves. *Photosynth. Res.* 117, 471-487.
 21. Laisk, A., Eichelmann, H., Oja, V., and Peterson, R.B. (2005) Control of cytochrome *b₆f* at low and high light intensity and cyclic electron transport in leaves. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1708, 79-90.
 22. Hald, S., Nandha, B., Gallois, P. and Johnson, G.N. (2008) Feedback regulation of photosynthetic electron transport by NAD(P)H redox poise. *Biochim. Biophys. Acta* 1777, 433-440.
 23. Miyake, C., Suzuki, Y., Yamamoto, H., Amako, K. and Makino, A. (2012) O₂-enhanced induction of photosynthesis in rice leaves: the Mehler-ascorbate peroxidase (MAP) pathway drives cyclic electron flow within PSII and cyclic electron flow around PSI. *Soil Sci. Plant Nutr.* 58, 718-727.
 24. Fan, D.Y., Nie, Q., Hope, A.B., Hillier, W., Pogson, B.J. and Chow, W.S. (2007) Quantification of cyclic electron flow around Photosystem I in spinach leaves during photosynthetic induction. *Photosynth. Res.* 94, 347-357.
 25. Vershubskii, A.V., Kuvykin, I.V., Priklonskii, V.I. and Tikhonov, A.N. (2011) Functional and topological aspects of pH-dependent regulation of electron and proton transport in chloroplasts *in silico*. *BioSystems* 103, 164-179.
 26. Kuvykin, I.V., Ptushenko, V.V., Vershubskii, A.V. and Tikhonov, A.N. (2011) Regulation of electron transport in C₃ plant chloroplasts *in situ* and *in silico*: Short-term effects of atmospheric CO₂ and O₂. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1807, 336-347.
 27. Miyake, C., Horiguchi, S., Makino, A., Shinzaki, Y., Yamamoto, H. and Tomizawa, K.I. (2005) Effects of light intensity on cyclic electron flow around PSI and its relationship to non-photochemical quenching of Chl fluorescence in tobacco leaves. *Plant Cell Physiol.* 46, 1819-1830.
 28. Miyake, C., Shinzaki, Y., Miyata, M. and Tomizawa, K.I. (2004) Enhancement of cyclic electron flow around PSI at high light and its contribution to the induction of non-photochemical quenching of Chl fluorescence in intact leaves of tobacco plants. *Plant Cell Physiol.* 45, 1426-1433.
 29. Miyake, C., Miyata, M., Shinzaki, Y. and Tomizawa, K.I. (2005) CO₂ response of cyclic electron flow around PSI (CEF-PSI) in tobacco leaves—relative electron fluxes through PSI and PSII determine the magnitude of non-photochemical quenching (NPQ) of Chl fluorescence. *Plant Cell Physiol.* 46, 629-637.
 30. Yamori, W., Sakata, N., Suzuki, Y., Shikanai, T. and Makino, A. (2011) Cyclic electron flow around photosystem I via chloroplast NAD (P) H dehydrogenase (NDH) complex performs a significant physiological role during photosynthesis and plant growth at low temperature in rice. *Plant J.* 68, 966-976.
 31. Leegood R.C., Sharkey T.D. and Von Caemmerer, S. (2000) Photosynthesis: Physiology and Metabolism (Vol. 9) Springer, The Netherlands.
 32. Heber, U., Bukhov, N.G., Neimanis, S. and Kobayashi, Y. (1995) Maximum H⁺/hvPSI stoichiometry of proton transport during cyclic electron flow in intact chloroplasts is at least two, but probably higher than two. *Plant Cell Physiol.* 36, 1639-1647.
 33. Seelert, H., Poetsch, A., Dencher, N.A., Engel, A., Stahlberg, H. and Müller, D.J. (2000) Structural biology: proton-powered turbine of a plant motor. *Nature* 405, 418-419.
 34. Yoshida, K., Watanabe, C.K., Terashima, I. and Noguchi, K. (2011) Physiological impact of mitochondrial alternative oxidase on photosynthesis and growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 34, 1890-1899.
 35. Kramer, D.M. and Evans, J.R. (2011) The importance of energy balance in improving photosynthetic productivity. *Plant Physiol.* 155, 70-78.
 36. Farquhar, G.D., von Caemmerer, S.V. and Berry, J.A. (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149, 78-90.
 37. Eichelmann, H., Oja, V., Peterson, R.B. and Laisk, A. (2011) The rate of nitrite reduction in leaves as indicated by O₂ and CO₂ exchange during photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 62, 2205-2215.
 38. Tikhonov, A.N. (2013) pH-dependent regulation of electron transport and ATP synthesis in chloroplasts. *Photosynth. Res.* 116, 511-534.
 39. Kramer, D.M., Sacksteder, C.A. and Cruz, J.A. (1999) How acidic is the lumen? *Photosynth. Res.* 60, 151-163.
 40. Allen, J.F. (2003) Cyclic, pseudocyclic and noncyclic photophosphorylation: new links in the chain. *Trends Plant Sci.* 8, 15-19.
 41. Johnson, G. N. (2005) Cyclic electron transport in C₃ plants: fact or artefact? *J. Exp. Bot.* 56, 407-416.
 42. Steigmiller, S., Turina, P. and Gräber, P. (2008) The thermodynamic H⁺/ATP ratios of the H⁺-ATP synthases from chloroplasts and *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 105, 3745-3750.
 43. Petersen, J., Förster, K., Turina, P. and Gräber, P. (2012) Comparison of the H⁺/ATP ratios of the H⁺-ATP synthases from yeast and from chloroplast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109, 11150-11155.
 44. Sacksteder, C.A., Kanazawa, A., Jacoby, M.E. and Kramer, D.M. (2000) The proton to electron stoichiometry of steady-state photosynthesis in living plants: a proton-pumping Q cycle is continuously engaged. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97, 14283-14288.
 45. Avenson, T.J., Cruz, J.A. and Kramer, D.M. (2004) Modulation of energy-dependent quenching of excitons in antennae of higher plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101, 5530-5535.
 46. Avenson, T.J., Cruz, J.A., Kanazawa, A. and Kramer, D.M. (2005) Regulating the proton budget of higher plant photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102, 9709-9713.
 47. Furbank, R.T. and Badger, M.R. (1983) Oxygen exchange associated with electron transport and photophosphorylation in spinach thylakoids. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 723, 400-409.
 48. Hashimoto, M., Endo, T., Peltier, G., Tasaka, M. and Shikanai, T. (2003) A nucleus-encoded factor, CRR2, is

- essential for the expression of chloroplast *ndhB* in Arabidopsis. *Plant J.* 36, 541-549.
49. DalCorso, G., Pesaresi, P., Masiero, S., Aseeva, E., Schünemann, D., Finazzi, G., Joliot, P., Barbato, R. and Leister, D. (2008) A Complex Containing PGRL1 and PGR5 Is Involved in the Switch between Linear and Cyclic Electron Flow in Arabidopsis. *Cell* 132, 273-285.
 50. Hertle, A.P., Blunder, T., Wunder, T., Pesaresi, P., Pribil, M., Armbruster, U. and Leister, D. (2013) PGRL1 is the elusive ferredoxin-plastoquinone reductase in photosynthetic cyclic electron flow. *Molecular Cell* 49, 511-523.
 51. 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.
 52. Yamamoto, H., Peng, L., Fukao, Y. and Shikanai, T. (2011) An Src homology 3 domain-like fold protein forms a ferredoxin binding site for the chloroplast NADH dehydrogenase-like complex in Arabidopsis. *Plant Cell* 23, 1480-1493.
 53. Sazanov, L.A., Burrows, P.A. and Nixon, P.J. (1998) The plastid *ndh* genes code for an NADH-specific dehydrogenase: isolation of a complex I analogue from pea thylakoid membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95, 1319-1324.
 54. Gotoh, E., Matsumoto, M., Ogawa, K.I., Kobayashi, Y. and Tsuyama, M. (2010) A qualitative analysis of the regulation of cyclic electron flow around photosystem I from the post-illumination chlorophyll fluorescence transient in Arabidopsis: a new platform for the in vivo investigation of the chloroplast redox state. *Photosynth. Res.* 103, 111-123.
 55. Trouillard, M., Shahbazi, M., Moyet, L., Rappaport, F., Joliot, P., Kuntz, M. and Finazzi, G. (2012) Kinetic properties and physiological role of the plastoquinone terminal oxidase (PTOX) in a vascular plant. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1817, 2140-2148.
 56. Makino, A., Shimada, T., Takumi, S., Kaneko, K., Matsuoka, M., Shimamoto, K., Nakano, H., Miyao-Tokutomi, M., Mae, T. and Yamamoto, N. (1997) Does decrease in ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase by antisense RbcS lead to a higher N-use efficiency of photosynthesis under conditions of saturating CO₂ and light in rice plants? *Plant Physiol.* 114, 483-491.
 57. Fisher, N. and Kramer, D.M. (2014) Non-photochemical reduction of thylakoid photosynthetic redox carriers in vitro: Relevance to cyclic electron flow around photosystem I? *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1837, 1944-1954.
 58. Nandha, B., Finazzi, G., Joliot, P., Hald, S., and Johnson, G. N. (2007) The role of PGR5 in the redox poisoning of photosynthetic electron transport. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1767, 1252-1259.
 59. Livingston, A.K., Cruz, J.A., Kohzuma, K., Dhingra, A. and Kramer, D. M. (2010) An Arabidopsis mutant with high cyclic electron flow around photosystem I (hcef) involving the NADPH dehydrogenase complex. *Plant Cell* 22, 221-233.
 60. Okegawa, Y., Kagawa, Y., Kobayashi, Y., and Shikanai, T. (2008) Characterization of factors affecting the activity of photosystem I cyclic electron transport in chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 49, 825-834.
 61. Miyake, C., Schreiber, U., Hormann, H., Sano, S. and Asada, K. (1998) The FAD-enzyme monodehydroascorbate radical reductase mediates photoproduction of superoxide radicals in spinach thylakoid membranes. *Plant Cell Physiol.* 39, 821-829.
 62. Hayakawa, T., Kanematsu, S. and Asada, K. (1984) Occurrence of Cu, Zn-superoxide dismutase in the intrathylakoid space of spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 25, 883-889.
 63. Ogawa, K.I., Kanematsu, S., Takabe, K. and Asada, K. (1995) Attachment of CuZn-superoxide dismutase to thylakoid membranes at the site of superoxide generation (PSI) in spinach chloroplasts: detection by immuno-gold labeling after rapid freezing and substitution method. *Plant Cell Physiol.* 36, 565-573.
 64. Miyake, C. and Asada, K. (1992) Thylakoid-bound ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts and photoreduction of its primary oxidation product monodehydroascorbate radicals in thylakoids. *Plant Cell Physiol.* 33, 541-553.
 65. Miyake, C. and Asada, K. (1994) Ferredoxin-dependent photoreduction of the monodehydroascorbate radical in spinach thylakoids. *Plant Cell Physiol.* 35, 539-549.
 66. Asada, K., Kiso, K. and Yoshikawa, K. (1974) Univalent reduction of molecular oxygen by spinach chloroplasts on illumination. *J. Biol. Chem.* 249, 2175-2181.
 67. Heber, U., Egneus, H., Hanck, U., Jensen, M. and Köster, S. (1978) Regulation of photosynthetic electron transport and photophosphorylation in intact chloroplasts and leaves of *Spinacia oleracea* L. *Planta* 143, 41-49.
 68. Takahashi, M.A. and Asada, K. (1982) Dependence of oxygen affinity for Mehler reaction on photochemical activity of chloroplast thylakoids. *Plant Cell Physiol.* 23, 1457-1461.
 69. Hormann, H., Neubauer, C. and Schreiber, U. (1994) An active Mehler-peroxidase reaction sequence can prevent cyclic PS I electron transport in the presence of dioxygen in intact spinach chloroplasts. *Photosynth. Res.* 41, 429-437.
 70. Egneus, H., Heber, U., Matthiesen, U. and Kirk, M. (1975) Reduction of oxygen by the electron transport chain of chloroplasts during assimilation of carbon dioxide. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 408, 252-268.
 71. Müller, P., Li, X.P. and Niyogi, K.K. (2001) Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiol.* 125, 1558-1566.
 72. Ziem-Hanck, U. and Heber, U. (1980) Oxygen requirement of photosynthetic CO₂ assimilation. *Biochem. Biophys. Acta.* 591, 266-274.
 73. Takagi, D., Yamamoto, H., Amako, K., Makino, A., Sugimoto, T. and Miyake, C. (2012) O₂ supports 3-phosphoglycerate-dependent O₂ evolution in chloroplasts from spinach leaves. *Soil Sci. Plant Nutr.* 58, 462-468.
 74. Hormann, H., Neubauer, C., Asada, K. and Schreiber, U. (1993) Intact chloroplasts display pH 5 optimum of O₂-reduction in the absence of methyl viologen:

- indirect evidence for a regulatory role of superoxide protonation. *Photosynth. Res.* 37, 69-80.
75. Forti, G. and Ehrenheim, A.M. (1993) The role of ascorbic acid in photosynthetic electron transport. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* 1183, 408-412.
76. Forti, G. and Elli, G. (1996) Stimulation of photophosphorylation by ascorbate as a function of light intensity. *Plant Physiol.* 112, 1509-1511.
77. Badger, M.R., von Caemmerer, S., Ruuska, S. and Nakano, H. (2000) Electron flow to oxygen in higher plants and algae: rates and control of direct photoreduction (Mehler reaction) and rubisco oxygenase. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 355, 1433-1446.
78. Ruuska, S.A., Badger, M.R., Andrews, T.J. and Von Caemmerer, S. (2000) Photosynthetic electron sinks in transgenic tobacco with reduced amounts of Rubisco: little evidence for significant Mehler reaction. *J. Exp. Bot.* 51, 357-368.
79. Driever, S.M. and Baker, N.R. (2011) The water-water cycle in leaves is not a major alternative electron sink for dissipation of excess excitation energy when CO₂ assimilation is restricted. *Plant Cell Environ.* 34, 837-846.
80. Shirao, M., Kuroki, S., Kaneko, K., Kinjo, Y., Tsuyama, M., Förster, B., Takahashi, S. and Badger, M.R. (2013) Gymnosperms have increased capacity for electron leakage to oxygen (Mehler and PTOX reactions) in photosynthesis compared with angiosperms. *Plant Cell Physiol.* 54, 1152-1163.
81. Clarke, J.E., and Johnson, G.N. (2001) In vivo temperature dependence of cyclic and pseudocyclic electron transport in barley. *Planta* 212, 808-816.
82. Kanazawa, A. and Kramer, D.M. (2002) In vivo modulation of nonphotochemical exciton quenching (NPQ) by regulation of the chloroplast ATP synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99, 12789-12794.
83. Takizawa, K., Kanazawa, A. and Kramer, D.M. (2008) Depletion of stromal Pi induces high 'energy-dependent' antenna exciton quenching (qE) by decreasing proton conductivity at CF₀-CF₁ ATP synthase. *Plant Cell Environ.* 31, 235-243.
84. Kohzuma, K., Dal Bosco, C., Kanazawa, A., Dhingra, A., Nitschke, W., Meurer, J. and Kramer, D.M. (2012) Thioredoxin-insensitive plastid ATP synthase that performs moonlighting functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109, 3293-3298.
85. Livingston, A.K., Kanazawa, A., Cruz, J.A. and Kramer, D.M. (2010) Regulation of cyclic electron flow in C₃ plants: differential effects of limiting photosynthesis at ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Plant Cell Environ.* 33, 1779-1788.

The evaluation of alternative electron flow (AEF) activity based on the kinetic parameters, and the physiological role of O₂-dependent AEF in plants

Daisuke Takagi, Chikahiro Miyake*

Graduate School of Agricultural Science, Kobe University

報告記事

若手の会活動報告

～サイエンスアゴラ2014への出展～

立命館大学 生命科学部 生命情報学科
浅井 智広

例年通りであれば、秋は若手の会では予定している活動が最も多い時期です。メーリングリストでもご案内させていただいた通り、今年は秋に開催していた合宿形式セミナーを12月初旬の冬開催に変更しました。この変更により今秋の若手の会の活動は、ここ数年で若手の会の主要な活動のひとつになった「サイエンスアゴラ」への出展に絞りました。サイエンスアゴラは日本科学技術振興機構（JST）が主催する、一般向けの大規模な科学コミュニケーションイベントです。今年は「あなたと創るこれからの科学と社会」をテーマに11月7日から9日までの三日間の予定で開催されました。

若手の会では、若手研究者のアウトリーチ能力の向上を目指して、出展者側としてサイエンスアゴラに参加しています。2011年から毎年出展しており、今回で通算4回目となりました。今回は『一緒に考えよう！「光合成でつくる未来」』と題した出展企画が採択されました。イベント初日である11月7日は主催者側が選ぶ限られた企画のみが出展されることになっていましたが、私たちの出展企画はこれに選ばれ、最も人通りの多い日本科学未来館のブースで三日間出展することができました。周りは大学や国立の研究所などのアウトリーチ活動への支援が充実した機関が多数出展していましたが、私たちのブースもそれらに負けないほどの集客があり、終始盛況な出展となりました。詳しい活動内容は、後の報告記事をご覧ください。

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。現場の研究を推進している研究者が若い気持ちで交流することは、学際性の強い光合成研究では絶対不可欠であると思います。興味を持たれた方は、お気軽にご参加ください。また、この記事を読んでいた先生方には、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若手の会への参加をお勧めいただければ幸いです。ご不明な点などがあれば、遠慮無く浅井（cazai@fc.ritsumei.ac.jp）までご連絡ください。皆さんのご参加をお待ちしています。



報告記事

サイエンスアゴラ2014 “一緒に考えよう！「光合成でつくる未来」” 出展報告

¹筑波大学 生命環境系²大阪市立大学 複合先端研究機構³東京大学 大学院理学系研究科⁴立命館大学 生命科学部¹辻 敬典 ²川上 恵典 ³溝上 祐介 ⁴浅井 智広

サイエンスアゴラとは

サイエンスアゴラは、科学技術振興機構（JST）が主催する「科学と社会をつなぐ広場をつくる」ことを目指して始まった交流イベントです。具体的には、研究者やサイエンスコミュニケーターが科学に関する展示や講演を行うことで、来場者や他の出展者と交流を深めます。若手の会としては、サイエンスアゴラをアウトリーチ活動のノウハウを養う場として位置付けて2011年から参加しており、今年で4回目の出展となりました。例年のサイエンスアゴラは2日間の開催でしたが、今年は11月7日（金）から9日（日）までの3日間開催となり、7日（金）はJST関係者やプレスを主な対象とした特別出展日でした。幸いなことに、我々若手の会は主催者であるJSTから依頼があり、特別出展日である7日にも出展することができました。若手の会は、2012年にアゴラ賞を受賞するなど、過去のアゴラ出展で高い評価を受けています。そのような過去の活動も評価されて7日の特別出展日にも呼ばれたのだと思います。

今年の出展の方針

今年サイエンスアゴラでは、「あなたと創るこれからの科学と社会」という全体テーマが掲げられました。科学と社会を関連付けるには、応用研究を語る事が最も簡単です。しかし、今回の私たちの出展では、一般の方々に光合成についての基礎知識や最先端の研究を知ってもらうことを第一の目標とし、その上で応用研究についても紹介するという出展内容にしました。研究者が社会の要請に答えることは重要ですが、科学的なリテラシーが欠如した状態の社会の要請で科学研究の方向性が決まってしまうことは危険です。そのため研究者である我々が、光合成に関する知識と光合成研究の最先端を社会に知ってもらう

ことを重視しました。主催者であるJST側も研究者による情報発信を重視しており、今年サブテーマの一つとして「科学はどこまで進歩しているのか？」というテーマが設定されていました。このように、JSTの求める方針と我々の方針が一致したことも、特別出展日に呼ばれた理由のひとつだと考えられます。

出展の概要

今年も昨年の出展を踏襲しつつ、新しい試みをいくつか始めました。デモ実験では昨年と同様に、小型のスペクトル測定装置を用い、光合成色素がどのような色を吸収するのかということを知りやすく解説しました。これと合わせて、薄層クロマトグラフィー（TLC）による光合成色素の展開の実験も行い、クロロフィルを始めとする光合成色素の機能や、光の吸収のしくみについて解説しました。これらのデモ実験は、抽出したクロロフィルやTLCで展開された光合成色素など、光合成生物が持つ美しい色が来場者の興味を引くためか、多くの人が足を止めて見てくれました。見て「美しい」と思うだけではなく、クロロフィルが吸収する色を、スペクトル測定装置のデータを見てもらうことで、光の吸収プロセスについて理解を深めてもらいました。また、光合成生物の多様性



を知ってもらうために、様々な光合成生物の培養展示と顕微鏡観察を行いました。これも昨年と同様に盛況でした。目に見えない藻類を実際に見てもらい、陸上植物だけではなく、様々な生物が光合成していることを実感してもらえたと思います。

展示での新たな取り組みとしては、光化学系IIおよびIやRubiscoなど、光合成で重要な役割を果たすタンパク質の立体模型を3Dプリンターで作製し、展示しました。3D模型については、来場者はもちろんのこと、出展者である若手の会のメンバーや別ブースの研究者の方が興味津々で、Rubiscoの模型を手に取り反応中心はどこであるかなど、様々な議論が起きました。立体構造については教科書よりも3D模型の方が圧倒的に理解しやすく、サイエンスアゴラのようなアウトリーチの場だけではなく、大学での授業など様々な場で使えると実感しました。また、今年は光合成のしくみについて解説したパネル（2枚）に加え、人工光合成やバイオ燃料生産などの応用研究に焦点をあてたパネルを新たに1枚加えました。バイオ燃料生産や人工光合成については、たくさんの方が興味を持っており非常に多くの質問をもらいました。光合成の産業利用については、実用化へのハードルは高いものの、化石燃料への依存から脱却するための重要な研究であることを解説しました。

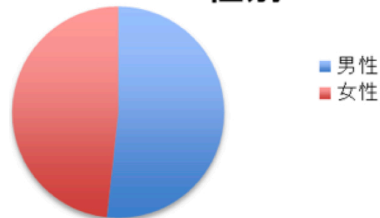
もう一つの新たな試みとして、統一感を出すためにオリジナルデザインのユニフォームT-シャツを作製し、それを着用して出展を行いました。出展者が同じユニフォームを着ることで、来場者が容易に出展者を判別でき、声をかけやすくなるというメリットがあります。T-シャツのデザインは、前面に葉緑体のイラストが、背面にはPSII酸素発生中心の「歪んだ椅子」に地球が乗っているイラストがプリントされています。背面のイラストは、地球上の生物が酸素発生型光合成に依存していることを意図したものです。このオリジナルT-シャツにはまだ在庫があるため、欲しい方は浅井 (cazai@fc.ritsumei.ac.jp) までご一報ください。



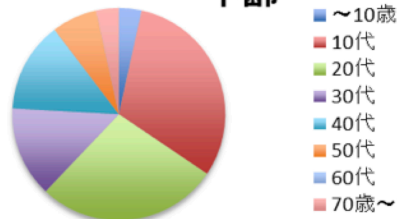
反省と今後の展望

アンケートの結果によると、昨年と同様に老若男女問わず幅広い層の来場者が訪れてくれました。アンケートの「勉強になったか」という問いに対しては、回答者の3/4以上が「とてもそう思う」と回答しており、単に「楽しい」「おもしろい」出展ではなく、光合成や我々の研究に関して知識を深めてもらうことができたと思います。当初から目指してきた「アウトリーチ活動のノウハウを養う」という目標に関しても、過去4年間の出展経験が個々のアウトリーチ活動へとフィードバックされつつあります。実際に、出展者の一人は、自身の大学でのアウトリーチ活動にアゴラで行った実験（カラムクロマトグラフィーによる色素の分析）を取り入れました。今回のアゴラにおいても、出展メンバーの間でデモ実験のコツや生物材料の入手法に関して情報交換が行われ、着実にアウト

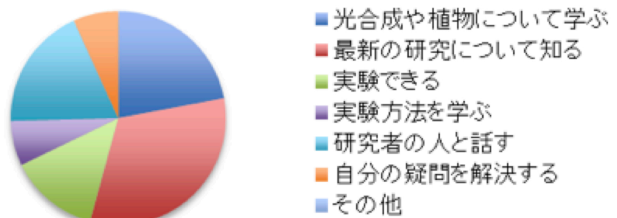
性別



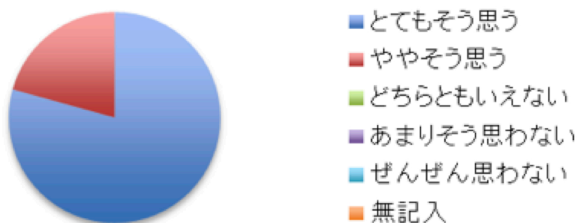
年齢



出展への期待



勉強になった



リーチのノウハウが養われていることを実感しました。

一方、反省点としては、サイエンスアゴラに出展することを若手の会の皆さんへ周知することが遅れてしまい、出展者として参加する方が限られてしまったことが挙げられます。私たちは、アゴラをアウトリーチ活動の試行錯誤の場であるとしてとらえているので、来年のアゴラはメーリングリストやSNSを使って学生や若手研究者に広く声を呼びかけ、多くの人のアイデアをもとに新たな展示や実験に挑戦していきたいと考えています。

来場者アンケートによると、私たちの出展に期待することとして、回答者の約30%が「最新の研究について知る」という項目を、約20%が「研究者の人と話す」という項目を選択していました。研究者が最新の研究を紹介するというスタンスは我々も重視しており、あくまで研究者の集団としてのアウトリーチ活動を行っていくつもりです。時間やお金をより多くつぎ込めばよりよい出展になることは間違いないのですが、そのために自分自身の研究がおろそかになっては元も子もありません。普段から研究に携わっている研究者自らが、自分の研究について語ることにこ

そ意義があります。今後もその点を意識し、研究者として良い研究を行い、それをアゴラなどのイベントを通して社会に発信していくことを目指していきたいと思えます。

謝辞

今回の出展にあたり、多くの方々にご協力いただきました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

国立環境研究所 志村遥平博士（珪藻アートプレパラートの提供）

静岡大学 成川礼講師（事前準備、当日の運営）

東京大学 榎本元、前田海成、吉野宏明、渡辺麻衣博士（事前準備、当日の運営）

東京工業大学 清水隆之（光合成細菌の提供、当日の運営）

基礎生物学研究所 大西紀和博士（当日の運営）

浅井歩（ユニフォームTシャツのデザイン）

以上、敬称略

事務局からのお知らせ

2014年5月31日総会において報告しました会員数の動向および承認を受けました2013年度決算と2014年度予算です。

1. 会員数動向

2013年12月末日の会員数

個人会員	363 (360)
賛助会員	7 (7)
計	370 (367)

()内は2012年12月末の会員数

入退会者数

入会	個人会員	41
	賛助会委員	1
	計	42
退会	個人会員	38
	賛助会委員	1
	計	39

2. 2013年度決算報告

収入の部

	予算	決算	差異
会費収入	900,000	808,500	-91,500
年会黒字分	0	168,636	168,636
計	900,000	977,136	77,136

支出の部

	予算	決算	差異
会報印刷費	600,000	974,756	-374,756
通信運搬費	110,000	103,550	6,450
若手の会補助金	30,000	30,000	0
サイエンスアゴラ出展補助	0	25,570	-25,570
学協会費	10,000	10,000	0
振り込み手数料	10,000	8,900	1,100
その他印刷費	30,000	27,000	3,000
雑費	5,000	4,977	23
年会シンポジウム準備金	0	0	0
計	795,000	1,184,753	-389,752

第4回年会シンポジウム収支決算

	予算	決算	差額
年会シンポジウム準備金	0	0	0
シンポジウム出展料	200,000	200,000	0
年会参加費	170,000	232,000	62,000
懇親会会費	240,000	289,000	49,000
収入合計	610,000	721,000	110,000
シンポジウム要旨集		0	
ポスター賞副賞		15,000	
会場使用料		256,020	
ポスターパネル使用料		0	
雑費		26,344	
懇親会支出		255,000	
一般会計へ戻入		168,636	
支出合計		721,000	
収支		0	

2013年日本光合成学会収支決算

収入の部 合計	977,136
支出の部 合計	1,184,753
差額 (次年度繰り越し金)	-207,617

3. 2014年度収支予算

収入の部

	本年度予算	前年度決算	差異
会費収入	810,000	808,500	1,500
シンポジウム出展料	350,000	200,000	150,000
年会参加費	160,000	232,000	-72,000
懇親会費	240,000	289,000	-49,000
収入合計	1,560,000	1,529,500	30,500

支出の部

	本年度予算	前年度決算	差異
会報印刷費	700,000	974,756	-274,756
通信運搬費	110,000	103,550	6,450
若手の会補助金	30,000	30,000	0
学協会費	10,000	10,000	0
サイエンスアゴラ出展料	0	25,570	-25,570
振り込み手数料	10,000	8,900	1,100
その他印刷費	30,000	27,000	3,000
シンポジウム要旨集	57,100	0	57,100
光合成事典PDF化	190,730	0	190,730
ポスター賞副賞他	40,000	41,344	-1,344
会場使用料	0	256,020	-256,020
ポスターパネル使用料	273,000	0	273,000
懇親会支出	240,000	255,000	-15,000
雑費	5,000	4,977	23
支出合計	1,695,830	1,737,117	-41,287

2014年日本光合成学会予算収支

収入の部	1,560,000
支出の部	1,695,830
差額（次年度繰り越し金）	-135,830

★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（ゼロイチキョウと入力）、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。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、会費を納入ください。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。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。

編集後記

今号は、2014年5月31日の光合成学会公開シンポジウム「活性酸素研究の歩み」でご講演していただいた方に、「浅田浩二先生を偲んで」という特集に執筆していただきました。浅田先生の思い出も含めて執筆していただきましたが、いかがだったでしょうか。浅田先生が行ってこられた研究がさまざまな分野で発展していることに、あらためて驚きを感じました。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@bs.s.u-tokyo.ac.jpまで是非お知らせください。

次号から、私から埼玉大学の西山佳孝さんに編集長が交替いたします。2年間6号分という短い間でしたが、大変お世話になりました。執筆していただいた方々、編集委員の方々、田中歩会長、鹿内利治事務局長をはじめ常任幹事の方々には、大変お世話になりました。敬称を略させていただきますが、特集を組んでいただいた方々、伊藤昭彦、遠藤剛、佐藤直樹、鹿内利治、田中歩、寺島一郎、西山佳孝、お忙しいなか査読をしてくださった方々、明石欣也、小山耕平、坂本亘、鹿内利治、園池公毅、田副雄士、壇浦正子、橋本昌司、蜂谷卓士、原田二郎、平田竜一、三宅親弘、村上明男、吉田啓亮、和田元、本当にありがとうございました。

＜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@bs.s.u-tokyo.ac.jp) までご連絡ください。

「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24巻 第3号 (通巻71号) 2014年12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(ゼロイチキョウと入力)、当座、0730290

名前 : ニホンコウゴウセイガツカイ
