

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

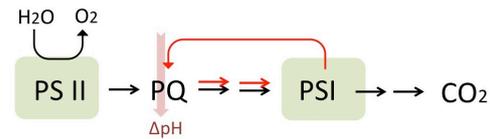
いての解析が大きく進展した。ただシロイヌナズナやタバコの葉緑体には、PGR5に依存したバイパス¹¹⁾があるため、NDH欠損株でも表現型がはっきりしなかった¹²⁾。一方、ATP要求性の高いC4植物では、NDH経路による循環的電子伝達の寄与が大きいようである¹³⁾ (後述)。植物葉緑体のNDHの構造に関しては、葉緑体ゲノムに見発見された11個の遺伝子がコードするサブユニット以外に、多数のサブユニット遺伝子とサブユニットではないがNDH活性に必須なポリペプチドの遺伝子が核にコードされていることが近年になって見出されている。Ifukuらの総説¹⁴⁾では、研究グループ毎に独自に命名していたサブユニット名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

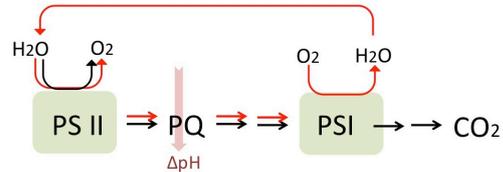


図1 光リン酸化反応としてのWWCとCET

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に参与しているかは、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ざるをえない。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)。

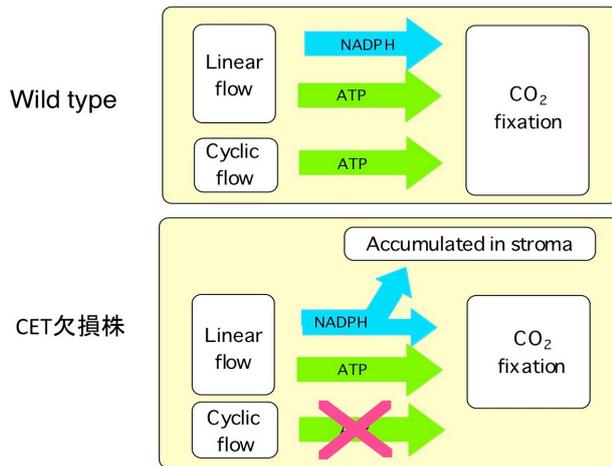


図2 CET欠損によるストロマへの還元力の蓄積を説明するための仮説

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