

光合成研究

第27巻 第3号 (通巻80号) 2017年12月
NEWS LETTER Vol. 27 NO. 3 December 2017

THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

日本光合成学会 次期会長選挙 開票結果報告	147
研究紹介 温泉微生物マット内におけるクロロフィル <i>f</i> の生態学的役割	
大久保 智司 (東京農工大)	148
研究紹介 光合成能強化シロイヌナズナにおける C/N 代謝調節機構	
大鳥 久美 他 (近畿大)	155
解説 光化学系の光環境適応とその進化的な制約 —緑藻の光化学系をモデルとして—	
高林 厚史 (北海道大)	163
解説 微細藻類によるバイオ燃料生産の量的考察—光合成と増殖速度、必要なエネルギー量—	
都筑 幹夫 (東京薬科大)	172
解説特集 「光合成の水の酸化機構と電子伝達」	180
序文	
杉浦 美羽 (愛媛大)	181
解説 光合成水分解反応の赤外分光解析	
中村 伸 (名古屋大)	182
解説 光化学系 II 表在性タンパク質の分子進化と酸素発生における役割	
伊福 健太郎 (京都大)	191
特別企画 第二回「アメリカで研究するということ」	
山本 治樹 (Indiana Univ.)	201
報告記事 若手の会の会長交代のご報告、新会長のご挨拶	
榎本 元 (東京大) 清水 隆之 (東京大)	205
報告記事 「新光合成&光合成若手の会 ジョイント若手ワークショップ」開催報告	
辻 敬典 (関西学院大)	206
報告記事 「Farquhar 教授京都賞受賞記念 光合成機能の環境応答とモデリング」	
ワークショップ 参加報告 河野 優 (東京大)	207
報告記事 The 8th International Conference “Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability – 2017” 参加報告	
門田 かなえ (神戸大)	210
事務局からのお知らせ	212
日本光合成学会会員入会申込書	213
日本光合成学会会則	214
幹事会名簿	216
編集後記・記事募集	217
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2017 年度役員	218
賛助法人会員広告	

日本光合成学会 次期会長選挙 開票結果報告

「日本光合成学会会則 (平成 21 年 6 月 1 日施行) 第 5 条」に基づき、平成 29 年 9 月 30 日消印有効で実施しました日本光合成学会次期会長選挙 (任期:平成 31 年 1 月 1 日から平成 32 年 12 月 31 日) につきまして、10 月 2 日に開票した結果を、以下の通りお知らせいたします。

投票総数 66 票、有効票数 65 票、無効票数 1 票

鹿内利治会員 35 票、久堀徹会員 22 票

2 票獲得の会員 2 名、1 票獲得の会員 4 名

この結果、鹿内利治会員が次期会長に当選されましたので、ご報告いたします。
なお、開票には、西山佳孝選挙管理委員会副委員長が立ち会いました。

平成 29 年 10 月 4 日

日本光合成学会選挙管理委員会

委員長 埼玉大学大学院理工学研究科 日原由香子

研究紹介

温泉微生物マット内におけるクロロフィル *f* の生態学的役割

東京農工大学 グローバルイノベーション研究院
大久保 智司*

一部のシアノバクテリアがもつクロロフィル (Chl) *f* は遠赤色光 (FR) を吸収し、FR だけを照射したときにのみ産生される。本研究では自然環境中における Chl *f* の分布と役割を明らかにすることを目的とした。中房温泉で採取した厚さ約 7 mm の微生物マット内部では FR が優占しており、表面から 4.0–6.5 mm の深さでのみ Chl *f* が検出された。同じ層に分布していた 2 種の *Leptolyngbya* spp. は Chl *f* 産生能をもち FR 照射下で増殖した。以上の結果から、微生物マットの下層は Chl *f* 産生シアノバクテリアのニッチの一つであり、Chl *f* は PAR がほとんどない環境での生存に寄与していると考えられた。

1. はじめに

光の色は光合成生物のニッチ分化や棲み分けを引き起こす最も重要な環境要因の一つであり、自然環境中では光のスペクトルが光合成生物の分布や種組成を決定づけることがある。様々な光色に適応して多様化した色素組成や光合成装置の違いが、このようなニッチ分化を可能にしている。例えば *Acaryochloris* 属のシアノバクテリアは、波長 700–750 nm の遠赤色光 (FR) を吸収するクロロフィル (Chl) *d* を主要色素としている。ある群体ボヤの体腔内には Chl *a* と *b* をもつシアノバクテリア *Prochloron* spp. が共生しているが、その下面に *Acaryochloris* spp. が付着しているのが発見された。群体ボヤを透過した光は Chl *a* と *b* の吸収によって波長 400–700 nm の光合成有効放射 (PAR) が大きく減衰していたが、FR は下面まで到達していたため、*Acaryochloris* はこの残存する FR を光合成に利用していると考えられた¹⁾。

Chl *f* は近年新たに発見された色素で、 Q_y 帯の吸収極大が FR 領域に存在する²⁾。これまでに複数種の Chl *f* 産生シアノバクテリアが報告されており、その系統関係も生息場所も様々である³⁾。既知の Chl *f* 産生シアノバクテリアは常に Chl *f*

をもつわけではなく、FR だけを照射して培養したときには Chl *f* をつくるが、他の単色光や白色光下では Chl *f* が検出限界以下まで減少する^{4–7)}。そのため自然環境中での「Chl *f* の分布」は「Chl *f* 産生能をもつシアノバクテリアの分布」とは必ずしも一致せず、FR が優占する場所、例えば土壤中、林冠や植物群落の下、微生物マット、水圏の微細藻類ブルームの下などに限られると予想された⁸⁾。実際、オーストラリアの洞窟やビーチロック表面のバイオフィームから Chl *f* が検出されている^{9,10)}。

微生物マット内に届く光のスペクトルはこれまで様々な研究者によって測定された^{11–14)}。どのマットでも PAR はシアノバクテリアや光合成細菌に吸収されるため表面から数ミリメートルで急激に減少したが、波長 700 nm 以上の光は下層でも残っていた。そこで、微生物マットの下層と表層では Chl *f* 産生シアノバクテリアと他の光合成生物のニッチ分化が起きていると予想された。本研究では微生物マット内における光スペクトル、色素、微生物の鉛直分布を調べることで、マット内での Chl *f* の分布と Chl *f* の生態学的役割を明らかにすることを目的とした¹⁵⁾。

*連絡先 E-mail: s_ohkubo@me.com

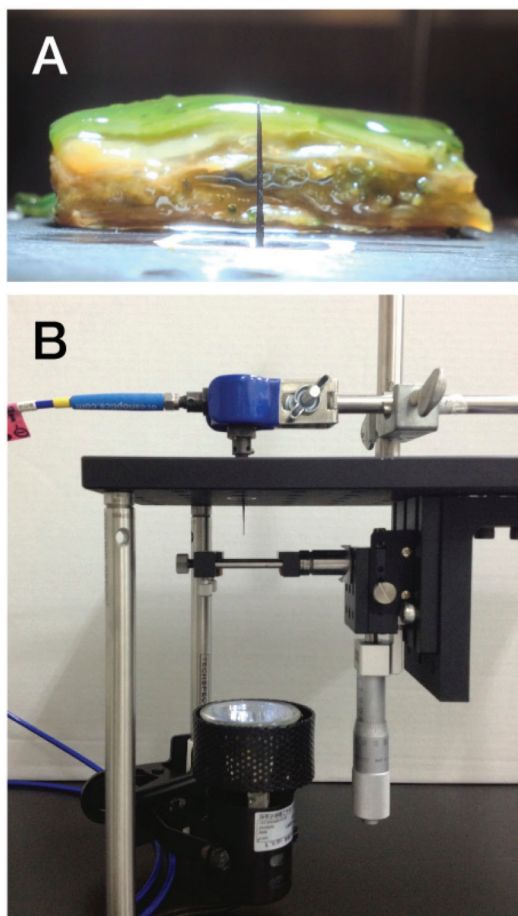


図1. 微生物マットの断面とマット内の光環境測定装置 (A) マット Nb3 の鉛直方向断面。(B) マット内の光スペクトルを測定するための装置。

2. 微生物マットの採取

微生物マットは単一あるいは複数の微生物と細胞から分泌された基質から成る絨毯状の構造体で、攪乱の少ない安定した環境で形成されやすい。温泉は温度や水質が長期間一定に維持されることや、特定の温度帯に適応した生物しか侵入できないことから、安定した厚いマットが形成されていることが多い。実験の性質上できるだけ厚い微生物マットが必要であったため、様々な温泉地でマットの探索を行い、その中から長野県にある中房温泉に着目した。

中房温泉にある砂防ダムの壁面の一部には源泉から湧出した温泉水が常に流下しているため、シアノバクテリアを含む厚い微生物マットが存在することが知られている^{16,17}。2012年10月13–14日に開催された光合成学会若手の会第七回セ

ミナーに参加して中房温泉を訪れ、そこで採取したマットサンプルを本研究の実験に用いた。実験に用いたサンプル Nb3 と Nb4 は互いに約 10 cm 離れた場所から切り出したもので、厚さはそれぞれ約 7 mm と約 4 mm、現場の温度はそれぞれ 49.9°C と 46.8°C であった。サンプルは遮光して常温で研究室に持ち帰り、すぐに 4°C の冷蔵庫に入れた。2日後に分離・培養用に一部を切り取った後は、他の実験を行うまで -20°C で保存した。

3. 光と色素の鉛直分布

マット内の光環境を明らかにするため Pierson らの方法¹¹) に倣って装置を作製し、マット Nb3、Nb4 内の透過率スペクトルを深さ 0.5 mm ごとに測定した (図 1B)。得られた透過率スペクトルと、2012年7月17日10:00に中房温泉で測定した太陽光放射スペクトルを用いて各深度での下向き放射光量子束密度スペクトルを計算した。先行研究と同様、どちらのマットでも内部で PAR が急激に減少したのに対し、Chl *f* が吸収する波長 700–750 nm の FR は深いところでも比較的多く残っていた (図 2)。太陽光放射スペクトルは 400–900 nm の範囲でほぼ一定であったが、マット内では複数の減衰ピークが見られた。これらのピークは、その波長から Chl *a* (440、678 nm)、フィコビリナンパク質 (588、615 nm)、バクテリオクロフィル (BChl) *a* (802、880 nm)、および BChl *c* (742 nm) の吸収によるものと考えられる。

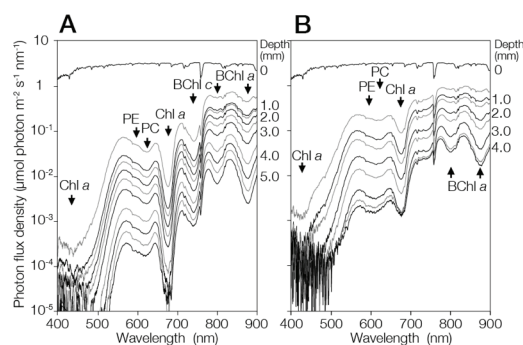


図2. 微生物マット Nb3 と Nb4 内の深度別下向き放射スペクトル (A) Nb3、(B) Nb4。0.5 mm 毎に測定。矢印は光合成色素による減衰ピークを示す。Ohkubo and Miyashita (2017)¹⁵)を改変。

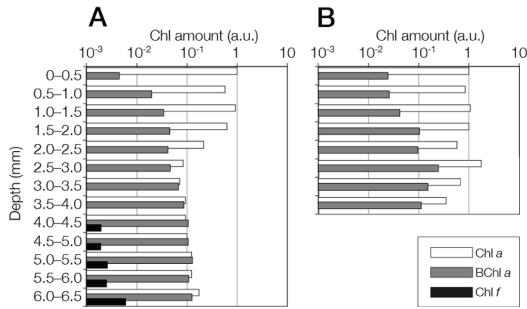


図3. 微生物マットNb3とNb4に含まれるクロロフィルの鉛直分布 (A) Nb3、(B) Nb4。0.5 mm厚に切り出した各切片について色素解析を行った。Ohkubo and Miyashita (2017)¹⁵⁾を改変。

クロロフィルの鉛直分布を明らかにするため、色素解析を行った。各サンプルを2%アガロースゲルに包埋して直径19 mmの円柱状に切り抜いたものを-20°Cで凍結し、マイクロームを用いて0.5 mmの厚さに切り出した。切片を凍結乾燥した後メタノールで色素を抽出し、逆相HPLCによって分析した。Chl a、fおよびBChl aのピーク面積から表層(0-0.5 mm)のChl a量を1として相対量を計算した。マットNb3内のChl a量は表面で最も多く、深くなるほど少なくなり、BChl aは逆に深くなるほど量が多くなった。Chl fは深さ4.0 mmよりも下層でのみ検出され、同じ層内に含まれるChl aの1.9-3.4%であった(図3A)。Nb4では、各深度のChl a量は表層の35.2-176%の間で変動し、BChl aは深くなるにつれて増加したが、Chl fはどの深さでも検出されなかった(図3B)。以上の結果から、下層にChl fが分布する微生物マットが存在することが明らかとなった。

4. シアノバクテリアの鉛直分布

マットNb3内に存在するシアノバクテリアの鉛直分布を明らかにするため、顕微鏡観察とPCR-DGGE(変性剤濃度勾配ゲル電気泳動)解析を行った。マットを鉛直方向に切って観察すると、色の異なる4つの層が観察された(図1A、図4A)。表層は明るい緑色で、2層目は光沢のある白と茶色が混じり合っており、3層目は暗い緑色、4層目は2層目と似た色の層であった。蛍光顕微鏡(UV励起)で観察すると、赤い自家蛍光は表面付

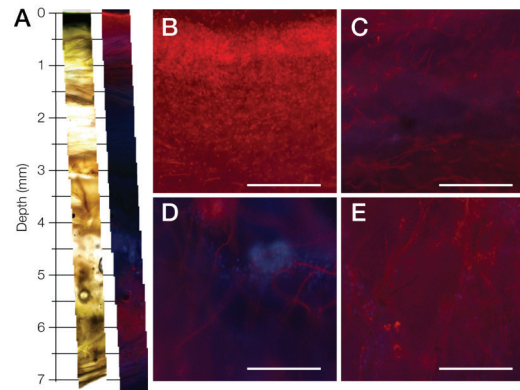


図4. 微生物マットNb3の鉛直方向断面の顕微鏡観察像 (A) マット全体の明視野顕微鏡像(左)と蛍光顕微鏡像(右)。(B-D) マット内の蛍光顕微鏡像。(B) 0-0.2 mm、(C) 0.4-0.7 mm、(D) 4.8-5.0 mm、(E) 6.4-6.7 mm。スケールバーは100 μm。Ohkubo and Miyashita (2017)¹⁵⁾を改変。

近に最も強く観察された(図4A)。表層には球形(直径0.8-3 μm)および桿状~長桿状(短径0.8-1 μm×長径5-30 μm)の単細胞シアノバクテリアが高密度で分布していた(図4B、C)。赤色蛍光は深くなるほど弱くなったが、深さ4.0-7.0 mmの層には弱い赤色蛍光が広がっていた。ここでは、細い糸状細胞(直径1-3 μm×長さ>100 μm)が互いに絡み合っているのが観察された(図4D、E)。

色素抽出後の深度別切片からDNAを抽出し、シアノバクテリア16S rDNA特異的プライマーを用いてPCR-DGGEを行った。深さ0-4.0 mmからは2本のDGGEバンド(C3、C4)が検出されたが、4.0 mm以深ではさらに2本のバンド(C1、C2)が濃く検出された(図5A)。バンドC1-C4の塩基配列を決定して系統関係を推定したところ、C1とC2は糸状シアノバクテリア*Leptolyngbya* spp.と、C3とC4は単細胞シアノバクテリア*Synechococcus* spp.と近縁であったが、それぞれ互いには系統的に離れていた(図6)。これは顕微鏡観察の結果と一致しており、Nb3内では表面から真ん中の層(0-4.0 mm)に2種の単細胞シアノバクテリア*Synechococcus* spp.が優占し、下層(4.0-7.0 mm)には2種の糸状シアノバクテリア*Leptolyngbya* spp.が優占することがわかった。一方、マットNb4ではNb3で検出された2種の*Synechococcus* (C3、C4)に加えて、

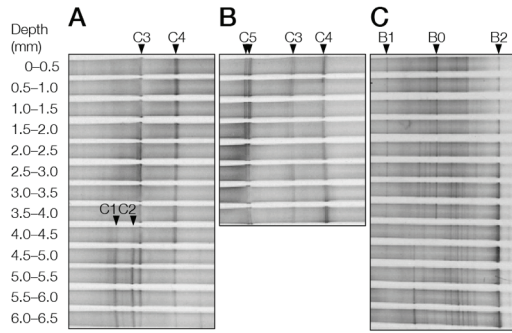


図5. 微生物マット Nb3 と Nb4 内に存在する微生物の鉛直分布 (A) Nb3、(B) Nb4 内のシアノバクテリア群集構造。(C) Nb3 内のバクテリア群集構造。Ohkubo and Miyashita (2017)¹⁵を改変。

Thermosynechococcus elongatus BP-1 と近縁なもう1種のシアノバクテリア (C5) が検出されたが、*Leptolyngbya* のバンド (C1、C2) はどの深さからも検出されなかった (図 5B)。

Nb3 内で *Chl f* と *Leptolyngbya* spp. が検出された深さが一致すること、Nb4 ではどちらも検出され

なかったことを合わせて考えると、Nb3 の下層で *Chl f* をつくっているのはこれら2種の糸状シアノバクテリアのどちらか、あるいは両方であることが示唆された。

5. 分離されたシアノバクテリア

マット Nb3 内に存在するシアノバクテリアの生理学的な特性を明らかにするため、分離・培養を試みた。サンプルを BG11 培地に懸濁して FR-LED 照射下、22°C もしくは 35°C の条件で培養したところ、糸状シアノバクテリア 2 株 (Nb3F1、Nb3F2) と桿状の単細胞シアノバクテリア 1 株 (Nb3U1) が得られた。Nb3F1 株の 16S rDNA 塩基配列は DGGE バンド C1 と一致し (100%、386/386)、Nb3F2 は C2 と (97.2%、344/354)、Nb3U1 は C3 と (99.2%、381/384) それぞれ近縁であった (図 6)。分子系統解析の結果と形態的特徴から、Nb3F1 と Nb3F2 をどちらも *Leptolyngbya* sp. とし、Nb3U1 を *Synechococcus* sp. とした。これら分離株を白色光 (WL)、FR 照射下 (どちらも

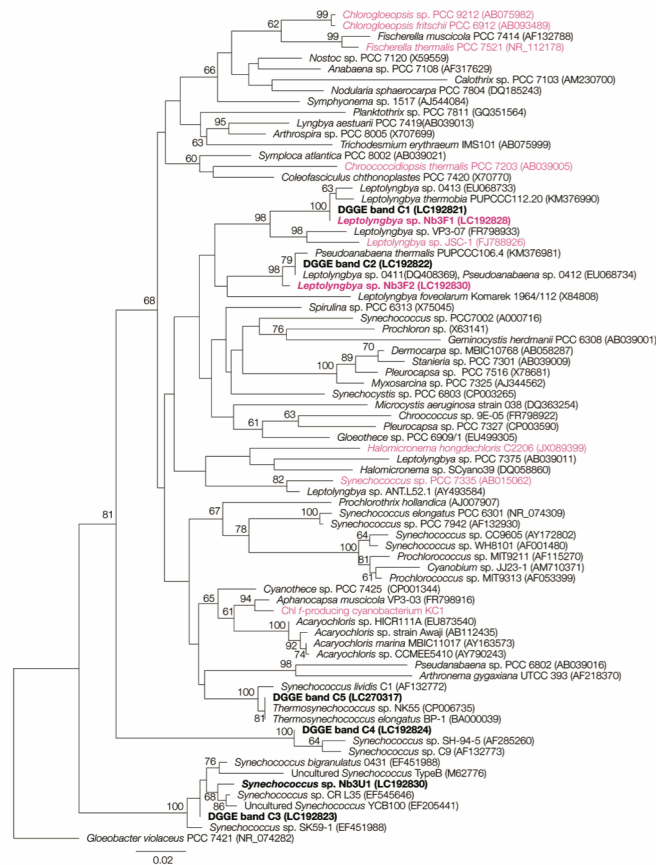


図 6. シアノバクテリアの系統関係本研究で得られた配列および既知のシアノバクテリアによる 16S rDNA 最尤系統樹

太字は PCR-DGGE バンドと分離株。ピンク色の文字は *Chl f* 産生シアノバクテリア。ブートストラップ値は 60% 以上のみ示す。Ohkubo and Miyashita (2017)¹⁵を改変。

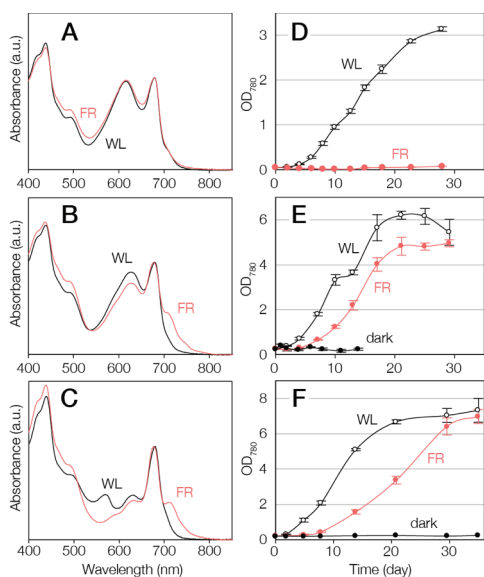


図7. シアノバクテリア分離株の吸収スペクトルと増殖曲線 (A) Nb3U1、(B) Nb3F1、(C) Nb3F2の細胞の吸収スペクトル。黒はWL、ピンクはFRで培養。(D) Nb3U1、(E) Nb3F1、(F) Nb3F2の増殖曲線。白丸はWL、ピンクはFR、黒丸は暗所で培養。Ohkubo and Miyashita (2017)¹⁵⁾を改変。

110 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で培養すると、*Leptolyngbya* spp.の2株 (Nb3F1、Nb3F2) はFR下でのみChl *f*を蓄積しどちらの光条件でも増殖が見られた (図7B、C、E、F)。一方、*Synechococcus* sp. Nb3U1はFR照射してもChl *f*を蓄積せず、WL下でのみ増殖が見られた (図7A、D)。以上の結果から、マットNb3内の下層で検出されたChl *f*は少なくとも2種の*Leptolyngbya* spp.によってつくられており、これらの糸状シアノバクテリアは下層に届くFRを利用して増殖あるいは生存していると考えられた。

6. マットに共存する光合成細菌

中房温泉の微生物マットには非酸素発生型の光合成細菌も多く存在することが知られている。マットNb3でもBChl *a*と*c*の吸収が見られたことから (図2A)、バクテリア16S rDNAユニバーサルプライマーを用いてPCR-DGGEを行った。その結果、DGGEバンドC3 (*Synechococcus* sp.) と同じ配列のバンド (B0) に加え、既知の光合成細菌と近縁な2つのバンド (B1、B2) が検出された (図5C)。バンドB1は*Chloracidobacterium*

thermophilum のA、E、S株 (96.6%、515/533) やB株 (96.1%、512/533) と近縁で、B2は*Roseiflexus castenholzii* DSM 13941の配列と100%一致した (534/534)。*C. thermophilum* はイエローストーン国立公園 (アメリカ合衆国) の温泉で発見された単細胞の好気性の光合成細菌で、BChl *a*と*c*を含み、745 nmに吸収極大をも¹⁸⁾。*R. castenholzii*は中房温泉の微生物マットから分離された糸状細菌で、嫌気条件で光があるとき光従属栄養的に生育する。BChl *a*をもつがBChl *c*とクロモソームを欠き、801と878 nmに吸収極大をもつ¹⁹⁾。DGGEバンドの濃さとマット内の光スペクトルから、*Chloracidobacterium* sp.は表層 (0-4.0 mm) に、*R. castenholzii*は下層 (3.0-6.5 mm) に多く存在すると考えられた。したがって、マットNb3の内部には利用する光の波長が異なる4種類の光合成生物、*Synechococcus* (Chl *a*)、*Leptolyngbya* (Chl *a+f*)、*Chloracidobacterium* (BChl *c+a*)、*Roseiflexus* (BChl *a*)が存在することがわかった。これらは互いに光の競合を避けることで、それぞれの生育に適した深度に分布し、同じマットの中で共存できていると考えられる (図8)。

7. おわりに

本研究の結果は、利用する光の色の違いによって起こるニッチ分化の新たな一例を示した。中房温泉で採取した微生物マットNb3の内部では、Chl *f*が下層にのみ分布していることが明らかとなった。そこに分布するChl *f*産生シアノバクテリア*Leptolyngbya* spp.は、PARのほとんどない環境で残存するFRをChl *f*によって吸収することで増殖 (あるいは生存) していることが示唆された。ただし、これらの結果は微生物マット内の一時的な状況を見たものに過ぎず、Chl *f*産生シアノバクテリアがマットの発達に伴ってどのように増減するのか、FRに順化するための遺伝子群がどのように発現するのか、今後の研究によって明らかにする必要がある。

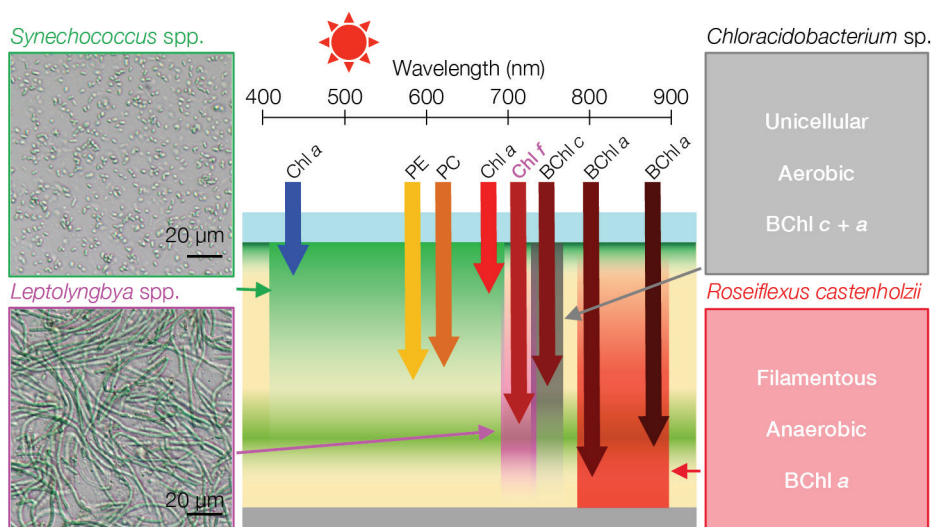


図 8. 微生物マット Nb3 内に存在する光合成微生物の棲み分け

謝辞

我この研究の一部は科研費 (21257005) の支援を受けて行われた。本研究をまとめるにあたり、多くのご助言をいただいた京都大学の宮下英明教授に感謝の意を表す。温泉微生物マットの採取にご協力いただいた首都大学東京の松浦克美教授、大滝宏代博士、岩田聡美さん、分光光度計をお貸しいただいた埼玉大学の日原由香子准教授にもこの場を借りて厚く御礼申し上げる。2012年の「日本光合成学会若手の会第七回セミナー」に参加して中房温泉を訪れたことで、本研究の実験に適した微生物マットサンプルを得ることができただけでなく、刺激的な議論や意見を交わすことができた。当時の若手の会会長および幹事の皆様、一緒に参加いただいた方々および若手の会の全メンバーに深く感謝したい。また、執筆の機会を与えてくださった日本光合成学会および編集委員の皆様にお礼を申し上げる。

Received Oct 30, 2017; Accepted Nov 7, 2017; Published Dec 31, 2017

参考文献

1. Kuhl, M., Chen, M., Ralph, P.J., Schreiber, U. and Larkum, A.W.D. (2005) A niche for cyanobacteria containing chlorophyll *d*. *Nature* 433, 820.
2. Chen, M., Schliep, M., Willows, R.D., Cai, Z.-L., Neilan, B.A. and Scheer, H. (2010) A red-shifted chlorophyll. *Science* 329, 1318–1319.
3. Ohkubo, S. (2016) シアノバクテリアがもつクロロフィルの A to F. *藻類* 64, 102-106.
4. Chen, M., Li, Y., Birch, D. and Willows, R.D. (2012) A cyanobacterium that contains chlorophyll *f* - A red-absorbing photopigment. *FEBS Lett.* 586, 3249–3254.
5. Miyashita, H., Ohkubo, S., Komatsu, H., Sorimachi, Y., Fukayama, D., Fujinuma, D., Akutsu, S. and Kobayashi, M. (2014) Discovery of chlorophyll *d* in *Acaryochloris marina* and chlorophyll *f* in a unicellular cyanobacterium, strain KC1, isolated from Lake Biwa. *J. Phys. Chem. Biophys.* 4, 149.
6. Airs, R.L., Temperton, B., Sambles, C., Farnham, G., Skill, S.C. and Llewellyn, C. (2014) Chlorophyll *f* and chlorophyll *d* are produced in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis fritschii* when cultured under natural light and near-infrared radiation. *FEBS Lett.* 588, 3770–3777.
7. Gan, F., Zhang, S., Rockwell, N.C., Martin, S.S., Lagarias, C. and Bryant, D.A. (2014) Extensive

- remodeling of a cyanobacterial photosynthetic apparatus in far-red light. *Science* 345, 1312–1317.
8. Gan, F. and Bryant, D.A. (2015) Adaptive and acclimative responses of cyanobacteria to far-red light. *Environ. Microbiol.* 17, 3450–3465.
 9. Behrendt, L., Brejnrod, A., Schliep, M., Sørensen, S.J., Larkum, A.W. and Kühl, M. (2015) Chlorophyll *f*-driven photosynthesis in a cavernous cyanobacterium. *ISME J.* 9, 2108–2111.
 10. Trampe, E. and Kühl, M. (2016) Chlorophyll *f* distribution and dynamics in cyanobacterial beachrock biofilms. *J. Phycol.* 52, 990–996.
 11. Pierson, B.K., Sands, V.M. and Frederick, J.L. (1990) Spectral irradiance and distribution of pigments in a highly layered marine microbial mat. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 2327–2340.
 12. Boomer, S.M., Pierson, B.K., Austinhirst, R. and Castenholz, R.W. (2000) Characterization of novel bacteriochlorophyll-*a*-containing red filaments from alkaline hot springs in Yellowstone National Park. *Arch. Microbiol.* 174, 152–161.
 13. Kühl, M. and Fenchel, T. (2000) Bio-optical characteristics and the vertical distribution of photosynthetic pigments and photosynthesis in an artificial cyanobacterial mat. *Microb. Ecol.* 40, 94–103.
 14. Ferris, M.J., Kühl, M., Wieland, A. and Ward, D.M. (2003) Cyanobacterial ecotypes in different optical microenvironments of a 68°C hot spring mat community revealed by 16S-23S rRNA internal transcribed spacer region variation. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 2893–2898.
 15. Ohkubo, S. and Miyashita, H. (2017) A niche for cyanobacteria producing chlorophyll *f* within a microbial mat. *ISME J.* 11, 2368–2378.
 16. Nakagawa, T. and Fukui, M. (2002) Phylogenetic characterization of microbial mats and streamers from a Japanese alkaline hot spring with a thermal gradient. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 48, 211–222.
 17. Kubo, K., Knittel, K., Amann, R., Fukui, M. and Matsuura, K. (2011) Sulfur-metabolizing bacterial populations in microbial mats of the Nakabusa hot spring, Japan. *Syst. Appl. Microbiol.* 34, 293–302.
 18. Tank, M. and Bryant, D.A. (2015) Nutrient requirements and growth physiology of the photo-heterotrophic Acidobacterium, *Chloracidobacterium thermophilum*. *Front. Microbiol.* 6, 1–14.
 19. Hanada, S., Takaichi, S., Matsuura, K. and Nakamura, K. (2002) *Roseiflexus castenholzii* gen. nov., sp. nov., a thermophilic, filamentous, photosynthetic bacterium that lacks chlorosomes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52, 187–193.

The ecological role of chlorophyll *f* in a hot spring microbial mat

Satoshi Ohkubo

Institute of Global Innovation Research, Tokyo University of Agriculture and Technology

研究紹介

光合成能強化シロイヌナズナにおける C/N 代謝調節機構[§]

近畿大学農学部バイオサイエンス学科
大鳥 久美*、田部 記章、田茂井 政宏、重岡 成

植物は様々な環境変化に応答するために栄養状態を感知し、成長をコントロールしている。その中でも、炭素代謝物と窒素代謝物の相対量比 (C/N バランス) を感知・制御する機構が知られているが、その詳細については未だ不明な部分が多い。我々はカルビン回路で機能するラン藻由来フルクトース-1,6-/セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ (FBP/SBPase) を葉緑体で発現させることによって、光合成能が増大し、生育促進が見られることを明らかにしてきた。成育の促進には炭素に加えて窒素も必要になることから、CO₂ 固定能の上昇により窒素代謝系が活性化されていることを示唆している。本稿では、葉緑体で FBP/SBPase を発現させることで光合成能を強化した形質転換シロイヌナズナにおける窒素代謝物量および関連遺伝子発現量を成育段階別に野生株と比較し、C/N 代謝調節機構について考察した。

1. はじめに

植物は太陽の光エネルギーを利用して、大気中の二酸化炭素 (C) を取り込み、デンプンや糖などを生合成する。また根から NH₄⁺もしくは NO₃⁻の形で窒素 (N) を取り込む。取り込まれた C と N は、タンパク質や核酸、脂質、多くの二次代謝物などの生合成へと利用される。そのため、植物は C と N それぞれ個別の代謝調節機構に加えて、細胞内の C と N の相対量比 (C/N バランス) を調節する能力を備えているが¹⁾、その制御機構には不明な部分が多く残されている。C/N バランスがどのように制御されているのか、またどのように生長や物質代謝を制御しているのかを詳細かつ包括的に理解することは、植物の代謝生理学の理解を深めるだけでなく、生産性の向上を目指す上でも極めて重要であると思われる (図 1)。

これまで、C/N バランス制御に関わる研究が多数行われている¹⁻¹¹⁾。最近では、発芽後の C/N 状

態の感知や制御に Ring-H2 タイプのユビキチンリガーゼ (ATL31) が関与していること¹²⁾、植物ホルモンであるアブシジン酸のシグナルと C/N バランス制御機構がクロストークしていることが報告されている¹³⁾。しかし、これらは外部か

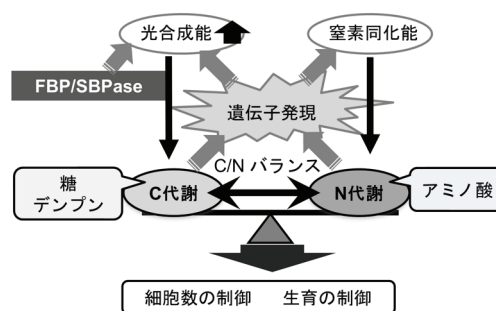


図 1. C/N バランス制御システム

FBP/SBPase 発現により光合成能を強化した植物では、C 代謝が向上し糖やデンプンが増加する。植物では成長にとって必要な C 代謝と N 代謝のどちらかに極端に傾くことなく、均衡を保ちながら最良の状況を判断して成長している。光合成強化植物では、C/N バランスを保つべく、N 代謝能が向上すると考えられる。

[§]第 4 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: nb_otori@nara.kindai.ac.jp

ら炭素源および窒素源を施肥、もしくは制限することによって見られる遺伝子発現変化や酵素活性の影響を解析しているため、生育に伴った制御ではない可能性も拭いきれない。

当研究室において、ラン藻 *Synechococcus elongatus* PCC7942 (S.7942) のカルビン回路で機能するフルクトース-1,6-セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ (FBP/SBPase) を葉緑体で発現させた形質転換植物 (タバコ、レタス) は、光合成 CO₂ 固定能が上昇し、生育促進、収量増大が見られた¹⁴⁻¹⁷⁾。光合成 (C 代謝) だけを強化しているにもかかわらず、生殖成長期で野生株よりも植物が大きくなるということは、これらの植物では窒素代謝も向上していると考えられる。つまり、炭素代謝の強化が引き起こす窒素代謝向上のメカニズムを明らかにすれば、C/N バランス制御機構の一端が明らかになると思われる。本稿では、FBP/SBPase を葉緑体で発現させたシロイヌナズナを用いて、炭素・窒素代謝産物量および関連遺伝子発現量を生育段階別に解析し、C/N 代謝調節機構について考察した研究成果について紹介する¹⁸⁾。

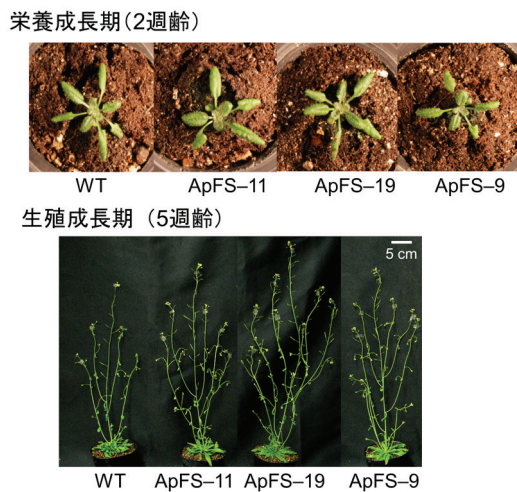


図 2. FBP/SBPase を葉緑体で発現させたシロイヌナズナ

FBP/SBPase を葉緑体内で恒常的に発現させたシロイヌナズナ (ApFS) は、2 週齢の栄養成長期 (上) では野生株 (WT) と比べて差は認められなかったが、5 週齢の生殖成長期 (下) では WT と比較して成長が促進していた。Otori et al. (2017)¹⁸⁾ を改変。

2. FBP/SBPase 発現シロイヌナズナ ApFS の生育と光合成活性

FBP/SBPase を恒常的に発現させたシロイヌナズナ (ApFS) は、野生株 (WT) と比較して FBPase 活性が 1.4–2.6 倍に上昇していた。100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上の光強度では、ApFS の光合成活性は WT の 1.1–1.6 倍に上昇していた。それに伴い、5 週齢の生殖成長期においては ApFS の茎数、ロゼッタ葉の数が増加していたが、2 週齢の栄養成長期では WT と明らかな表現型の違いは認められなかった (図 2)。

3. ApFS 株における炭素代謝変化

栄養成長期の ApFS では、光合成活性の上昇に伴ってデンプン量が増加していた。一方、生殖成長期の ApFS では、デンプン量に加えてショ糖量

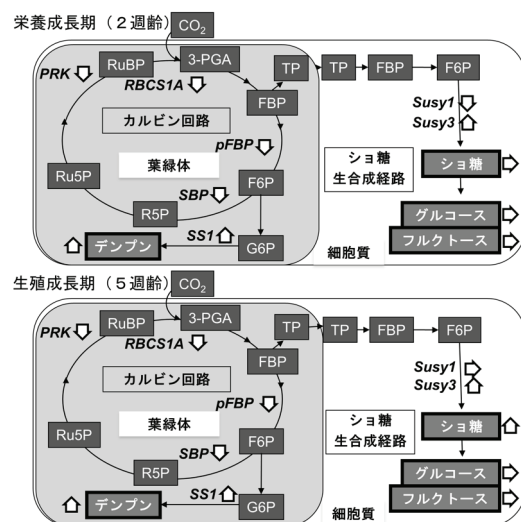


図 3. 栄養成長期および生殖成長期の ApFS における糖量および C 代謝関連酵素遺伝子発現量の変化

WT に対する ApFS の増減を模式的に示した。白字は C 代謝物、黒斜体字は酵素遺伝子を示す。Otori et al. (2017)¹⁸⁾ を改変。F6P; fructose 6-phosphate, FBP; fructose 1,6-bisphosphate, G6P; glucose 6-phosphate, 3-PGA; 3-phosphoglycerate, R5P; ribose 5-phosphate, Ru5P; ribulose 5-phosphate, RuBP; ribulose 1,5-bisphosphate, TP; triose phosphate, *p*FBP; *plastid-localized fructose-1,6-bisphosphatase*, PRK; *phospho-ribulokinase*, RBCS1A; *ribulose bisphosphate carboxylase small chain 1A*, SBP; *sedoheptulose-1,7-bisphosphatase*, SS; *starch synthase*, Susy; *sucrose synthase*

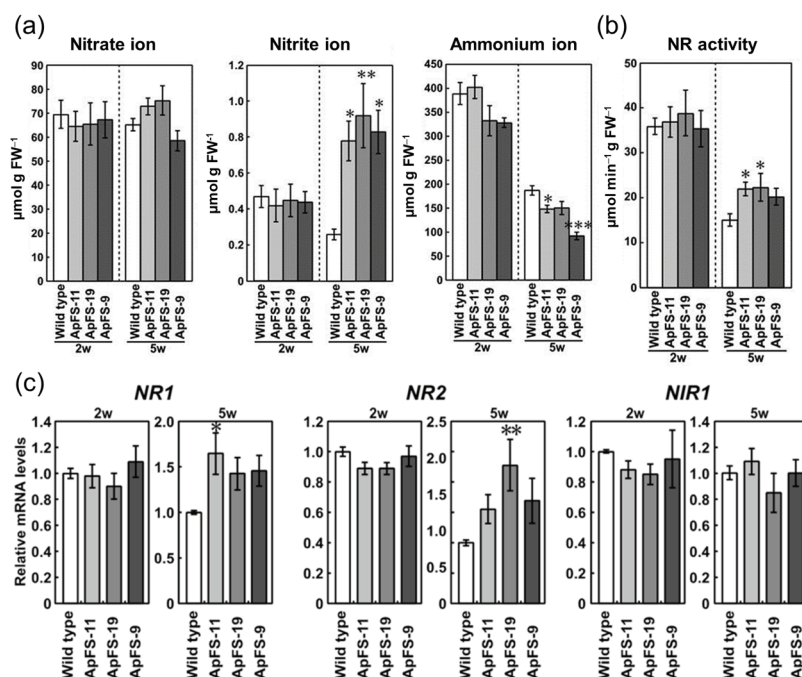


図4. 栄養成長期および生殖成長期の窒素同化に関わる代謝物量、酵素活性および遺伝子発現量
WTとApFSの葉における (a) 硝酸イオン、亜硝酸イオンおよびアンモニウムイオン量、(b) NR活性、
(c) 硝酸同化関連酵素遺伝子発現量。Otori et al. (2017)¹⁸⁾を改変。

も増加していた (図3)。また栄養成長期、生殖成長期を通してApFSではカルビン回路関連酵素遺伝子の発現量が抑制されていた (図3)。これは、光合成産物であるデンプンとショ糖の蓄積によって、一時的にカルビン回路関連遺伝子がフィードバック制御されたと考えられる。しかしながら、活性レベルではカルビン回路関連酵素に違いは認められなかった。また、Rubiscoの活性化率は上昇しており、基質であるRuBPも増加していた。これらのことから、光合成活性の上昇にはRubisco活性化率の上昇とRuBP増加が必要であることが改めて示唆された^{14-16), 18)}。

4. ApFSにおける窒素代謝変化

栄養成長期および生殖成長期いずれにおいても、ApFSとWTとの間に全炭素/全窒素比に有意な差は認められなかったが、栄養成長期のApFSでは多数の遊離アミノ酸が減少していた。これらの結果から、ApFSでは炭素代謝能の促進により窒素代謝が大きく変化していることが予想された。そこで、栄養成長期および生殖成長期におけ

る窒素代謝に関わる酵素活性、遺伝子発現量、代謝産物量を比較した。

栄養成長期のApFSでは硝酸同化関連の代謝物、酵素活性および遺伝子発現量に大きな変化は認められなかったが、生殖成長期のApFSでは硝酸還元酵素 (NR) の活性および遺伝子発現量が増加していた (図4)。また、ApFSでは栄養成長期および生殖成長期いずれにおいても亜硝酸還元酵素 (NIR) の遺伝子発現量に変化は認められず、それに伴い亜硝酸イオン量が増加し、アンモニウムイオン量が減少していた (図4)。

次に、C代謝物からアミノ酸合成への最初のステップであるグルタミンおよびアスパラギン合成に関わる酵素活性、遺伝子発現量、代謝産物量を比較した。栄養成長期のApFSでは、野生株と比較してグルタミン量が減少、生殖成長期には増加していた (図5a)。

栄養成長期および生殖成長期いずれにおいてもApFSとWT間でグルタミン合成酵素 (GS) の活性に有意な差は見られなかった (図5b)。プラスチド型GS遺伝子 (*GLN1;2*) 発現量は栄養成長

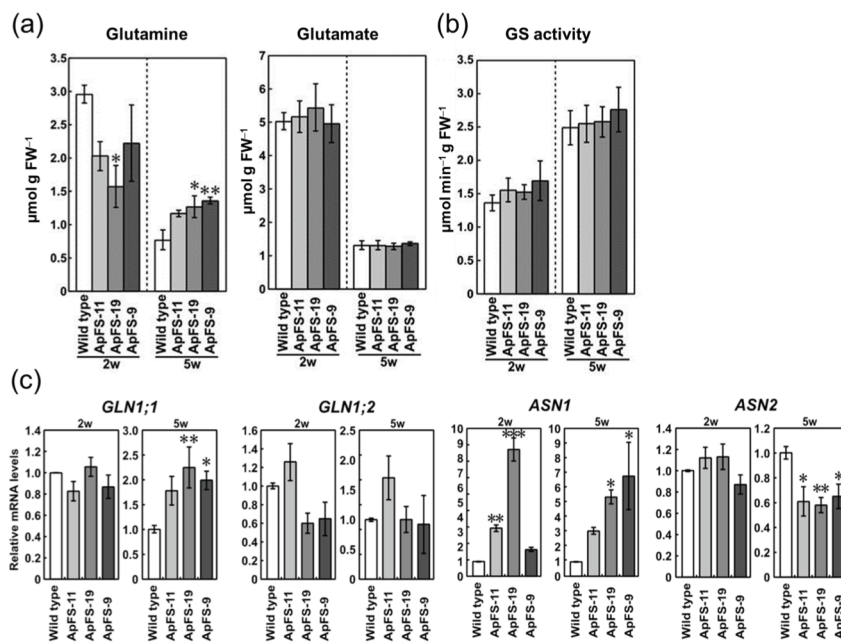


図5. 栄養成長期および生殖成長期のアミノ酸合成に関わる代謝物量、酵素活性および遺伝子発現量
WTとApFSの葉における (a) グルタミン、グルタミン酸、(b) グルタミン合成酵素 (GS) 活性、(c) グルタミン合成酵素遺伝子 (*GLN1;1* と *GLN1;2*)、アスパラギン合成酵素遺伝子 (*ASN1* と *ASN2*) 発現量。Otori et al. (2017)¹⁸⁾を改変。

期および生殖成長期いずれにおいても ApFS と WT 間で有意な差は見られなかったが、生殖成長期の ApFS では細胞質型 GS 遺伝子 (*GLN1;1*) 発現量が WT と比較して増加していた (図 5c)。一方、アスパラギン合成酵素遺伝子 (*ASN1*) の発現量は、栄養成長期および生殖成長期いずれにおいても WT と比較して ApFS で増加していた (図 5c)。ASN1 は窒素の再利用に貢献していると報告されていることから¹⁹⁾、ApFS では栄養成長期、生殖成長期を通して窒素の再利用が促進していると考えられる。一方、ASN2 は葉において師部特異的に発現しており、アスパラギン量の制御を介して窒素の再分配に機能している²⁰⁾。生殖成長期の ApFS では、ASN2 の発現量が減少していたことから、窒素の再分配は抑制されていることが示唆された。

5. ApFSにおける硝酸トランスポーター遺伝子群の発現量変化

生殖成長期の ApFS では N 代謝能が向上しており、硝酸の取り込み量が促進していることが推測

されることから、硝酸トランスポーター遺伝子群 (*NRTs*) の発現解析を行った。シロイヌナズナには硝酸に親和性の低い 53 個の *NRT1* ファミリーと親和性の高い 7 個の *NRT2* ファミリーが存在し、これらの機能や制御機構については詳細に解明されつつある。*NRT1.4* は葉柄、*NRT1.5* は師部で発現し、木部からシュートへ硝酸を輸送する^{21,22)}。*NRT1.8* は根や葉から硝酸を回収し、木部へと硝酸を長距離輸送している²³⁻²⁴⁾。*NRT1.11* および *NRT1.12* は木部で発現し、硝酸の分配に機能しており、特に葉などの成長に重要である²⁵⁾。栄養成長期の ApFS においては、*NRT1.4*、*NRT1.5*、*NRT1.8*、*NRT1.11*、*NRT1.12* および *NRT2.5* の発現量が WT と比較して増加していたことから、硝酸の取り込みや転流、分配が活発に行われていることが示唆された (表 1)。一方、生殖成長期の ApFS では *NRT1.4* および *NRT1.11* の発現量の増加は維持されていたが、*NRT1.5* や *NRT2.5* の発現量は WT と差が認められなくなった。さらに *NRT1.8* および *NRT1.12* の発現量は抑制されていた (表 1)。これらの結果から、生殖成長期の

表 1. 栄養成長期および生殖成長期の ApFS における硝酸トランスポーター遺伝子群 (*Nitrate transporter; NRTs*) の発現量変化

	栄養成長期 (2 週齢)	生殖成長期 (5 週齢)
<i>NRT1.1</i>	↓	→
<i>NRT2.7</i>	↓	→
<i>NRT1.4</i>	↑	↑
<i>NRT1.11</i>	↑	↑
<i>NRT1.5</i>	↑	→
<i>NRT2.5</i>	↑	→
<i>NRT1.8</i>	↑	↓
<i>NRT1.12</i>	↑	↓
<i>NRT2.3</i>	↓	↓

WT と ApFS の葉 *NRTs* の発現量について比較した。WT に対する ApFS の増減を矢印の上下で模式的に示した。Otori et al. (2017)¹⁸⁾ を改変。

ApFS では硝酸代謝は促進しているが、再分配は抑制されたと思われる。このように、ApFS では、*NRTs* の発現量を制御し、成長段階に応じて窒素が必要となる部位に硝酸代謝物を輸送し、有効に利用していると考えられる。

6. ApFS における C/N バランス制御関連因子の遺伝子発現量変化

ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (PEPC) はホスホエノールピルビン酸と HCO_3^- をオキサロ酢酸とリン酸に変換する酵素である。シロイヌナズナにおいては、植物タイプの PEPC として PEPC1-3 の 3 種のアイソフォームが存在する。PEPC3 は根で、PEPC1 と PEPC2 は主に地上部で発現し、互いに機能相補している²⁶⁾。PEPC1 と PEPC2 の二重変異株では CN 代謝産物量が大きく変化することから、PEPC1 と PEPC2 が CN 代謝調節に重要な役割を担っていると考えられている^{26,27)}。ApFS では、PEPC1 の発現量は野生株と比較して栄養成長期に増加、生殖成長期に減少していた。一方、PEPC2 の発現量は生殖成長期に減少していた。PEPC1 と PEPC2 発現パターン

の変化は、ApFS における炭素および窒素代謝の制御に関与している事が予想される。

Sucrose non-Fermenting Related Kinase (SnRK1) は糖やエネルギー、塩や酸素などのストレスに応答して植物の生育を再調節する機構で中心的な役割を担っていると考えられている^{28,29)}。SnRK1.2 の過剰発現株は栄養成長期の葉が大きくなるが、SnRK1.1 の過剰発現株は反対の表現型を示す²⁸⁾。栄養成長期の ApFS では SnRK1.2 の発現量は WT と比較して減少していたが、ApFS の葉の大きさは WT と差が見られなかった (図 2)。さらに栄養成長期の ApFS では、WT と比較してデンプン量が増加、生殖成長期ではデンプン量に加えてショ糖量が増加していた。SnRK1.1 の発現量はショ糖処理により増加することが知られているが²⁹⁾、ApFS では、SnRK1.1 の発現量は栄養成長期、生殖成長期を通して WT と差が認められなかった。この結果は、外部からの糖添加と植物体内の糖量変化では、SnRK1.1 の発現応答が異なることを示唆している。Abscisic acid insensitive 1 (ABI1) は SnRK1 の脱リン酸化を介し、C/N 状態を感知して発芽後の生育をコントロールすることが知られている^{13,30,31)}。栄養成長期の ApFS では、ABI1 の発現量は WT と比較して減少していたが、生殖成長期には増加していた。これらの結果から、栄養成長期と生殖成長期の ApFS における C/N 代謝変化には SnRKs および ABI1 が関与している事が考えられる。

NIN-like transcription factors (NLPs) は硝酸還元に関係する遺伝子の発現制御により硝酸量を調節するだけでなく、生育にも影響を及ぼす³²⁻³⁴⁾。生殖成長期の ApFS では、NLPs の発現量は *NRI.2* の発現量と一致して増加していた。生殖成長期の ApFS では、NLPs の発現量の増加が硝酸代謝能を促進し、生育の促進を引き起こしたと考えられる。

7. おわりに

栄養成長期の ApFS では、増加した光合成産物 (C) は成長のためのタンパク質生合成などに利用されるため、窒素の供給不足により一時的に遊離アミノ酸量が減少する。一方、生殖成長期の

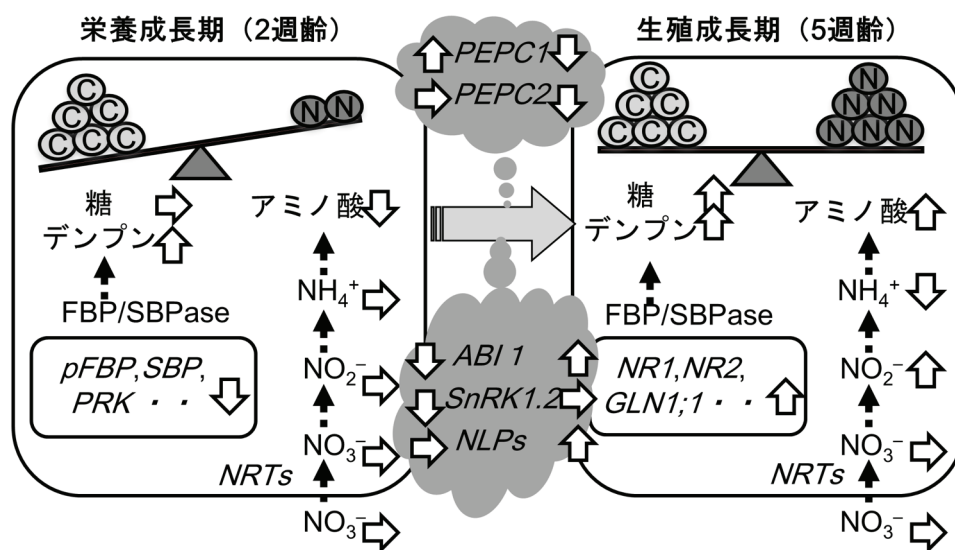


図 6. 栄養生長期および生殖成長期の ApFS における C/N バランス制御に関する挙動 WT に対する ApFS の増減を模式的に示した。Otori et al. (2017)¹⁸⁾ を改変。

ApFS では、窒素代謝に関与する遺伝子発現および酵素活性、代謝産物量の増加が見られ、全体としての C/N バランスが維持されていた。これは、栄養生長期の遊離の炭素代謝物 / 遊離の窒素代謝物量の一時的なアンバランスがシグナルとなり *ABI1*, *SnRKs*, *NLPs* を介して、アミノ酸合成や窒素取り込みに関与する遺伝子発現が制御を受けた結果ではないかと考えられる (図 6)。

今回、これまでに C/N バランス制御に関与していると報告されている *ABI1* 発現量の増減が遊離アミノ酸量の増減と一致していた。また、*NLPs* 発現量の増加と硝酸還元能および生育の促進との関係性が示唆されたことは興味深い。今後、C/N バランスの感知機構およびシグナル伝達機構の詳細が明らかになることが望まれる。

謝辞

筆者らの研究は、JST/CREST「栄養シグナルによる植物代謝制御の分子基盤」および「シンク/ソース同時改良による植物生産性強化の基盤開発」の成果です。本研究は科学技術振興機構 CREST の助成を受けて行われました。また、代謝物の測定を行って下さいました東京大学生物

生産工学研究センター柳澤修一教授、佐藤滋博士、また、このような執筆の場を与えてくださった日本光合成学会ならびに編集委員の方々に御礼申し上げます。

Received Dec 02, 2017; Accepted Dec 08, 2017; Published Dec 31, 2017

参考文献

- Price, J., Laxmi, A., St Martin, S.K. and Jang, J.C. (2004) Global transcription profiling reveals multiple sugar signal transduction mechanisms in Arabidopsis. *Plant Cell* 16, 2128–2150.
- Sato, S., Soga, T., Nishioka, T. and Tomita, M. (2004) Simultaneous determination of the main metabolites in rice leaves using capillary electrophoresis mass spectrometry and capillary electrophoresis diode array detection. *Plant J.* 40, 151–163.
- Galtier, N., Foyer, C., Murchie, E., Aired, R., Quick, P., Voelker, T.A., Thépenier, C., Lascève, G. and Betsche, T. (1995) Effects of light and atmospheric carbon dioxide enrichment on photosynthesis and carbon partitioning in the leaves of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants over-expressing

- sucrose phosphate synthase. *J. Exp. Bot.* 46, 1335–1344.
4. Kang, J. and Turano, F.J. (2003) The putative glutamate receptor 1.1 (AtGLR1.1) functions as a regulator of carbon and nitrogen metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 6872–6877.
 5. Tamoi, M., Tabuchi, T., Demuratani, M., Otori, K., Tanabe, N., Maruta, T. and Shigeoka, S. (2010) Point mutation of a plastidic invertase inhibits development of the photosynthetic apparatus and enhances nitrate assimilation in sugar-treated *Arabidopsis* seedlings. *J. Biol. Chem.* 285, 15399–15407.
 6. Yanagisawa, S., Akiyama, A., Kisaka, H., Uchimiya, H. and Miwa, T. (2004) Metabolic engineering with Dof1 transcription factor in plants: Improved nitrogen assimilation and growth under low-nitrogen conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101, 7833–7838.
 7. Zheng, Z.L. (2009) Carbon and nitrogen nutrient balance signaling in plants. *Plant Signal. Behav.* 4, 584–591.
 8. Hsieh, M.H., Lam, H.M., van de Loo, F.J. and Coruzzi, G. (1998) A PII-like protein in *Arabidopsis*: Putative role in nitrogen sensing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 13965–13970.
 9. Ferrario-Méry, S., Bouvet, M., Leleu, O., Savino, G., Hodges, M. and Meyer, C. (2005) Physiological characterization of *Arabidopsis* mutants affected in the expression of the putative regulatory protein PII. *Planta* 223, 28–39.
 10. Igarashi, D., Miwa, T., Seki, M., Kobayashi, M., Kato, T., Tabata, S., Shinozaki, K. and Ohsumi, C. (2003) Identification of photorespiratory glutamate:glyoxylate aminotransferase (GGAT) gene in *Arabidopsis*. *Plant J.* 33, 975–987.
 11. Dellerio, Y., Lamothe-Sibold, M., Jossier, M. and Hodges, M. (2015) *Arabidopsis thaliana ggt1* photorespiratory mutants maintain leaf carbon/nitrogen balance by reducing RuBisCO content and plant growth. *Plant J.* 83, 1005–1018.
 12. Sato, T., Maekawa, S., Yasuda, S., Sonoda, Y., Katoh, E., Ichikawa, T., Nakazawa, M., Seki, M., Shinozaki, K., Matsui, M., Goto, D.B., Ikeda, A. and Yamaguchi, J. (2009) CNI1/ATL31, a RING-type ubiquitin ligase that functions in the carbon/nitrogen response for growth phase transition in *Arabidopsis* seedlings. *Plant J.* 60, 852–864.
 13. Lu, Y., Sasaki, Y., Li, X., Mori, I.C., Matsuura, T., Hirayama, T., Sato, T. and Yamaguchi, J. (2015) ABI1 regulates carbon/nitrogen-nutrient signal transduction independent of ABA biosynthesis and canonical ABA signaling pathways in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 66, 2763–2771.
 14. Miyagawa, Y., Tamoi, M. and Shigeoka, S. (2001) Overexpression of a cyanobacterial fructose-1,6-/sedoheptulose-1,7-bisphosphatase in tobacco enhances photosynthesis and growth. *Nat. Biotechnol.* 19, 965–969.
 15. Tamoi, M., Nagaoka, M., Miyagawa, Y. and Shigeoka, S. (2006) Contribution of fructose-1,6-bisphosphatase and sedoheptulose-1,7-bisphosphatase to the photosynthetic rate and carbon flow in the Calvin cycle in transgenic plants. *Plant Cell Physiol.* 47, 380–390.
 16. Yabuta, Y., Tamoi, M., Yamamoto, K., Tomizawa, K., Yokota, A. and Shigeoka, S. (2008) Molecular design of photosynthesis-elevated chloroplasts for mass accumulation of a foreign protein. *Plant Cell Physiol.* 49, 375–385.
 17. Ichikawa, Y., Tamoi, M., Sakuyama, H., Maruta, T., Ashida, H., Yokota, A. and Shigeoka, S. (2010) Generation of transplastomic lettuce with enhanced growth and high yield. *GM Crops*. 1, 322–326.
 18. Otori, K., Tanabe, N., Maruyama, T., Sato, S., Yanagisawa, S., Tamoi, M. and Shigeoka, S. (2017) Enhanced photosynthetic capacity increases nitrogen metabolism through the coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation in *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Res.* 130, 909–927.
 19. Nakano, Y., Naito, Y., Nakano, T., Ohtsuki, N. and Suzuki, K. (2017) *NSRI/MYR2* is a negative regulator of *ASN1* expression and its possible involvement in regulation of nitrogen reutilization in *Arabidopsis*. *Plant Sci.* 263, 219–225.
 20. Gaufichon, L., Masclaux-Daubresse, C., Tcherkez, G., Reisdorf-Cren, M., Sakakibara, Y., Hase, T., Clément, G., Avice, J.C., Grandjean, O., Marmagne, A., Boutet-Mercey, S., Azzopardi, M., Soulay, F. and Suzuki, A. (2013) *Arabidopsis thaliana ASN2* encoding asparagine synthetase is involved in the control of nitrogen assimilation and export during vegetative growth. *Plant Cell Environ.* 36, 328–342.
 21. Miller, A.J., Fan, X., Orsel, M., Smith, S.J. and Wells, D.M. (2007) Nitrate transport and signaling. *J. Exp. Bot.* 58, 2297–2306.
 22. Lin, S.H., Kuo, H.F., Canivenc, G., Lin, C.S., Lepetit, M., Hsu, P.K., Tillard, P., Lin, H.L., Wang, Y.Y., Tsai, C.B., Gojon, A. and Tsay, Y.F. (2008) Mutation of the

- Arabidopsis NRT1.5* nitrate transporter causes defective root-to-shoot nitrate transport. *Plant Cell* 20, 2514–2528.
23. Okamoto, M., Vidmar, J.J. and Glass, A.D. (2003) Regulation of NRT1 and NRT2 Gene Families of *Arabidopsis thaliana* : responses to nitrate provision. *Plant Cell Physiol.* 44, 304–317.
 24. Krapp, A., David, L.C., Chardin, C., Girin, T., Marmagne, A., Leprince, A.S., Chaillou, S., Ferrario-Méry, S., Meyer, C. and Daniel-Vedele, F. (2014) Nitrate transport and signaling in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 65, 789–798.
 25. Hsu, P.K. and Tsay, Y.F. (2013) Two phloem nitrate transporters, NRT1.11 and NRT1.12, are important for redistributing xylem-borne nitrate to enhance plant growth. *Plant Physiol.* 163, 844–856.
 26. Shi, J., Yi, K., Liu, Y., Xie, L., Zhou, Z., Chen, Y., Hu, Z., Zheng, T., Liu, R., Chen, Y. and Chen, J. (2015) Phosphoenolpyruvate carboxylase in *Arabidopsis* leaves plays a crucial role in carbon and nitrogen metabolism. *Plant Physiol.* 167, 671–681.
 27. O'Leary, B., Park, J. and Plaxton, W.C. (2011) The remarkable diversity of plant PEPC (phosphoenolpyruvate carboxylase): recent insights into the physiological functions and post-translational controls of non-photosynthetic PEPCs. *Biochem. J.* 436, 15–34.
 28. Baena-González, E., Rolland, F., Thevelein, J.M. and Sheen, J. (2007). A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signaling. *Nature* 448, 938–942.
 29. Williams, S.P., Rangarajan, P., Donahue, J.L., Hess, J.E. and Gillaspay, G.E. (2014) Regulation of Sucrose non-Fermenting Related Kinase 1 genes in *Arabidopsis thaliana*. *Front. Plant Sci.* 5, 324.
 30. Lu, Y., Sasaki, Y., Li, X., Mori, I.C., Matsuura, T., Hirayama, T., Sato, T. and Yamaguchi, J. (2015) ABI1 regulates carbon/nitrogen-nutrient signal transduction independent of ABA biosynthesis and canonical ABA signaling pathways in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 66, 2763–2771.
 31. Rodrigues, A., Adamo, M., Crozet, P., Margalha, L., Confraria, A., Martinho, C., Elias, A., Rabissi, A., Lumbreras, V., González-Guzmán, M., Antoni, R., Rodriguez, P.L. and Baena-González, E. (2013) ABI1 and PP2CA phosphatases are negative regulators of Snf1-related protein kinase1 signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 25, 3871–3884.
 32. Konishi, M. and Yanagisawa, S. (2014) Emergence of a new step towards understanding the molecular mechanisms underlying nitrate-regulated gene expression. *J. Exp. Bot.* 65, 5589–5600.
 33. Konishi, M. and Yanagisawa, S. (2013) Arabidopsis NIN-like transcription factors have a central role in nitrate signaling. *Nat. Commun.* 4, 1617.
 34. Yasuda, S., Aoyama, S., Hasegawa, Y., Sato, T., and Yamaguchi, J. (2017) *Arabidopsis* CBL-interacting protein kinases regulate carbon/nitrogen-nutrient response by phosphorylating ubiquitin ligase ATL31. *Mol. Plant* 10, 605–618.

Control of carbon and nitrogen balance in photosynthesis-elevated *Arabidopsis*

Kumi Otori, Noriaki Tanabe, Masahiro Tamoi, and Shigeru Shigeoka

Department of Advanced Bioscience, Faculty of Agriculture, Kindai University

解説

光化学系の光環境適応とその進化的な制約
—緑藻の光化学系をモデルとして—北海道大学低温科学研究所
高林 厚史*

光合成生物の進化は光環境への適応と密接に関わっている。一般に、光合成生物の光環境適応を考える際には、強光や弱光への適応を考えることが多い。しかし、環境によっては、入手可能な光のスペクトルは太陽光と大きく異なる。そのため、生育環境において豊富な波長域の光を効率よく集めるための適応も重要である。その際に重要な役割を担っているのが、光合成色素、特にクロロフィルである。光合成生物が有するクロロフィルの分子種には多様性があり、それぞれの光環境に合わせて使い分けられている。その一方で、光化学系が利用できるクロロフィルの分子種には進化的な制約もあり、例えば、クロロフィル *b* は主に緑藻、クロロフィル *c* は二次共生藻にしか見られない。本稿では緑藻を例にとり、光環境適応と進化的な制約の2点から光化学系の進化、そして光合成生物の進化を考える。

1. はじめに

ふと窓の外を見れば、また散歩中に周りを見渡せば、私たちは、多種多様な植物に囲まれていることを実感できる。しかし、光合成色素という観点から見れば、陸上植物は不自然なほどよく似ている。例えば、植物が利用するクロロフィルは *a* と *b* のみである。藻類に見られるクロロフィル *c* 群やシアノバクテリアで見られるクロロフィル *d* やクロロフィル *f* は使われていない。また、光合成生物は多様なカロテノイドを有するが、陸上植物はカロテノイド色素の組成もよく似ている。では、多様な形態を持つ陸上植物は、なぜ光合成色素に関しては多様性が低いのだろうか？その理由については、光環境適応と進化的な制約という2つの観点から考えることができる。

光環境に対する適応は、光強度と光スペクトルという2つの観点から考えられる。まず、太陽から地上、および、水中に降り注ぐ光の強度は、時々刻々と、しかも、大きく変化する。このような光

源に適応するため、光合成生物は基本的に光強度の変化に対して十分な適応能を持つと考えられる。具体的な機構としては、例えば、集光アンテナサイズの調節や熱放散能の調節などが挙げられる。また、とりわけ陸上環境では、水中以上に光強度が短時間で大きく変化する。そのため、陸上植物はダイナミックに変動する光強度に対し、短時間で応答するための適応機構を兼ね備えている。

次に、光スペクトルという観点から考えると、太陽光のスペクトルは可視光領域で比較的均一である。そして、陸上で入手可能な光のスペクトルを考えると、太陽光スペクトルと類似した光環境が多いと思われる。しかし、一方で、海中やバクテリアマット内で得られる光のスペクトルは太陽光とは大きく異なっている^{1,2)}。例えば、深海は(緑色に近い)青色の波長が優先的に得られる光環境である。また、バクテリアマットは可視光域の光が光合成生物によって利用されるため、その内部は赤外光が優先する光環境である。このような陸上とは異なる光環境においては、その生

*連絡先 E-mail: takabayashi@pop.lowtem.hokudai.ac.jp

育環境において豊富な波長域の光を優先的に捕集する必要がある。このように、環境によって変化するのは光強度だけでなく、入手可能な光のスペクトルも大きく変化する。そのため、光合成生物が新たなニッチを開拓するためには、もしくは、地球規模の環境変動に適応するためには、新たな生育環境における光強度と光スペクトルに対して、光化学系を最適化する必要がある。光合成生物が様々な光合成色素を利用することで多様な光化学系を構築しているのはこのためだろう。

興味深いことに、酸素発生型光合成生物の光化学系を比較すると、反応中心アンテナ複合体は高度に保存されている一方で、周辺アンテナ複合体は高度に多様化している。つまり、光化学系の多様性は主に周辺アンテナ複合体の違いによるものであると考えられる。真核光合成生物の光合成色素を例に挙げれば、反応中心アンテナで用いられているクロロフィルは主にクロロフィル *a* であるが、周辺アンテナ複合体にはクロロフィル *a* に加えて、クロロフィル *b* や *c* も用いられている。これらのクロロフィル色素は吸収スペクトルがそれぞれに異なっており、これらを上手く組み合わせることで、光合成生物は様々な光スペクトルの環境に適応している^{1,2)}。

また、光合成生物の有するクロロフィル色素の分子種の違いは光合成生物の進化を反映したものである。この観点から考えると、植物の光化学系が比較的似ているのは、植物が緑藻類の一部のグループのみから進化したからであるというように、進化的な制約から考えることもできる。例えば、クロロフィルについて考えると、全ての酸素発生型光合成生物はクロロフィル *a* を有しているが、クロロフィル *b* を有している生物は緑色植物（緑藻と陸上植物）以外には、緑藻を二次共生で取り込んだ藻類、もしくはごく一部のシアノバクテリアだけに限られる。また、クロロフィル *c* を有する生物は紅藻を取り込んだ二次共生藻類およびその子孫、またはそれをさらに取り込んだ藻類に限られている。これらの事実は、光合成生物は好きなクロロフィルを光環境に合わせて自由に合成できるわけではなく、その選択に進化的な制約が大きいことを示している。本稿では、

筆者たちの研究グループでの最新の知見を踏まえ、この光環境適応と進化的な制約という2つの観点から緑藻の進化を考えていきたい。

2. 緑藻の進化とクロロフィル *b* 獲得への道筋

緑藻の進化を辿ると、緑藻は灰色藻、紅藻と同様に一次共生藻であり、シアノバクテリアを取り込んだ共通の真核藻類を祖先に持つ。同じ一次共生藻である灰色藻や紅藻と比べた際の緑藻の光化学系の特徴は、クロロフィル *b* を持つこと、フィコビリソームを持たないこと、その代わり周辺集光装置として LHC アンテナを利用することにある（図 1）。LHC の起源を考えると、LHC

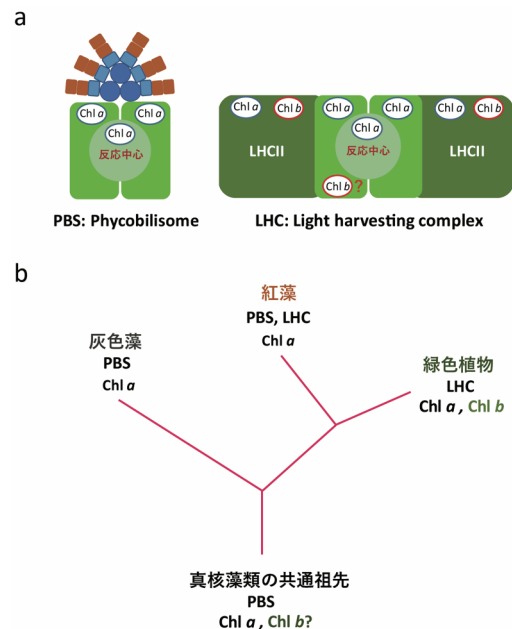


図 1. 一次共生藻における周辺アンテナ及びクロロフィル色素の分布

(a) 一次共生藻における周辺アンテナは大きく PBS (phycobilisome) と LHC (light-harvesting complex) に分けられる。PBS は集光にクロロフィル色素を利用しないが、LHC はクロロフィル色素を集光に利用している。紅藻の LHC はクロロフィル *a* のみを有し、緑藻の LHC はクロロフィル *a* と *b* の両方を有している。図は PSII-PBS (灰色藻、紅藻) と PSII-LHCII (緑藻)。(b) PBS はシアノバクテリア由来で、灰色藻と紅藻が周辺アンテナとして利用している。一方、おそらく紅藻と緑藻の共通祖先が LHC を周辺アンテナとして進化的に獲得した。さらに、緑藻は PBS を失い、LHC のみを周辺アンテナとして利用するようになった。

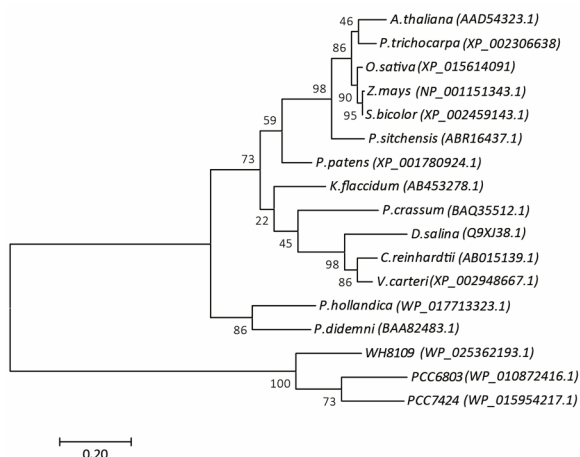


図 2. CAO の分子系統樹

MEGA 7 を用いて、最尤法で作成した CAO の系統樹。外群にはシアノバクテリアの Rieske-mononuclear iron oxygenase を用いた。系統樹は CAO が単系統であることを示している。

ストレプト植物門

緑色植物門

シアノバクテリア

外群

の祖先型の LHC-like タンパク質がシアノバクテリアに存在すること、紅藻の光化学系も LHC を周辺集光装置として利用していることから、シアノバクテリア由来の LHC-like タンパク質から分子進化したものであると考えられている³⁾。

一方、クロロフィル *b* 合成酵素 (Chlorophyll (ide) *a* oxygenase (CAO)) の起源については未だに謎が残っている。ここからはその起源について考えたい。クロロフィル *b* を有する生物は、ごく少数のシアノバクテリア、緑色植物 (緑藻と陸上植物)、緑藻の葉緑体を取り込んだ二次共生藻、である。そして、それらの生物においてクロロフィル *b* 合成を司る酵素は例外なく CAO である。CAO は Rieske-mononuclear iron oxygenase に属する酵素で、シアノバクテリアにホモログがあるだけでなく、同じグループに属する植物の他の酵素に PAO (pheophorbide *a* oxygenase) や Tic55 (translocon at the inner envelope membrane of chloroplast 55kDa) があり、それらは CAO と相同性を持つ⁴⁾。なお、Tic55 はその名前の通り、葉緑体へのタンパク質輸送に関与していると考えられていたが、現在では PAO と同様にクロロフィル分解に関与していると考えられている⁵⁾。これらの状況からは、CAO は、シアノバクテリアの祖先型の (CAO ではない) Rieske-mononuclear iron oxygenase から、緑藻に分岐した後に、分子進化したと考えられる。

しかし、話はそれほど単純ではない。なぜならば、ごく少数のシアノバクテリアが CAO とクロ

ロフィル *b* を持つからである⁶⁾。現存する (ごく少数の) シアノバクテリアが CAO を持つということは、真核藻類の葉緑体の祖先となるシアノバクテリアも CAO を持っていた可能性がある。これが正しければ、灰色藻や紅藻が進化的に CAO とクロロフィル *b* を失ったことになる。もしくは、逆に、緑藻の CAO をシアノバクテリアが水平伝播で取り込んだ可能性も考えられる。さらに言えば、シアノバクテリアと緑藻が同じ Rieske-mononuclear iron oxygenase から「独立に」CAO を獲得した可能性も考えられるだろう。

本稿では、この 3 つの仮説のどれが妥当であるかを調べるために、進化系統樹を作成することにした。CAO の配列に関しては、最近、当研究グループでゲノムが未解読な緑藻 6 種の全長配列を報告した。それらに加え、ゲノムが解読されている光合成生物の CAO を用いて最尤法で系統樹を作成した結果、シアノバクテリアの CAO は緑藻や陸上植物の CAO よりも早く分岐していた (図 2)。全体として、CAO の分子進化系統樹は光合成生物の進化系統樹とよく一致した。この結果は、緑藻の CAO がシアノバクテリアの CAO から進化したことを示唆する結果である。

一方、緑藻の CAO がシアノバクテリアの CAO から進化したとする仮説にはいくつかの難点がある。まず、灰色藻や紅藻が CAO を持たないという問題がある。ただ、例えば緑藻や陸上植物に存在する NDH-like 複合体は、シアノバクテリア由来でありながら灰色藻や紅藻には存在しない

ことから、CAO も同様に、灰色藻や紅藻で失われたというのは十分に考えられる。次に、現存するシアノバクテリアの大多数はクロロフィル *b* を持っておらず、クロロフィル *b* を持つシアノバクテリアは、進化的には比較的最近、すなわち一次共生藻類の出現の後に出現した種であるという問題が挙げられる。なお、執筆者はメタゲノム解析のデータを調べてみたものの、シアノバクテリア由来と思われる未知の CAO 遺伝子を見出すことはできなかった。これに関しては、先述の仮説が正しいとすれば、クロロフィル *b* を持つシアノバクテリアの大多数がすでに絶滅した、もしくは未発見であると考え他ないだろう。

ここからは推測に過ぎないが、仮に葉緑体の直接の祖先となったシアノバクテリアが CAO を持たなかったとしても、まだ CAO を取り込むチャンスはあったのではないだろうか。例えば、葉緑体とは起源の異なる一次共生を行った光合成生物の *Paulinella chromatophora* は（取り込んだシアノバクテリアの遺伝子群以外にも）様々な生物種の遺伝子を取り込み、シアネルの機能維持に利用しているという報告があった⁷⁾。この論文では、細胞内に取り込んだシアノバクテリアが葉緑体に移行する過程で、つまり、従属栄養成長から独立栄養成長に移行する過程で、様々な生物からの遺伝子の取り込みが生じたのではないかと議論されている。一般的に、真核生物では遺伝子の水平伝播による獲得は非常に珍しいが、例外的にオルガネラを獲得する過程では、積極的に遺伝子を取り込まれる可能性があることが示唆されたといえる。もし、このような現象が藻類の共通祖先でも起こっていたのであれば、葉緑体の直接の祖先であるシアノバクテリアとは別のシアノバクテリアから CAO を取り込む機会は十分にあったのかもしれない。これについては、今後の課題である。

3. 緑藻の初期分岐に伴う光化学系の進化

多くの植物の光合成研究者にとって緑藻の代表といえばクラミドモナスであり、精力的な研究が長く続けられている。そのため、植物の光合成研究者はついクラミドモナスを陸上植物の祖先

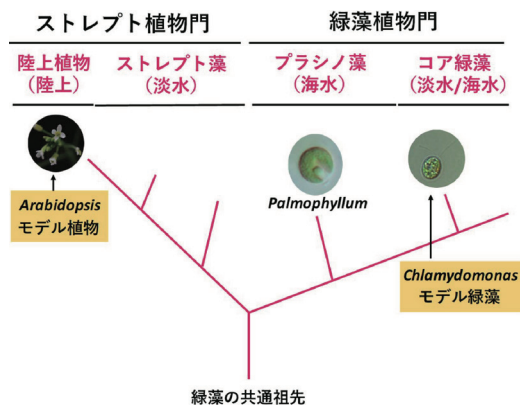


図 3. 緑藻の進化系統樹と生育環境

緑藻は進化の初期に大きくストレプト藻とプラシノ藻に分かれた。ストレプト藻は淡水で、プラシノ藻は深海で進化したと考えられている。さらに、ストレプト藻から陸上植物が分岐し、プラシノ藻から（クラミドモナスを含む）コア緑藻が分岐した。

的な光合成生物と捉えてしまいがちである。しかし、緑藻全体を見渡すと、実際にはクラミドモナスは陸上植物からは遠く離れている（図 3）。そして、緑藻はその進化の早い段階で、2 つのグループに分岐している。1 つは陸上植物を含む「ストレプト植物門」（Streptophyta）であり、もう 1 つはクラミドモナスを含む「緑色植物門」（Chlorophyta）である（図 3）。興味深いことに、ストレプト植物門に属する緑藻は淡水、もしくは、陸上環境で生育するが、緑色植物門の中で初期に分岐したプラシノ藻（Prasinophyta）は海産性である。一方、クラミドモナスが属するコア緑藻（Core Chlorophyta）は淡水や陸上で生育する緑藻を含んでいるが、それらは全てプラシノ藻から分岐している。つまり、緑藻の初期進化においては、淡水性緑藻（ストレプト藻）と海産性緑藻（プラシノ藻）に大きく分岐したと考えられている⁽⁸⁾。では、この 2 つのグループにどのような違いがあったのだろうか？執筆者らは、ストレプト藻とプラシノ藻に属する緑藻の光化学系を比較解析した結果、クロロフィル *b* の局在および光化学系 I の red forms (red chlorophylls) の存在という 2 点において大きな違いを見出したため、紹介したい。

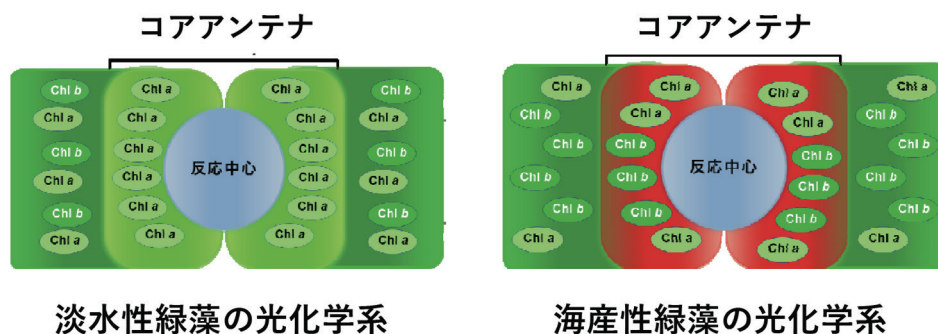


図4. 淡水性緑藻と海産性緑藻の光化学系のクロロフィル *b* の利用の違い

(a) 淡水性緑藻や陸上植物の光化学系 I および II は、クロロフィル *b* は LHC アンテナに局在している。コアアンテナにはほとんど存在しない。(b) 海産性緑藻の光化学系 I および II は、クロロフィル *b* をコアアンテナに高蓄積し、海水中で豊富な青色光 (450-500nm) を効率的に捕集するために利用している。

これまでもストレプト藻とプラシノ藻の 2 つのグループでクロロフィル *alb* 比が大きく違うことは知られていた。具体的には、プラシノ藻に属する緑藻においてはクロロフィル *alb* 比が顕著に低く、ストレプト藻に属する緑藻の *alb* 比は陸上植物と変わらない。他方、クロロフィル *b* は光化学系のコアアンテナには局在せず、LHC アンテナのみに蓄積していると考えられてきた。これは、陸上植物においてのみならず、クラミドモナスにおいても同様であるため、緑色植物全体の特徴であろうと考えられていた。これが正しいければ、クロロフィル *alb* 比が低い理由は、1) LHC アンテナに蓄積するクロロフィル *b* の量が多いか、もしくは、2) コアアンテナの量に対して LHC アンテナの量が多いためと考えられる。

しかし、実際に執筆者が光化学系を分離して色素組成を調べてみたところ、プラシノ藻では LHC アンテナのみならず、コアアンテナにもクロロフィル *b* が顕著に蓄積していた^(9,10)。このようなクロロフィル *b* のコアアンテナにおける高蓄積は陸上植物やストレプト藻では全く見られず、さらにクラミドモナスやクロレラなどの属する淡水性のコア緑藻でも全く見られなかった⁽⁹⁾。一方、ハネモのような海産性のコア緑藻では、プラシノ藻と同様に、コアアンテナでのクロロフィル *b* の高蓄積が認められた⁽⁹⁾。つまり、整理すると、1) 淡水性の緑藻や陸上植物ではコアアンテナにクロロフィル *b* を蓄積しないが、2) 海産性

の緑藻ではコアアンテナにクロロフィル *b* を蓄積する、という違いが認められた (図4)。さらに、コアアンテナのクロロフィル *b* が吸収した光エネルギーも効率よく反応中心クロロフィルに移動していることも認められた⁽⁹⁾。これはコアアンテナの中のクロロフィル *b* が実際に集光に寄与していることを示している。では、なぜこのような現象が長年見逃されてきたのだろうか？ 実際のところは不明であるが、おそらくは、これまでは、シロイヌナズナなどの陸上植物、および、緑藻のモデル生物であるクラミドモナスやクロレラ (両方とも淡水性) でコアアンテナへのクロロフィル *b* の蓄積がないことから、緑藻全般においてもそうであろうと、一種の盲点になっていたのかもしれない。

では、このようなクロロフィル *b* の使い分けの生理的な意義は、どこにあるのだろうか？ 執筆者は、この理由は海水と淡水/陸上の光環境の違いにあると考えている。実は、プラシノ藻の中で最も早く分岐したと考えられるパルモフィルム目の緑藻は深い海に生息しており、例えば *Verdigellas* の生育域は「100-200m」の深さであると報告されている⁽¹¹⁾。筆者の知る限りこのような深海環境に適応できる光合成生物は非常に珍しい。200m もの深海での光強度は非常に低く、極端な光律速環境である。それに加えて、深海に届く光のスペクトルは陸上とは大きく異なり、450-500nm の青 (~ 緑) 色の波長域が主に光合成

に利用できる⁹⁾。そして、このような(深い)海中環境では吸収スペクトルを考えると、集光に有利なクロロフィルはクロロフィル *b* であり、執筆者らのグループで採種したパルモフィルム目の *Palmophyllum crassum* のクロロフィル *a/b* 比は驚くほど低く、0.64 であった⁹⁾。このように、海産性の緑藻はクロロフィル *b* を LHC アンテナに蓄積するだけでなく、コアアンテナにも蓄積することで、光律速の環境で効率的な集光を可能にしていると考えられる。パルモフィルム目の緑藻が緑藻の進化の非常に早い時期に分岐していることから、先行研究⁽¹¹⁾でも示唆されているように、緑色植物門の祖先藻類はおそらく深海に生育していたと考えられる。なお、同じ海産性のプラシノ藻類でも、より表層に生育する種では *Palmophyllum* よりもクロロフィル *b* は少なかったが、それでもストレプト藻類よりは顕著にクロロフィル *b* が多く、コアアンテナにもクロロフィル *b* が顕著に蓄積していた⁹⁾。

一方、淡水/陸上の緑藻はコアアンテナにクロロフィル *b* をほぼ持たなかった。これはストレプト藻だけでなく、プラシノ藻から分岐したコア緑藻に属するクラミドモナスでも同様であることから、収斂進化と考えられる。では、コアアンテナにクロロフィル *b* が多いと、不利な点があるのだろうか?一つの仮説として、私たちは、クロロフィル *a* とクロロフィル *a* の間にクロロフィル *b* が入ると、クロロフィル間のエネルギー移動が少し遅くなるため、強光下では活性酸素が生成しやすいのではないかと考えている¹²⁾。実際、クロロフィル *b* をコアアンテナに高蓄積した形質転換シロイヌナズナは強光で活性酸素障害を受けやすい¹²⁾。これがコアアンテナにクロロフィル *b* が蓄積した他の光合成生物でも同様に生じるならば、淡水/陸上環境では深刻な問題であり、コアアンテナからクロロフィル *b* を排除するように進化したのも頷ける。また、最近の論文では、ストレプト藻類は早くから淡水環境だけでなく陸上環境にも適応する必要があったのではないかと議論されている¹³⁾。この議論が正しければ、コアアンテナからクロロフィル *b* を排除した理由は、淡水というよりは陸上環境に適応するため

であった可能性も十分に考えられる。ただ、この点においてはエビデンスが十分ではないため、さらなる研究が必要であろう。

また、コアアンテナにおけるクロロフィル *b* の蓄積量以外にも、光化学系 I の red forms に関して、海産性の緑藻と淡水性の緑藻で違いがあった。高等植物の光化学系 I には反応中心クロロフィルよりも長波長側の (720~750nm) 蛍光を放出するクロロフィルが存在することが知られており、red forms (red chlorophylls) と呼ばれる。興味深いことに、Swingley ら (2010) の研究によりプラシノ藻のモデルである *Ostreococcus* の光化学系 I が red forms を持たないことが明らかになっていたが⁽¹⁴⁾、私たちの研究結果から、他のプラシノ藻の光化学系 I も red forms を持たないことが裏付けられた⁹⁾。一方、淡水性の緑藻や陸上植物は、波長はそれぞれに異なるものの光化学系 I が red forms を持っていた。光化学系 I の red forms の機能はまだ十分には理解されていないものの、長波長域の光捕集に機能すると考えられている。それが正しいとすれば、そして海中の光スペクトルを考えると、海産性緑藻が red forms を集光に利用する必要性が低いのも頷ける。光化学系 I の red forms の形成には LHCI が寄与しているが、LHCI の配列のどのような違いが red forms の違いを生み出しているのかは、今後の課題である。

4. CAO の分子進化と光化学系の進化

3章では、同じ緑藻であっても、淡水性緑藻と海産性緑藻ではコアアンテナにおけるクロロフィル *b* の蓄積量に大きな差があり、それには大きな生理的な意義があることを述べた。では、どのようにして、緑藻はコアアンテナのクロロフィル *b* の蓄積量を制御しているのだろうか?実は、陸上植物の CAO は酵素活性ドメイン以外に制御ドメインを有しているが、対照的にシアノバクテリアの CAO にはこの制御ドメインが存在しない。つまり、この制御ドメインを進化的に獲得したのは緑色植物であろうと考えられる。CAO タンパク質はクロロフィル *b* の量に応答してタンパク質レベルで量的な制御を受けているが、その制御

に關与するのが制御ドメインである⁽¹⁴⁾。実際、制御ドメインを持たないシアノバクテリアの CAO や制御ドメインを欠損させたシロイヌナズナの CAO をシロイヌナズナに導入すると、クロロフィル *a* と *b* の量が同程度にまでクロロフィル *b* が増える^{15,16)}。具体的な機構としては、制御ドメインに 10 アミノ酸から成る「degron」があり、クロロフィル *b* の有無で CAO 構造が変化し、プロテアーゼのターゲットになると考えられている¹⁷⁾。この「degron」は非常に重要な配列であり、この配列がなければ CAO の蓄積量は飛躍的に高まり、クロロフィル *b* の量もそれに伴って増加することが明らかになっている¹⁸⁾。では、クロロフィル *b* の増加とコアアンテナのクロロフィル *b* の増加に相関は見られるだろうか？当研究室のシロイヌナズナの形質転換体を用いた preliminary なデータによればクロロフィル *b* の量が増加すれば、基本的にはそれに伴ってコアアンテナのクロロフィル *b* も増加するようである。これは緑藻を用いた実験データとも一致する。つまり、クロロフィル *b* が増加すれば CAO タンパク質の分解が促進されるというフィードバック制御が機能し、その結果としてクロロフィル *alb* 比が一定以上に保たれている限りは、コアアンテナにはクロロフィル *b* が蓄積できないようである。なお、「degron」配列はこれほど重要であるにもかかわらず、ストレプト藻/陸上植物でのみで保存されている。興味深いことに、コア緑藻に属するクラミドモナスやクロレラは制御ドメインと思われる（酵素活性ドメインではない）配列を有するものの、ストレプト藻/陸上植物の CAO の制御ドメインとの配列相同性は見られない。しかし、クラミドモナスやクロレラでは、クロロフィル *alb* 比は高く保たれており、何らかの制御機構を有するのではないかとと思われる。そのため、淡水性コア緑藻の CAO の量的制御はこれからの課題である。

また、ブラシノ藻のモデルである *Ostreococcus* や *Micromonas* はマミエラ (*Mamiella*) 属の緑藻であるが、その CAO は非常にユニークな構造をしている⁽¹⁰⁾。CAO は Rieseke center モチーフと mononuclear iron-binding モチーフを持っており、

その 2 つのモチーフ間での電子伝達が酵素活性に必要である。そして興味深いことに、*Ostreococcus* や *Micromonas* の CAO は 2 つのタンパク質に分裂しており、1 つのタンパク質が Rieseke center モチーフだけを持ち、もう 1 つのタンパク質が mononuclear iron-binding モチーフだけを有している。*Micromonas* の CAO を材料として調べたところ、どちらか 1 つのタンパク質だけをシロイヌナズナに導入してもクロロフィル *b* は合成されないが、2 つのタンパク質を同時に導入して初めてクロロフィル *b* が合成され、しかもクロロフィル *alb* 比は通常のシロイヌナズナよりも顕著に低くなった¹⁰⁾。その際には、2 つの分裂した CAO タンパク質が相互作用していることも確認できた。すなわち、これらの結果は、2 つに分裂した CAO タンパク質が相互作用することで初めて CAO として機能し得ることを示している。このように、1 つの酵素の 2 つのドメインが 2 つのタンパク質に分裂する例は珍しいと思われる。現時点では、その意義は十分には明らかになっていないが、おそらくは CAO の量的な制御に關与していると思われる。

ここまで述べてきたように、緑藻の CAO の制御機構については今後の研究課題であるが、CAO の量の制御が光化学系のコアアンテナのクロロフィル *b* の蓄積量と密接な関係にあることが明らかになってきた。そして、ブラシノ藻類のそしてコア緑藻類の CAO の制御機構に関しては今後の課題ではあるが、少なくともストレプト藻は CAO を厳密に制御するためのユニークな制御機構を獲得したことも明らかになってきた。緑藻の進化初期における CAO の分子進化によるクロロフィル *b* の量的な制御が、淡水(ストレプト藻)と深海(ブラシノ藻)という、両極端な光環境に緑藻が適応するための重要な鍵であったと考えている。

5. おわりに

光合成生物の光環境適応には周辺集光アンテナの多様性が重要であり、光合成生物は進化的に多様な光合成色素を用いて多様な周辺集光アンテナを獲得してきた。同時に、コアアンテナのク

クロフィル *a* を他のクロフィル色素に変えることにもメリットはあり、コアアンテナにクロフィル *d* を有するシアノバクテリアやクロフィル *b* を有する海産性緑藻のように、1) 光律速な生育環境で、しかも、2) 入手可能な光のスペクトルが太陽光とは大きく異なる生育環境に生育する光合成生物にとっては有利に働いてきたと思われる。このような例が今後も見つかるのかどうか、期待したい。また、興味深いことに海産性緑藻はクロフィル合成中間体の 3,8-divinyl protochlorophyllide *a* (DVPchl_{id}e) を周辺集光アンテナに蓄積し、おそらくは集光に利用している⁹⁾。合成中間体を集光アンテナに蓄積する機構については不明である。しかし、DVPchl_{id}e の吸収スペクトルがクロフィル *c* と非常によく一致することから、海産性の珪藻や褐藻がクロフィル *c* を利用することと同様に、(沿岸域での) 海中での集光の効率化に利用していると考えられる。クロフィル *c* を利用しない理由は、(二次共生藻が初めて進化的に獲得したという意味で) 進化的な制約であるのか、もしくはクロフィル *c* と DVPchl_{id}e の構造の違いにあるのかは現時点では明らかでない。これも今後の課題である。現在、DNA シークエンシング技術の向上にも支えられ、これまでは非モデル生物であった光合成生物の研究が広がりつつある中で、光化学系の光環境適応とその進化的な制約の関係性がより明らかになっていくだろう。それを楽しみにしたい。

謝辞

執筆の場を与えてくださった、日本光合成学会の編集委員の皆さまに深く感謝しています。本研究は小亀一弘博士(北海道大学)、藤田知雄博士(北海道大学)、村上明男博士(神戸大学)、井原邦夫博士(名古屋大学)との共同研究です。皆様に御礼申し上げます。

Received Oct 31, 2017; Accepted Nov 17, 2017; Published Dec 31, 2017

参考文献

1. Stomp, M., Huisman, J., Stal, L.J. and Matthijs, H.C. (2007) Colorful niches of phototrophic microorganisms shaped by vibrations of the water molecule. *ISME J.* 1, 271–282.
2. Croce, R. and van Amerongen, H. (2014) Natural strategies for photosynthetic light harvesting. *Nat. Chem. Biol.* 10, 492–501.
3. Neilson, J.A.D. and Durnford, D.G. (2010) Structural and functional diversification of the light-harvesting complexes in photosynthetic eukaryotes. *Photosynth. Res.* 106, 57–71.
4. Gray, J., Wardzala, E., Yang, M.L., Reinbothe, S., Haller, S. and Pauli, F. (2004) A small family of LLS1-related non-heme oxygenases in plants with an origin amongst oxygenic photosynthesizers. *Plant Mol. Biol.* 54, 39–54.
5. Hauenstein, M., Christ, B., Das, A., Aubry, S. and Hortensteiner, S. (2016) A role for TIC55 as a hydroxylase of phyllobilins, the products of chlorophyll breakdown during plant senescence. *Plant Cell* 28, 2510–2527.
6. Chen, M. (2014) Chlorophyll modifications and their spectral extension in oxygenic photosynthesis. *Annu. Rev. Biochem.* 83, 317–340.
7. Nowack, E.C.M., Price, D.C., Bhattacharya, D., Singer, A., Melkonian, M. and Grossman, A.R. (2016) Gene transfers from diverse bacteria compensate for reductive genome evolution in the chromatophore of *Paulinella chromatophora*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 12214–12219.
8. Becker, B. and Marin, B. (2009) Streptophyte algae and the origin of embryophytes. *Ann. Bot.* 103, 999–1004.
9. Kunugi, M., Satoh, S., Ihara, K., Shibata, K., Yamagishi, Y., Kogame, K., Obokata, J., Takabayashi, A. and Tanaka, A. (2016) Evolution of green plants accompanied changes in light-harvesting systems. *Plant Cell Physiol.* 57, 1231–1243.
10. Kunugi, M., Takabayashi, A. and Tanaka, A. (2013) Evolutionary changes in chlorophyllide *a* oxygenase (CAO) structure contribute to the acquisition of a new light-harvesting complex in *Micromonas*. *J. Biol. Chem.* 288, 19330–19341.
11. Leliaert, F., Verbruggen, H. and Zechman, F.W. (2011) Into the deep: New discoveries at the base of the green plant phylogeny. *BioEssays* 33: 683–692.
12. Sakuraba, Y., Yokono, M., Akimoto, S., Tanaka, R.

- and Tanaka, A. (2010) Deregulated chlorophyll *b* synthesis reduces the energy transfer rate between photosynthetic pigments and induces photodamage in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 51, 1055–1065.
13. Harholt, J., Moestrup, Ø. and Ulvskov, P. (2016) Why plants were terrestrial from the beginning. *Trends Plant Sci.* 21, 96–101.
14. Swingley, W.D., Iwai, M., Chen, Y., Ozawa, S., Takizawa, K., Takahashi, Y. and Minagawa, J. (2010) Characterization of photosystem I antenna proteins in the prasinophyte *Ostreococcus tauri*. *Biochim. Biophys. Acta* 1797, 1458–1464.
15. Yamasato, A., Nagata, N., Tanaka, R. and Tanaka, A. (2005) The N-terminal domain of chlorophyllide *a* oxygenase confers protein instability in response to chlorophyll *b* accumulation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 17, 1585–1597.
16. Hirashima, M., Satoh, S., Tanaka, R. and Tanaka, A. (2006) Pigment shuffling in antenna systems achieved by expressing prokaryotic chlorophyllide *a* oxygenase in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 281, 15385–15393.
17. Nakagawara, E., Sakuraba, Y., Yamasato, A., Tanaka, R. and Tanaka, A. (2007) Clp protease controls chlorophyll *b* synthesis by regulating the level of chlorophyllide *a* oxygenase. *Plant J.* 49, 800–809.
18. Sakuraba, Y., Tanaka, R., Yamasato, A. and Tanaka, A. (2009) Determination of a chloroplast degron in the regulatory domain of chlorophyllide *a* oxygenase. *J. Biol. Chem.* 284, 36689–36699.

Light environment adaptation of photosystem and its evolutionary limitation
— Photosystems of green algae as model —

Atsushi Takabayashi

Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University

解説

微細藻類によるバイオ燃料生産の量的考察 —光合成と増殖速度、必要なエネルギー量—

東京薬科大学生命科学部
都筑 幹夫*

光合成は、地球上のほとんどすべての生物の生存を支えている。今、人類は、社会のエネルギー生産に光合成を活かせないかと期待する。この課題を解決するには、経済性、エネルギー収支、そして生産量の3つの壁を越えなければならない。本稿では、3つ目、生産量の壁に焦点をあて、①クロレラにおける光合成とバイオマス生産および光量との関係、②地上到達太陽エネルギー量から予想されるクロレラ生産量と社会の期待量との違い、③固相表面利用の新規培養系における生産能力と光必要量を示して、④光源のための未利用電力の活用を提案する。

1. はじめに

光合成は、光受容から有機物生産まで、分子レベルの研究が進んでいる。一方、エネルギー問題や大気中二酸化炭素濃度の上昇という社会問題から、光合成や人工光合成によって解決できないかという期待が寄せられている。それを受けて微細藻類[†]のプロジェクト研究やその他多くの個別研究が進められてきた^{1,2)}。本誌でも、小俣らにより光合成微生物の能力と弱点について経済性とエネルギー収支の側面から解析され³⁾、櫻井により我が国における光合成研究の動きと水素生産技術について紹介された⁴⁾。そこで、本稿では

生産量の視点から、光合成とバイオマスの関係、新規培養法の生産能力、それに必要なエネルギー量を示した。その結果から、本課題は、大量生産技術の開発と、それに必要なエネルギー源確保の2項目に分けて開発することが社会実装に重要という考えに至った。未利用電源の量と性質についても提案する。

この代替エネルギー資源開発は以前からあったが、大きな波はトウモロコシやサトウキビを用いたバイオ燃料生産から始まった。しかし、食料価格の高騰や耕作地の転用が問題化し、食糧と競合しないバイオマス生産に目が向けられるよう

*E-mail: mtsu@toyaku.ac.jp

[†]“微細藻類”は、一般には真核光合成微生物を指し、原核生物は含まない。しかし、技術開発においては、シアノバクテリアを含めて表現されることが多い。また、“高等植物”も分類学的には維管束植物というべきところであるが、慣用的に用いさせていただく。

[‡]光合成研究に関する我が国の動きが、文献4で紹介された。そこに挙げられた「日米光合成研究協力事業」は、1978年に福田首相とカーター米国大統領との首脳会談で提案され、翌年締結された「エネルギー開発に関する日米科学技術協力協定」に由来する。その一つである「光合成による太陽エネルギー転換」は日本側主導で進めることになった。当時は文部省と科学技術庁とに分かれていたため、両省庁がそれぞれ独立に推進し、日米共同研究事業やその他の諸外国との国際交流が盛んに行われた。こうした交流を進めるために、光合成研究者の団体として1979年に日本光合成研究会が組織され、大型研究プロジェクトが実施された⁴⁾。その日本光合成研究会の方々が中心となって第9回国際光合成会議（1992年、名古屋、村田紀夫組織委員長）が開催され、2009年同研究会からの発展として日本光合成学会が誕生した。

になった。「微細藻類なら高等植物より少ない面積でバイオディーゼルを生産できる」という発表⁵⁾が契機となって、米国を中心に微細藻類の利用技術開発が盛んになった^{6,7)}。既に微細藻類利用の研究が行われていた我が国でも、NEDO や JST などの大型研究プロジェクトが進められるようになった。

微細藻類の応用研究が世界中で活発になってから 10 年、微細藻類利用は社会実装の可能性が見えてきているのであろうか。健康食品等への利用は社会での話題になっているが、独立栄養によるバイオ燃料生産技術はまだ実用化されていない。そのために越えなければならない障壁が複数存在する。光合成研究者でなければできないことを明確にし、その結果を社会に伝えることが大切であろう。

微細藻類の光合成能力は高等植物の光合成より高いと思う人が多い。それに対し Walker⁸⁾は「微細藻類も高等植物も光合成速度は変わらない」と注意を促した。光合成活性をクロロフィル量あたりで表現する限り、その速度は変わらない。高等植物との違いは、微細藻類は光合成をする細胞のみからなることと、液体として取り扱うことができることとであろう。基本的な疑問を明確にし、光合成を正しく伝えることが重要なのではなかろうか。

2. 微細藻類の光合成特性

—*Chlorella kessleri* 11h 株を例にして—

本稿では、比較的増殖がはやく、筆者が長年取り組んできた *Chlorella kessleri* 11h の結果を紹介しながら課題を考える。この株はドイツ・ゲッティンゲン大学の Sammlung von Algen- kulturen (SAG) 由来で、東京大学応用微生物研究所（現分子細胞生物学研究所）を経て、現在 NIES のカルチャーコレクションにトレボキシア藻綱 (Trebouxiophyceae) の *Parachlorella kessleri* NIES-2160 株として保存されている⁹⁾。

2.1. 細胞の炭素量あたりで表す光合成速度

光合成速度は、さまざまな因子をベースとして表される。その中でクロロフィル量を用いること

が多い。しかし、クロロフィル量は生育時の光環境によって変化しやすい。それぞれの因子の関係をもとにして、光合成速度を把握しなおすことも重要である。経験上、概ね認められるであろう範囲で、種々の因子の関係を表 1 にまとめた。

さて、*C. kessleri* 11h の光強度に対する見かけの光合成曲線をクロロフィル・ベースで表したのが図 1 である。最大光合成活性は $100\sim 120 \mu\text{mol mg}^{-1}\text{Chl h}^{-1}$ である。CO₂/O₂比を 1 とし、乾燥重量 (dry cell weight, DCW) 当たりのクロロフィル量をもとに最大光合成速度を乾燥重量あたりで表すと

表 1. *Chlorella kessleri* 11h の乾燥重量 1 g DCW 当たりの各パラメータの概数

光学的濁度 OD ₇₃₀ 値 ^a	2.8 ± 0.4
クロロフィル量 ^b	55~60 mg
細胞容積 (pcv) ^c	4 mL
実質細胞容積 (SIS) ^d	2 mL
細胞数	6.5~7.7 × 10 ¹⁰
全有機 C 含量	49 ± 3% (W/W)
全有機 N 含量	5.7 ± 0.5% (W/W)

a Beckman 社 DU-800 の光学系における 1 g DCWL⁻¹ の値。

b 通常実測値。光強度等により 20~80 mg の範囲で変動する。

c Packed cell volume。ヘマトクリットにて約 20 分遠心後の沈降量。

d Sorbitol Impermeable Space。¹⁴C-sorbitol と ³H₂O の差から求めた細胞膜内の体積¹⁰⁾。

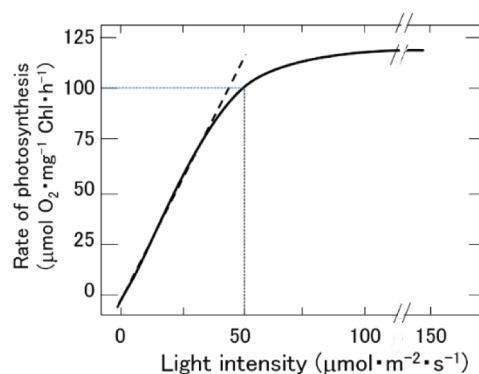


図 1. *C. kessleri* 11h の光—光合成曲線
32°Cでの測定結果に基づいた。直線(破線)は光利用効率を表す。

$$[100 \sim 120] \times 10^{-3} \times [55 \sim 60] \\ = 5.5 \sim 7.2 \text{ mmol g}^{-1} \text{ DCW h}^{-1}$$

すなわち、乾燥重量 1 g、1 時間あたり 5.5~7.2 mmol CO₂ が固定される。この値を炭素の重量で表すと 66~86 mg である。乾燥重量のうち 49% が C であることから、細胞内炭素あたりで固定される炭素量を表すと、

$$[66 \sim 86] / 490 = 0.13 \sim 0.18 \text{ h}^{-1}$$

すなわち、1 時間に細胞内有機炭素の 0.13~0.18 相当を光合成で固定していることになる。その逆数である 5.7~7.5 時間が、乾燥重量（すなわちバイオマス）が 2 倍になる時間（倍加時間）に相当する。実際、*C. kessleri* 11h における 30~32°C での倍加時間は 6.0~7.2 時間である。すなわち光合成速度から求められる細胞増殖速度と実際に認められる細胞の増殖速度とがほぼ一致する。細胞の光合成速度からバイオマス生産速度が決定されると結論できよう。ここで CO₂ の回収は、分子量の比から、乾燥重量増加量の 1.8 倍、すなわち乾燥藻体 1 kg 生産すると、1.8 kg の CO₂ が固定されることになる。

2.2. 光合成における光利用効率

では、光合成や細胞増殖にどれだけの光量が必要なのだろうか。培養液中の細胞濃度と濁度との関係をもとにして、細胞が吸収したとみなし得る光量を推定すると、光合成速度と光吸収量の関係が求められる。また、葉の光合成測定と同じ手法により、細胞をろ紙上に塗布した条件での光利用効率も求められる。その結果、飽和に近い光強度、例えば 50 μmol m⁻² s⁻¹ の光照射下では、1 mol の CO₂ 固定に概ね 15 mol 程度の光量子を要すると見做せる。文献 8 の Fig. 2 には *Spirulina* の光合成—光強度曲線が示されており、そこから酸素発生 1 分子あたり 16 および 31 の光量子数を要することが読み取れる。光合成で ATP 合成までの要求光量子数が 8 であること¹¹⁾から、増殖中の細胞の炭素固定に対して必要な光量子数が 15~20

であることは妥当と思われる。NO₃⁻ の還元やタンパク質合成などに関わるエネルギーも含まれているからである³⁾。

そこで、実際には効率が少し低い場合もあるとして 20 を用いる。すると、1 mol 光量子で 0.05 mol の炭素を固定することになり、上述の C の割合から 1.2 g DCW の細胞生産することになる。クロレラの熱量は 1 g DCW あたり概ね 3~4 kcal が報告されている^{12,13)} ことから、1.2 g DCW は 3.6~4.8 kcal で、15~20 kJ となる。本株は赤色光のみでも細胞増殖可能である。660 nm の単色光では 1 mol の光量子が 1.8 × 10⁵ J のエネルギーを持つことから、次式のように約 10% の光利用効率で細胞生産する。

$$\{[3.6 \sim 4.8] \times 10^3 \times 4.2 / (1.8 \times 10^5)\} \times 100 \\ = 8 \sim 11 \%$$

高等植物では根や茎、種子などの非光合成器官を持つことから、クロレラの方が効率が高いのは当然であろう。

3. 太陽光利用による光合成と可能なバイオマス生産量の推定

では、クロレラ細胞は、太陽光でどれだけのバイオマス生産を行えるのであろうか。よく地球表面に到達する太陽エネルギーは膨大と云われる⁴⁾。それは、地表に到達する前の大気圏上での値であり、その太陽光が地球の全生態系を賄っているのである。その中の一部に過ぎない人類は、どの程度の太陽エネルギーを利用していいのか、もし有意な量を利用したなら、地球の生態系を乱すことになりかねない。ここでは、地表に到達する太陽エネルギー量を考える。

3.1. 地表面に到達する太陽エネルギー量

—東京の地面に到達する量—

オープンポンドを用いた培養系は、九州以南の温暖な地域が選ばれることが多い。しかし、温帯での実施も考え、東京（北緯 35.7°）を例として大地に到達する太陽エネルギー量を求める。

まず、ある日ある時の光強度はどうかという観点で、夏至の天中時、晴天とした場合の太陽光強度を求めてみる。地球の表面（地表でなく、大気圏上空）に到達する太陽エネルギーは地球全体では 174 PW、単位面積当たりでは約 1.4 kW m^{-2} とされる。

$$174 \times 10^{15} / (6,356 \times 10^3)^2 \pi = 1.37 \text{ kW m}^{-2}$$

大気圏通過により主に紫外部が除かれるため、光強度は 70% まで減少し、 1.0 kW m^{-2} となる¹⁴⁾。1 W（ワット）数は、光の波長分布により換算係数は異なるが、光量子数 $\mu\text{mol sec}^{-1}$ に変換することができる¹⁵⁾。地上に到達した太陽光の係数は 4.57 であることから、夏至の東京の直達光は角度を考慮して次式となる。

$$\begin{aligned} 1.0 \text{ kW m}^{-2} \times 4.57 \times \cos(35.7 - 23.4) \\ = 4.5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ sec}^{-1} \end{aligned}$$

この値には、赤外部の光が半分(55%) 含まれる⁴⁾が、それでも微細藻類の光合成の飽和光強度をはるかに超え（図 1）、強光阻害を引き起こすほどの光強度である。実際、筆者らは真夏の直射光下で固相表面培養（後述）を試みたところ、太陽光を 9 割カットしてようやく細胞増殖をさせることができた¹⁶⁾。

次に、ある限られた時刻ではなく、年間を通してみた場合の太陽エネルギー量を考える。まず、自転に伴う昼夜のため地表側では半分となり、さらに東京の年間平均日照時間が年により変動するものの 1 日 5.1~5.4 時間しかない¹⁷⁾。季節の変化に伴って受光角度も変わる。受光角度の変化を積分で平均化すると係数は 0.79 となる。ちなみに、春秋分の日々の受光角度から求められる係数は 0.81 である。日照時間が季節に対し一定と仮定すると通年で平均値は、

$$\begin{aligned} 1.0 \text{ kW m}^{-2} \times 0.79 \times 5.3 \text{ h day}^{-1} \times 3600 \text{ sec h}^{-1} \\ = 14.5 \text{ MJ m}^{-2} \text{ day}^{-1} \end{aligned}$$

となる。この値は、上記の通り約半分が可視光である。過去の実測値は $12.7 \sim 14.1 \text{ MJ m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ でほぼ一致する¹⁷⁾。

3.2. 地表の太陽光で固定できる炭素量

3.1 で得られた値から、クロレラのバイオマス生産量が求められる。光合成が可能な可視光は、実測値より $5.7 \sim 6.3 \text{ MJ m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ 、そして、光量子への換算係数により $26 \sim 28 \text{ mol m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ となる。細胞増殖に必要な光量子数を 20 とすると、クロレラは $1.3 \sim 1.4 \text{ mol m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ の炭素を固定する。細胞量では、 $31 \sim 34 \text{ g DCW m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ となる。すなわち、東京の地表に到達する太陽エネルギーでクロレラを生産すると、 1 m^2 の 1 日平均で $31 \sim 34 \text{ g DCW}$ 、年間にして $11 \sim 12 \text{ kg DCW m}^{-2} \text{ year}^{-1}$ の生産が可能である。CO₂ の吸収は $20 \sim 22 \text{ kg CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ year}^{-1}$ と求められる。微細藻類をオープンポンドで培養した時の生産量と同程度の値である^{3,18,19)}。熱帯雨林の純一次生産量は 22 ないし $25 \text{ ton ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ と見積られている²⁰⁾から、微細藻類が太陽光を最大利用できればおおむね熱帯雨林の 5 倍ということになる。

4. 社会実装の可能性

では、微細藻類をどれだけ生産すれば、社会のニーズに応えられるのであろうか。

4.1. 社会が期待するエネルギー量

人類のエネルギー消費は世界全体で考察されることが多い⁴⁾。しかし、開発途上の国も含まれており、将来発展した時のことも考慮すべきである。我が国で本技術を開発するには、我が国におけるエネルギー事情を理解する必要がある。マクロミクロの 2 つの視点、すなわち、日本に輸入される石油等などの国全体の視点と、一人ひとりの日々の生活における食と生活のエネルギー量の比較で検討する（表 2）。我が国は年間、一次エネルギー供給で $2.0 \times 10^{19} \text{ J}$ 、最終エネルギー消費で $1.3 \times 10^{19} \text{ J}$ のエネルギー規模である²¹⁾。石油輸入量は約 2 億トン、エネルギー消費は石油換算で約 4 億トンである。一方、クロレラは我が国では輸入を含めて年間約 2 千トン消費されている²²⁾。

表2 我が国におけるエネルギー関連の概数

項目	概算値	備考 (文献)
食事による年間消費量	5.1×10^{17} J	日本 2,600 kcal/人 日 (24)
最終エネルギー年間消費量	1.5×10^{19} J	世界 4.3×10^{20} J (22)
年間 CO ₂ 放出量	13 億トン	世界 340 億トン
日本の石油輸入量 (年間)	2 〃	世界 石油 37 億トン, 石炭 50 億トン
エネルギー消費量 (年間)	4 〃	石油換算
穀類年間生産量:	0.11 〃	世界 25 億トン (総務省統計局資料)
クロレラ年間消費量	2 千トン	生産、輸入各 1,000 トン (23)
太陽エネルギー (東京の 1 m ² 当たり)		
真夏天中時 (瞬間値)	1.0 kW m ²	4.5 mmol m ⁻² sec ⁻¹ , 赤外部含む (14,15)
年間平均で 1 日あたり	13~14 MJ m ² d ⁻¹	昼 12 h として 0.3 kW m ² , 赤外部含む (18)

トン数の単純比較で 10⁵ 倍の開きである。せめて 1 万倍以上のクロレラ生産をイメージしなければ「代替エネルギー」とはなり得ない。東京に降り注ぐ太陽エネルギーでクロレラ生産をすると、1.7 万 km² の面積を要して 2 億トンの生産ができる。この面積は日本の 4% を超える。なお、細胞の炭素は CH₂O に近い炭素比率であるのに対し、石油は CH₂ であることを考慮すると、この違いはさらに広がる。石油 4 億トン分の消費は、CH₂ と CO₂ の質量比 14:44 をもとに CO₂ 排出量 13 億トンも説明できる。

次に、個人生活という観点でとらえると、上述のように我が国の最終エネルギー消費が 1.27 億人の生活を支えていることから、1 人当たり 1 日 3.2×10^8 J 消費している。一方、食事に関しては、1 人 1 日 2,600 kcal とする²³⁾と、 1.1×10^7 J となる。日本における生活は、食事でとるエネルギーを 1 として、概ね 30 倍のエネルギーを生活面に充てているのである。文献 4 では 2000 kcal/日と一次エネルギー供給の値を用いて 49 倍と算出している。いずれにせよ、食と生活の差は農業と工業の差を意味し、微細藻類の光合成は、農業でなく、工業生産として期待されているのである。

4.2. 社会実装をめざした固相表面利用の培養システム (SSCC)

微細藻類を国内で年間 1 億トンのレベルで生産するには、特殊な培養系を構築する必要がある。すでに述べたように、太陽エネルギーを主要光源として求めるならば、砂漠や海洋等の広大で温暖な場所しかない。筆者らは、コストや太陽光の不足は今後の課題とし、まず「大量に生産できること」に重点を置いて、人工光を用いた新規の微細藻類大量培養システム SSCC (Solid Surface Continuous Culture) を開発してきた²⁴⁻²⁶⁾。クロレラなどの微細藻類は布などの固相表面でも水分があれば十分増殖できるという性質を利用した培養法である (図 2)。このシステムは、固相支持担体の表面上を培養液が流れるため、通常の液体培養と異なる利点を持つ。数 m 以上の縦型の培養システムでも培養容器にかかる水圧や大規模の水漏れの危険が少なく、CO₂ ガスも水中を通気しないため圧力の問題がない。1 m 立方程度のユニットが作れば、その重層化による拡大も可能である。縦に装置を設置できる点と設置場所の汎用性のよさから、既存の工場等の建造物横に装置を設置することが可能である。工場からの排ガス、排水、さらに熱を取り入れることも可能となる。

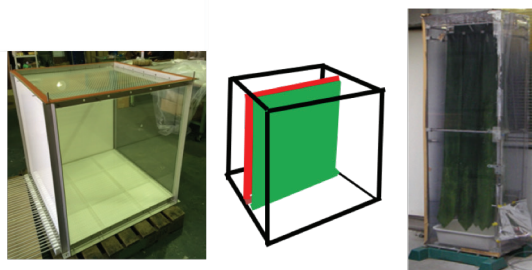


図2 固相表面培養 (SSCC) 装置の模式図
中央：緑が細胞、赤が光源、左図：1 m³ ユニットのフレーム枠、高さ約2 m屋外培養時の写真。
出典 26)より配置改変。

工場の熱源を利用できれば、高緯度地域でも1年中運転可能である。経済性に関しては、布に多くの細胞が付着するため培養液の液量が抑えられ、また、濃い細胞濃度で細胞回収ができる。しかし、布などの支持担体や照射の光エネルギーの経費は大きい。

これまでの結果では、培養初期には液体培養と同程度の細胞増殖速度を示し、布1 m²あたり20 g DCW m² day⁻¹のクロレラ生産が達成できている²⁶⁾。この値は、オープンポンド1 m²分の生産と比較可能なレベルである。縦につるした布で、同面積の池での培養が可能になったとも言える、装置の床の幅1 mに10枚布を設置できれば、床面積当たりで池の10倍の生産量となる。文献3では、微細藻類の弱点として「空間秩序の欠如」が挙げられているが、SSCCは装置の立体化によって、この弱点を解消したと言えるのではないだろうか。このユニットをさらに10 m積み上げればさらに10倍、すなわち単位土地面積当たり池の100倍の生産能力となる。下に示す通り、1 m²あたり年間1トンのクロレラ生産が達成できれば社会のニーズに対応できる。高さ15 m程度の積み上げで達成可能と計算される。さらなる効率化と実証データが今後の目標となるが、微細藻類の工業生産系の概要が見えたと言って許されるのではなかろうか。

4.3. 培養施設の設置面積から見た可能性

土地1 m²あたり年1トンのバイオマス生産が可能となった場合、どれだけの土地に装置を設置

できるであろうか。我が国の工業用地は、1.7 x 10³ km²である²⁷⁾から、もしこの微細藻類培養装置 (SSCC)が工場緑地設置法の緑地として認められるようになれば、170~340 km²の土地面積が利用できることになる。国内で年間1.7~3.4億トンの生産が可能となり、バイオマスとしては日本の石油消費に見合う量となる。すなわち、SSCCの新規培養システムは社会ニーズに応えられる。次の視点はバイオ燃料そのものの生産である。脱水や硫黄(S)の欠乏、高浸透圧などのストレスで、脂質の含有量、とりわけトリアシルグリセロールの蓄積が増すこと、乾燥重量の約25%に達することなどが明らかになっており²⁸⁻³⁰⁾、クロレラ以外の微細藻類でも脂質の蓄積が知られている³¹⁾。

4.4. 微細藻類の社会実装に必要な未利用電力

ここで見えてきた壁は、太陽光以外のエネルギーの獲得である。上記の結果から、20 mol (効率が良ければ15 mol)の光量子があれば、24 g DCWのクロレラ細胞が生産でき、44 gのCO₂を固定できる。20 molの赤色光は光として1 kWhにあたることから、電力から光への転換効率を仮に20%とすれば、電源として5 kWhが必要である。この数値は拡大すると、2.4億トンのクロレラ生産に5 x 10¹⁶ Whすなわち1.8 x 10²⁰ Jの電力が必要ということになる。この電力は急な停電も一応許容でき、1日のうち半分しか供給されない電力でもかまわない。安価な電力であれば、質的に難のある電力でも光源として利用できる。これは、植物工場にも当てはまる。風力発電の稼働率が30%に満たないことやボイラーの排熱などを考えると、社会の中に未利用電力は存在するし、消費地と離れていて発電には向かない自然エネルギーなども多い。

自然エネルギーの賦存量は、洋上風力だけで年間2.8 x 10¹⁶ Whに達する³²⁾とされており、換算すると1 x 10²⁰ Jに相当する。この値は日本のエネルギー消費に匹敵する。日本国内に存在する未利用のエネルギーを利用できれば、光合成による、CO₂の除去と有機化合物への転換を微細藻類生産によって行うという社会実装が実現するかもしれない。

4.5. おわりに

一生産量から経済性とエネルギー収支へ

微細藻類の光合成利用の社会実装には、経済性やLCA (Life Cycle Assessment) などのエネルギー収支、生産量、さらには環境影響の考慮が不可欠である。初期投資の後、運転時にコストがかかるのは光源であることから、安価な未利用電源は重要である。SSCC は、工場の排水で細胞培養が可能なることも判明し、リンの回収に役立つことも明らかとなっている²⁶⁾。それゆえ、CO₂除去以外の環境浄化にも適用できる可能性もあるし、培養液の経費削減にもなる。

微細藻類の大量生産技術は、中・高緯度の地域では、太陽エネルギーの直接利用を中心には考えにくい。光合成は、光エネルギーによるCO₂除去と有機化合物への転換のための技術として役割を担うことが重要と思われる。それに必要なエネルギーの量と特性を社会に伝えて、その開発は関連領域に委ねることが大切なのではないだろうか。本稿では、生産量に重点を置いて考察を進めてきた。未利用電力を利用する場合のコストや量など、新たな社会インフラには光合成研究者側では不明な点が多い。利用できるかどうか明確になれば、今後の開発の方向性がより堅固なものになるであろう。光合成研究が人類社会に大きな貢献をなすことを願う。

謝辞

SSCC の開発は長年にわたり、JST-CREST や文科省科研費、川崎市などの研究費等のご支援のもとで進められました。関係機関に深く感謝申し上げます。また、研究室の多くの学生とスタッフの実験等による推進、個人的にこの研究にご支援くださった方々からの励ましに心よりお礼申し上げます。本稿執筆にあたり、大森正之先生、櫻井英博先生、村田紀夫先生からご指導をいただきましたこと誠にありがとうございました。

Received Nov 4, 2017; Accepted Nov 18, 2017; Published Dec 31, 2017

参考文献

1. Zhou, W., Wang, J., Chen, P., Ji et al. (2017) Bio-mitigation of carbon dioxide using microalgal systems: Advances and perspectives. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 76, 1163–1175.
2. Unkefer, C.J., Sayre, R.T., Magnuson, J.K., Anderson, D.B. et al. (2017) Review of the algal biology program within the national alliance for advanced biofuels and bioproducts. *Algal Res.* 22, 187–215.
3. 小俣達男, 藤田祐一, 前田真一 (2010) 光合成微生物は資源・エネルギー分野で人類に貢献できるか? —生産性を規定する諸要因の分析—, *光合成研究* 20, 65–71.
4. 櫻井英博 (2016) 光合成微生物を利用した再生可能エネルギー生産実用化のための課題—社会からの期待, 研究の歴史, シアノバクテリアの水素生産, *光合成研究* 26, 23–33.
5. Chisti, Y. (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25, 294–306.
6. Mascarelli, A. L. (2009) Gold rush for algae. *Nature* 461, 460–461.
7. Wijffels, R.H. and Barbosa, M. J. (2010) An outlook on microalgal biofuels. *Science* 329, 796–799.
8. Walker, D.A. (2009) Biofuels, facts, fantasy, and feasibility. *J. Appl. Phycol.* 21, 509–517.
9. 国立環境研究所微生物系統保存施設 NIES Collection, 保存株情報.
10. Badger, M.R., Kaplan, A. and Berry, J.A. (1980) Internal inorganic carbon pool of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 66, 407–413.
11. 加藤栄 (1981) 葉緑体反応、光合成 I (宮地重遠編) pp. 53–57, 朝倉書店, 東京.
12. 杉山勇作, 上野幹憲, Satuito, C.F.P. 他 (2011) 微細藻類 *Parachlorella kessleri* KNK-A001 株乾燥粉末のマガキ稚貝およびシオミズツボワムシに対する飼料としての有用性の検討, *水産増殖* 61, 380–394.
13. Ghayal, M.S. and Paandya, M.T. (2013) Microalgae biomass: a renewable source of energy. *Energy Procedia* 32, 242–250.
14. 太陽エネルギーの基礎知識 (2009) 平成 21 年度業務用太陽熱利用システム設計ガイドライン報告書, 第 1 章 p. 5, 資源エネルギー庁.
15. 園池公毅, 光の単位—光合成の森, <http://www.photosynthesis.jp/light.html> (2017 年 11 月現在).

16. 佐藤諒, 有賀理沙, 青木元秀 他 (2015) 自然光下におけるクロレラ固相表面培養の検証実験, 第17回マリンバイオテクノロジー学会大会, 東京.
17. 全天日射量 (2016) 東京平年値, 過去のデータ資料, 気象庁 HP.
18. Lee, Y-K. (2001) Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. *J. Appl. Phycol.* 13, 307–315.
19. Brennan, L. and Owende, P. (2009) Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14, 557–577.
20. 川口英之 (2004) 第9章生態系の構造と機能、生態学入門 (日本生態学会編) pp. 195–210, 東京化学同人, 東京.
21. エネルギー需給の概要 (2017) 平成 28 年度エネルギーに関する年次報告 (エネルギー白書 (2017)), 第2部第1章第1節, 資源エネルギー庁 HP.
22. クロレラ市場堅調推移 (2004) 健康食品新聞 2004.12.22/29 合併号, 食品化学新聞社 HP.
23. 我が国の食料自給率の動向 (2012) 平成 24 年度食料・農業・農村白書, 第1部 第2章 第2節 p.78, 農林水産省.
24. 都筑幹夫, 白武琢磨, 鈴木美穂他 (2012) 人工光利用による微細藻類の生産技術開発, 東京薬科大学研究紀要 15, 9–16.
25. 白武琢磨, 有賀理沙 他 (2013) 微細藻類の大量培養を目指した固相表面連続培養系の開発, 日本植物学会第77回大会, 札幌.
26. 平成 29 年度共同研究事業発表資料 学校法人東京薬科大学 (2017) 平成 29 年度共同研究事業キックオフセミナーの開催結果, 川崎市環境総合研究所, 川崎市 HP.
27. 工業用地、I-8 利用目的別面積(2002)総合統計書第1章, 総務省統計局 HP.
28. Shiratake, T., Sato, A., Minoda, A. et al. (2013) Air—drying of cells, the novel conditions for stimulated synthesis of triacylglycerol in a green alga, *Chorella kessleri*. *PLoS ONE* 8, e7963.
29. Mizuno, Y., Sato, A., Watanabe, K., Hirata, A. et al. (2013) Sequential accumulation of starch and lipid induced by sulfur deficiency in *Chlorella* and *Parachlorella* species. *Bioresour. Technol.* 129, 150–155.
30. Hirai, K., Hayashi, T., Hasegawa, Y. et al. (2016) Hyperosmosis and its combination with nutrient limitation are novel environmental stresses for induction of triacylglycerol accumulation in cells of *Chlorella kessleri*. *Sci. Rep.* 6, 25825.
31. Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardini, M. et al. (2008) Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J.* 54, 621–639.
32. 再生可能エネルギー資源等の活用による「緑の分権改革」の推進のために (2011) d 再生可能エネルギー資源等の不遡量の調査についての統一的なガイドライン p. 43 表 53 緑の分権改革推進会議, 第4分科会, 総務省 HP.

Demand of unutilized energy resources for algal biofuel production

Mikio Tsuzuki

School of Life Sciences, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

解説特集

光合成の水の酸化機構と電子伝達

Editors: 杉浦 美羽 (愛媛大学)

序文	杉浦 美羽 (愛媛大)	181
解説 光合成水分解反応の赤外分光解析	中村 伸 (名古屋大)	182
解説 光化学系 II 表在性タンパク質の分子進化と酸素発生における役割	伊福 健太郎 (京都大)	191

解説特集

序文[‡]

愛媛大学 プロテオサイエンスセンター
杉浦 美羽¹

太陽光は地球に降り注ぐ重要なエネルギー源で、大気中での散乱や雲による反射がありながらも、地表には1時間あたり約 8.5×10^{16} W ものエネルギーが届いています。そして地球上には約 1.4×10^{16} ton の水が存在します。光合成生物はこれらの一部の水と太陽光エネルギーを使って、1年間に 2.6×10^{11} ton の酸素を放出し、私達を含む好気性生物の生存を支えています。この酸素の発生は、約 27 億年前に、水の酸化機能を獲得したシアノバクテリアによってもたらされました。水の酸化反応は、光合成電子伝達系の最初の反応を担う「光化学系 II 複合体」によってのみ行われます。殆どの電子授受に関わる生体分子の酸化還元電位は $-0.4 \sim +0.4$ V (vs. SHE) の範囲内であることを考えると、いくら地球に無尽蔵にあるからとはいえ、約 $+0.8$ V (vs. SHE) もある水を電子供与体として用いるために、シアノバクテリアは創意工夫して現在の光化学系 II 複合体へ進化したものと想像できます。水の酸化は光化学系 II に結合した Mn と Ca と O の錯体 (Mn クラスター) によって触媒されますが、この過程で生じた電子が Tyr_Z を介して約 $+1.2$ V もの酸化還元電位をもつ P₆₈₀ に受容されることによって可能になっていることを忘れてはなりません。P₆₈₀ は電子受容体としての役割のみならず、光励起と電荷分離による電子の供与という重要な役割も担っています。

光化学系 II では、「光励起」「水の酸化」および「電子伝達」が見事に連携して、地球に無尽蔵に降り注ぐ太陽光エネルギーと無尽蔵に存在する水を使って、酸素と最終的には高い還元力をもつ NADPH や高エネルギー化合物 ATP を作り出しています。水の酸化や電子移動の分子機構を明らかにすることは、学術的に重要であることはもちろんのこと、水や光を利用してエネルギー生産する人工光合成研究への応用に非常に重要な課題として注目されています。

このような背景の中、光化学系 II の基礎研究は活発で、世界をリードしています。そこで、2017 年 5 月 27 日に龍谷大学の瀬田キャンパスで開催された第 8 回日本光合成学会のシンポジウム 1 では、「光合成の水の酸化機構と電子伝達」を企画し、今後のご活躍を期待される 3 名の若手の研究者にご講演いただきました。3 名のご講演の後、総合討論の時間を設けたところ、特に若い方を中心に大変活発な討論に発展しました。日本の光合成研究の未来が明るいこと、多くの方が光化学系 II の分子構造や機能にご興味を持たれていることを大変嬉しく思いました。本特集が、分子レベルでの光化学系 II の構造と機能、水の酸化機構の理解を深めるものになれば幸いです。

最後に、本特集の編纂にあたって、本誌編集委員長の伊福健太郎先生には、解説記事の執筆と編集の両方をお願いすることになり、大変お世話になりました。この場を借りて御礼申し上げます。

[‡]解説特集「光合成の水の酸化機構と電子伝達」

¹連絡先 E-mail: miwa.sugiura@ehime-u.ac.jp

解説

光合成水分解反応の赤外分光解析[†]名古屋大学大学院 理学研究科
中村 伸*

光合成における水分解反応は、光化学系 II の水分解中心に存在する Mn クラスターにおいて行われる。最近の X 線結晶構造解析により、水分解中心の原子レベルでの構造が示された。しかし、水分解反応は水から電子とプロトンを引き抜く複雑な反応であるため、その詳細な反応機構は未だ明らかにされていない。本解説では、水分解中心のアミノ酸残基および水分子の水分解反応における役割の解明を目指した、フーリエ変換赤外分光 (FTIR) 法および量子化学計算を組み合わせたアプローチを紹介し、我々がこれまでに得た結果を報告する。

1. 光化学系 II タンパク質

光化学系 II タンパク質 (PSII) は、光合成反応において水分解の役割を担っている。アンテナクロロフィルからの励起エネルギー移動により反応中心クロロフィル (二量体クロロフィル P680 およびモノマークロロフィル Chl_{D1}) が励起され、電荷分離を起こすことにより、水分解反応が進行する。電荷分離の後、電子はフェオフィチン (Pheo)、プラストキノン (Q_A, Q_B) へと移動し、化学エネルギーに変換される。一方、P680⁺ は、酸化還元活性のあるチロシン残基 (Y_Z) を介して、水分解中心の Mn クラスターから電子を引き抜く。その後、Mn クラスターは、一連の反応により水から電子を得て、還元状態へと戻る。

PSII は対称的な色素配置を持つにもかかわらず (図 1)^{1,2)}、PSII 内の電子移動は非対称的である。この電子移動の非対称性は、水分解の高い量子効率に寄与している。

水分解中心の原子レベルの構造は、最近の X 線結晶構造解析^{1,2)}により明らかにされた。それによると、水分解中心は、4つの Mn 原子と 1つの Ca 原子が 5つの酸素原子で架橋された Mn ク

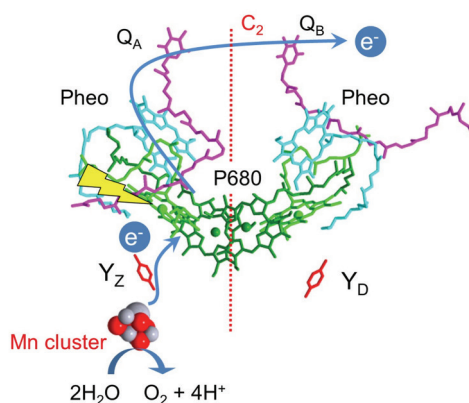


図 1. 光化学系 II における色素配置および電子伝達鎖

ラスターと、それを支える 6つのカルボキシル基および一つのイミダゾール基によるアミノ酸配位子により形成される (図 2)。Mn クラスターでは、電子が引き抜かれることにより、S 状態と呼ばれる中間状態 (S₀-S₄) の遷移が起こる³⁻⁵⁾。これは、S 状態サイクルと呼ばれ、暗中で最も安定な S₁ 状態から始まり、4回の電子移動により 2分子の水が分解され、4つのプロトンと 1つの酸素分子が生成する (図 2)。しかし、この反応は、電子、プロトン、および水分子が関与する極めて

[†]解説特集「光合成の水の酸化機構と電子伝達」

*連絡先 E-mail: snakamura@bio.phys.nagoya-u.ac.jp

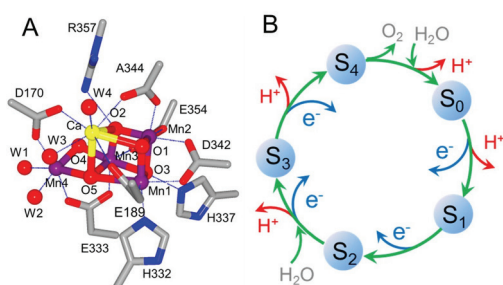


図2. (A) 水分解中心の構造および (B) S状態サイクル

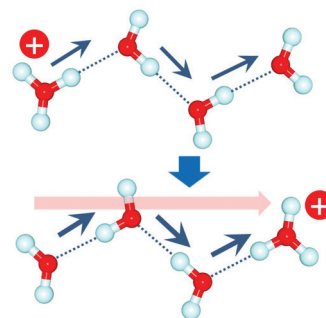


図3. グロッタス機構によるプロトン移動

複雑な反応であるため、その詳細な反応メカニズムは未だ明らかとなっていない。

水分解反応において、プロトン放出は特に重要な過程である。プロトンはS状態遷移に伴って段階的に放出されるため ($S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_0$ に対して1:0:1:2)⁶⁾、どのプロトンがどの経路を通過して排出されるかというプロトン放出過程の理解が水分解機構の解明に必須である。プロトンは水素結合ネットワーク上を移動して放出されるが、結晶構造では複数の可能な経路が示されており¹⁾、4つのプロトンがそれぞれどの経路を用いて排出されるかについての結論は未だ得られていない。

プロトンが水素結合ネットワークを用いて放出される際には、グロッタス機構⁷⁾に従うプロトン移動が起こると考えられている(図3)。この機構では、水素結合ネットワーク上の複数のプロトンが、水素結合に沿って同時に移動することにより、1つのプロトンが自ら拡散して移動する場合に比べて、遥かに迅速なプロトン移動を実現することができる。この機構によるプロトン放出では、水素結合上でのプロトンの位置が極めて重要な意味を持つ。しかし、結晶構造ではプロトンの位置は示されていない。そのため、水素結合ネットワーク上の水素結合構造を明らかにすることは、プロトン放出機構の解明のために必要不可欠である。

2. フーリエ変換赤外分光 (FTIR) 法

光合成研究において、可視光を用いた測定はクロロフィルなどの色素の解析において盛んに

行われてきたが、この手法によって水分子やアミノ酸の反応を解析することは困難である。一方、化学結合を検出する赤外分光法は、タンパク質中における水分子やアミノ酸の構造・反応を解析する手段として、極めて有力な手法である。水分解反応は、プロトン解離や水素結合の生成・切断を伴うため、赤外分光法はその機構解明において特に有効な手法であるといえる。

赤外スペクトルにおいて、 $3700 \sim 2300 \text{ cm}^{-1}$ の領域は、O-HやN-Hなどの水素結合に参与する振動の赤外吸収の領域であり、 $1800 \sim 1000 \text{ cm}^{-1}$ の領域は、タンパク質のポリペプチド鎖や側鎖の吸収が観測される領域である。しかし、PSIIは巨大なタンパク質複合体であるため、その赤外吸収の中から、水分解反応に関与するアミノ酸残基および水分子の吸収を抽出する必要がある。その手法として有効なのが、光誘起フーリエ変換赤外 (FTIR) 差分分光法である。この手法では、光反応前後の1万分の1以下の微小な赤外吸収変化を検出することにより、タンパク質中の活性部位における構造変化のみを抽出することができる。

さらに我々は、赤外分光測定に加えて、量子化学計算による基準振動解析を行うことにより、より詳細な構造・反応解析を行った。量子化学計算では、quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) 法を用いて、周囲のタンパク質環境を取り込むことにより、高精度の構造予測および振動スペクトルのシミュレーションが可能となる。この理論計算と実測を組み合わせたアプローチにより、実測スペクトルのみからでは困難

なバンドの帰属や構造変化への対応づけを行った。

3. 酸化還元活性のあるチロシン残基 Y_Z および Y_D のプロトン共役電子移動反応

水分解反応の高い量子効率を実現するためには、P680⁺から Y_Z への電子移動の効率を高めることが必要である。実際、 Y_Z の酸化速度は Y_D のそれよりも速く、 Y_Z が優先的に酸化される⁸⁻¹⁰。また、再還元速度についても、 Y_Z は Mn クラスタから電子を引き抜き、迅速に還元状態に戻るのに対し、 Y_D は酸化状態のまま安定に存在する¹¹。この Y_Z および Y_D の酸化還元速度の違いにより、PSII 酸化側の電子移動の非対称性が生じると考えられる。しかし、この反応速度の違いを生じる分子メカニズムは解明されていなかった。

この電子移動速度の違いの原因を解明するため、チロシン残基のプロトン共役電子移動反応に着目した。 Y_Z および Y_D は、それらの酸化に伴いフェノール基のプロトンが脱離し、中性ラジカル Y_Z^{\cdot} および Y_D^{\cdot} を形成する^{9,11-15}。そのため、チロシン残基のプロトン移動の解析は、 Y_Z および Y_D の酸化還元反応のメカニズムを明らかにする上での鍵となる。

まず、水素結合構造を比較するため、 Y_Z および Y_D の酸化に伴う FTIR 差スペクトルを測定した (図4)¹⁶。 Y_Z^{\cdot}/Y_Z 差スペクトルには 2800 cm^{-1}

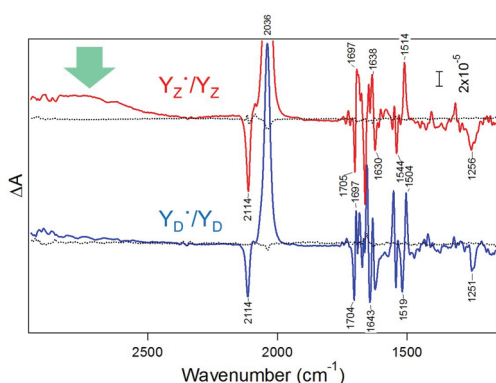


図4. Y_Z (赤線) および Y_D (青線) の酸化に伴う FTIR 差スペクトル

緑矢印は、 Y_Z^{\cdot}/Y_Z FTIR スペクトルに特徴的な幅の広い正のバンドを示す。

付近に幅の広い正のバンドが現れた。このバンドは、同位体置換および量子化学計算により、 Y_Z と隣接する D1-His190 の N₁H 伸縮振動に由来することが示された。これは、 Y_Z が酸化された際に、そのプロトンが D1-His190 へ移動し、プロトン化した HisH⁺ を形成したことを意味する。広いバンド幅は、 Y_Z^{\cdot} -His 間のプロトンが、強い水素結合に起因する高いプロトン分極を持ち、周囲の環境の変動に応じて動きやすい性質を持つことを示している¹⁶。こうした Y_Z -His 間の水素結合構造とプロトン移動は、斉藤・石北らの理論研究の結果¹⁵と一致する。 Y_D^{\cdot}/Y_D 差スペクトルには同様のバンドは観測されなかったことから、 Y_D の水素結合構造やプロトン移動機構は Y_Z のそれとは異なると考えられる。

Y_Z および Y_D のプロトン移動の違いをさらに検証するため、これらの酸化に伴って放出されるプロトンを、Mes 緩衝剤の赤外バンドの同位体効果を用いて検出した (図5)¹⁷。 Y_Z の酸化では有意なスペクトル変化が検出されなかったのに対し、 Y_D の酸化では Mes のプロトン化を示すバンド変化が検出された。これは、 Y_D の酸化によって、プロトンがタンパク質外へ放出されたことを示す。この結果から、二つのチロシン残基では、水素結合構造だけでなく、プロトン移動距離も大きく異なると考えられる。 Y_D については、結晶構造において、 Y_D からバルクへ続く水素結合ネッ

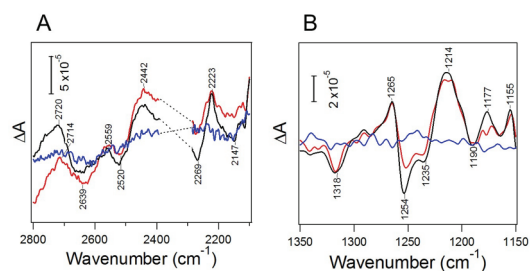


図5. Mes 緩衝剤の赤外バンドによるプロトン検出 (A) 2800~2150 cm^{-1} および (B) 1350~1150 cm^{-1} 領域。 Y_Z (青線) と Y_D (赤線) の酸化に伴う重水素置換 Mes と非置換 Mes の二重差スペクトルを示す。(黒線) 水分解反応に伴う重水素置換 Mes と非置換 Mes の二重差スペクトル。水分解反応では、同数の電子とプロトンが放出されるため、このスペクトルは1電子移動あたりの1プロトン放出を示す。

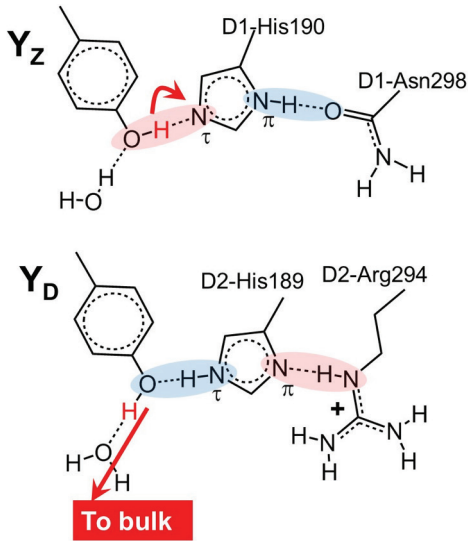


図 6. Y_z および Y_D のプロトン共役電子移動反応のモデル

トワークの存在が示されている¹⁾。さらに、斉藤・石北らの理論研究¹³⁾により、 Y_D のプロトンはその経路を辿ってバルク付近まで移動することが予測されている。我々の実験結果は、この理論予測を実証するものであり、 Y_D のプロトンは PSII タンパク質中の水素結合ネットワークを辿って、バルクへ放出されると考えられる¹⁹⁾。

Y_D からのプロトン移動は、タンパク質外への移動であり、 Y_z の隣接する His へのプロトン移動に比べて、遥かに長距離のプロトン移動である。そのため、プロトン移動の活性化エネルギーは Y_D の方が著しく高いと考えられる。プロトン共役電子移動反応においては、電子移動とプロトン移動は共役して起こるため、その活性化エネルギーの違いは二つのチロシンの酸化速度を左右する。こうした Y_z と Y_D のプロトン移動機構の違いは、His の N_π に水素結合するアミノ酸の違いに起因すると考えられる (図 6)。 Y_D に隣接する D2-His189 は、D2-Arg294 の水素結合アクセプターであるため、His はカチオン型をとることができない。それに対して、 Y_z に隣接する D1-His190 は、D1-Asn298 の水素結合ドナーであるため、プロトン化したカチオン型をとることが可能である。したがって、His の N_π に水素結合

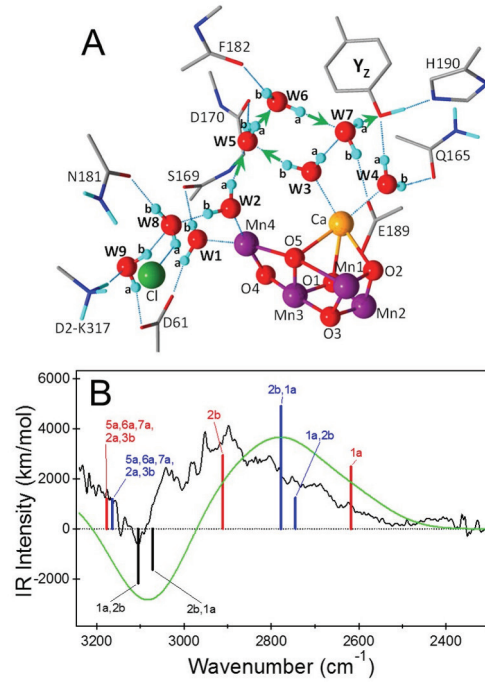


図 7. (A) Mn クラスタ近傍の水分子ネットワークの構造、および (B) $S_1 \rightarrow S_2$ 遷移の実測 FTIR 差スペクトル (黒線) と量子化学計算により計算された水分子の OH 伸縮振動バンド (緑線)

(B) における線スペクトルは、計算によって得られた各 OH 基準振動 (黒線: S_1 状態; 赤線: Mn4 が酸化された S_2 状態; 青線: Mn1 が酸化された S_2 状態)。緑線は、各振動に対して 150 cm^{-1} の半値全幅を仮定してスペクトルを計算したものの。(A) における緑矢印は、複数の水分子に非局在化した同位相 OH 伸縮振動の振動形を示す。

するアミノ酸が変化することにより、対称的な位置にある二つのチロシン残基の電子移動速度が制御されていると結論付けた¹⁷⁾。

4. 水分解におけるプロトン放出機構

水分解反応におけるプロトンの放出機構を解明するためには、Mn クラスタの近傍に存在する水分子ネットワーク (図 7 A) の解析が必須である。水分子の水素結合構造の解析には、 S 状態遷移の FTIR 差スペクトルにおいて $3200 \sim 2300 \text{ cm}^{-1}$ に観測される幅の広いバンド¹⁸⁾が利用できる。強い水素結合を持つ OH または NH 基に起因するそれらのバンドは、水分解における Mn クラスタ近傍の水素結合ネットワークの構造変化を示しており、バンドの正確な帰属は、プロトン

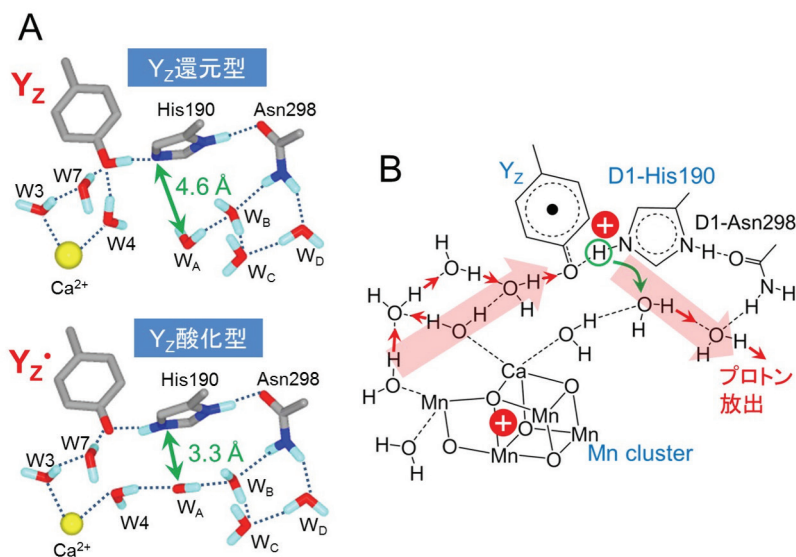


図 8. (A) 量子化学計算によって求めた Y_z の還元状態と酸化状態における水分子ネットワークの構造、および (B) 水分解反応における $Y_z^{\bullet+}$ -HisH⁺経路のプロトン移動モデル

放出機構を理解するための重要な情報を与える。我々は、Mn クラスタ近傍に存在する水分子の振動を、QM/MM 法を用いて計算した¹⁹⁾。

その結果、 $S_1 \rightarrow S_2$ 遷移における FTIR 差スペクトルの 2800 cm^{-1} 付近の幅広いバンドがほぼ再現され、これは強い水素結合を持つ水分子の OH 伸縮振動に帰属された (図 7B)。特に、 3200 cm^{-1} 付近には、5 つの水分子に非局在化する、同方向にプロトンが動く同位相振動が存在していた (図 7A 緑色矢印)。この振動におけるプロトンの動きは、グロッタス機構に従うプロトン移動と一致しており、水分解の際には、この水分子ネットワークの同位相振動により迅速なプロトン移動が可能となると考えられる。

さらに我々は、 Y_z の酸化に伴う水分子ネットワークの構造変化を QM/MM 法により計算した (図 8)¹⁶⁾。その結果、水分子の一つ (図 8 中の W_A) が D1-His190 の N_{τ} 近傍へ移動し、それに伴って、水素結合の再構築が起こることが示された。この Y_z 酸化による水分子 W_A の移動から、高いプロトン分極を持つ $Y_z^{\bullet+}$ -HisH⁺間のプロトン (上記 3 参照) が W_A へ移動する可能性が示唆された¹⁶⁾。

以上の結果から、我々は、水分解反応のプロトン放出に Y_z が関与するプロトン移動モデルを提唱した¹⁶⁾。まず、 Y_z の酸化に伴い、プロトンの D1-His190 へのシフトと水素結合構造の再構築が起こる。そして、 $Y_z^{\bullet+}$ -HisH⁺間のプロトンが、近づいた水分子 W_A へと移動する。それと同時に、非局在化した OH 振動を用いたグロッタス機構に基づく基質水分子からのプロトン移動¹⁹⁾により、 $Y_z^{\bullet+}$ -HisH⁺は再プロトン化される。 W_A に移動したプロトンは、水素結合ネットワークを介してルーメン側へと放出される。この際のプロトン移動の駆動力は Mn クラスタ上の正電荷と HisH⁺とのクーロン斥力であるため、このモデルは、Mn クラスタ上に余剰正電荷が存在する S_2 および S_3 状態において有効であると考えられる。この $Y_z^{\bullet+}$ -HisH⁺を経由するプロトン放出機構については、部位特異的変異体の解析や理論解析などによる、さらなる検証が必要である。

5. 水分解におけるカルボキシル基配位子の機能

Mn クラスタのアミノ酸配位子は、Mn クラスタをタンパク質に保持するだけでなく、水分解反応にも直接関与していると考えられるが、その詳細は未だ明らかにされていない。S 状態遷移

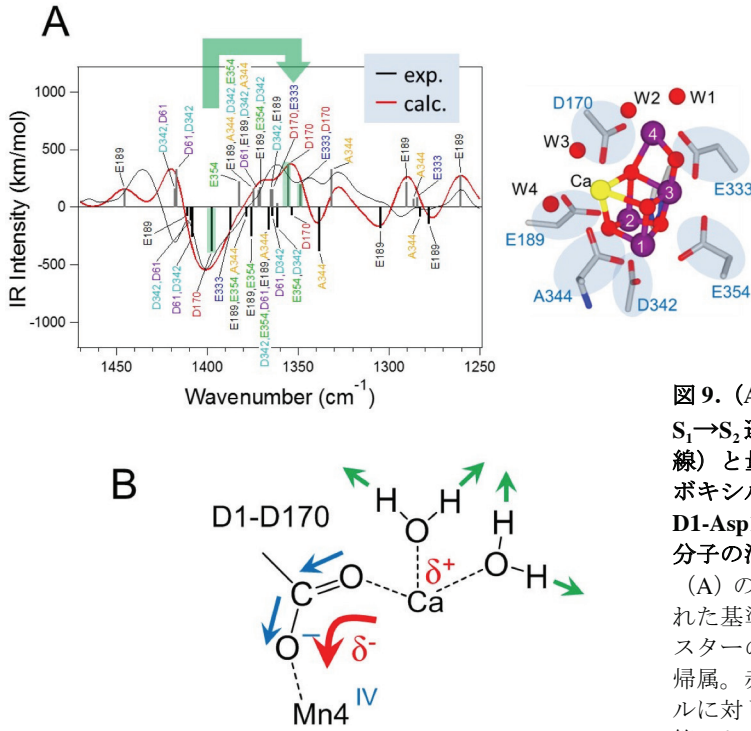


図9. (A) COO⁻対称伸縮振動領域における S₁→S₂ 遷移の実測 FTIR 差スペクトル (黒線) と量子化学計算によって得られたカルボキシル配位子の振動 (赤線)、および (B) D1-Asp170 を介した部分電荷移動による水分子の活性化のモデル

(A) の線スペクトルは、計算により求められた基準振動。各振動のラベルは Mn クラスターのカルボキシル配位子 (右図) への帰属。赤線のスペクトルは、各線スペクトルに対して 16 cm⁻¹ の半値全幅を仮定して計算したもの。

の FTIR スペクトルには、1450~1300 cm⁻¹ の領域に、カルボキシル基の対称 COO⁻ 振動由来のバンドが多数観測されていた²⁰⁻²³)。しかし、Mn クラスター近傍には、複数のカルボキシル基が存在するため、個々のアミノ酸残基へのバンドの帰属はほとんどなされておらず、水分解反応へ関与も不明であった。そこで我々は、QM/MM 法による量子化学計算を行い、カルボキシル基のバンドの帰属と、構造変化の解析を行った²⁴)。

計算により求めた S₁→S₂ 遷移のカルボキシル基の振動スペクトルは、実測の FTIR スペクトルをほぼ再現した (図 9A)²⁴)。多くのカルボキシル基の対称伸縮振動は複雑にカップルしているが、S₁ 状態由来の強い 1400 cm⁻¹ のバンドは、Mn4 と Ca を架橋する D1-Asp170 の孤立した COO⁻ 対称伸縮振動に帰属された。この振動は S₂ 状態において 1360 cm⁻¹ 付近へ低波数シフトしており、これは D1-Asp170 の構造が S₁→S₂ 遷移において変化したことを意味している。最適化構造および電荷分布を S₁ 状態と S₂ 状態間で比較すると、確かに D1-Asp170 の CO 結合距離が変化しており、

また、Ca の電荷が S₂ 状態で増加し、それに伴って、Ca に配位する水の OH 結合距離が長くなっていった (図 9B)。これらの変化は、S₁→S₂ 遷移によって酸化された Mn4 の正電荷の一部が D1-Asp170 の π 共役系を経由して Ca に移動し、配位水分子の酸性度を上昇させたと解釈できる²⁴)。このように、Mn クラスターのカルボキシル配位子には、その π 共役系を利用して水分解反応を制御する機能を持つと考えられる。

6. 近傍ヒスチジンのプロトン化構造

水分解中心の Mn クラスター近傍には、複数の荷電性アミノ酸が存在する。それらのアミノ酸による電荷分布は、水分解におけるプロトン放出や水分解中心の酸化還元電位に影響を与える。電荷分布の解析にあたり、重要となるのはアミノ酸および水分子のプロトン化状態である。しかし、X 線結晶構造にはプロトンの位置は示されておらず、理論研究においてもこれらのプロトン化状態についての統一的な結論は得られていない^{25,26})。特に、Mn クラスターの O3 酸素の水素結合距離

に位置する D1-His337 については、プロトン化状態について多くの議論がなされており、また、プロトン放出に関与する可能性も示唆されている²⁶⁾。我々は、FTIR 測定により、このヒスチジン側鎖のプロトン化構造を決定した²⁷⁾。

まず、光化学系 II 膜標品の配向試料を用いて、各 S 状態遷移の際の偏光全反射 FTIR 差スペクトルを測定した。その結果、 $S_1 \rightarrow S_2$ および $S_3 \rightarrow S_0$ 遷移のスペクトルにおいて、 $3000 \sim 2200 \text{ cm}^{-1}$ の領域に大きな二色比を示す幅の広いバンドが観測された (図 10A)²⁷⁾。これらの幅広いバンドに重なって、ヒスチジン由来の複数のフェルミ共鳴ピーク²⁸⁾が観測されたことから、これらのバンドは主に、膜の法線方向に向くヒスチジンの NH 伸縮振動に起因することが示された。量子化学計算によるシミュレーションにより、プロトン化した D1-His337 のカチオン状態のみが実測スペクトルおよび二色比をよく再現したことから、これらは D1-His337 カチオンの N_H 伸縮振動に帰属された (図 10B)。 $S_1 \rightarrow S_2$ および $S_3 \rightarrow S_0$ 遷移において、正負の強度が逆転していたことから (図 10A)、D1-His337 は S 状態サイクルを通じて常にカチオン型として存在することが明らかとなった²⁷⁾。

さらに、D1-His337 のプロトン化状態が Mn クラスターの酸化還元電位に与える影響を、QM/MM 法を用いたエネルギー計算により評価した²⁷⁾。D1-His337 がプロトン化した状態において、 $S_1 \rightarrow S_2$ 遷移の酸化還元電位は、水の酸化還元電位 (pH 6.0 で +0.88 V) に近い、+0.87 V と計算された。D1-His337 が脱プロトン化した場合には、酸化還元電位が 1.8 V 程負にシフトし、水の酸化能を失うことから、D1-His337 のカチオン状態は、Mn クラスターの酸化還元電位を高い値に保ち、水分解を可能にする役割を持つことが示された³²⁾。

7. おわりに

以上、赤外分光法および量子化学計算による光合成水分解反応の研究を紹介した。二つのクロシン残基 (Y_Z および Y_D) の電子移動の非対称性については、それらの酸化に伴うプロトン移動反応の違いを明らかにし、反応速度を制御するアミノ

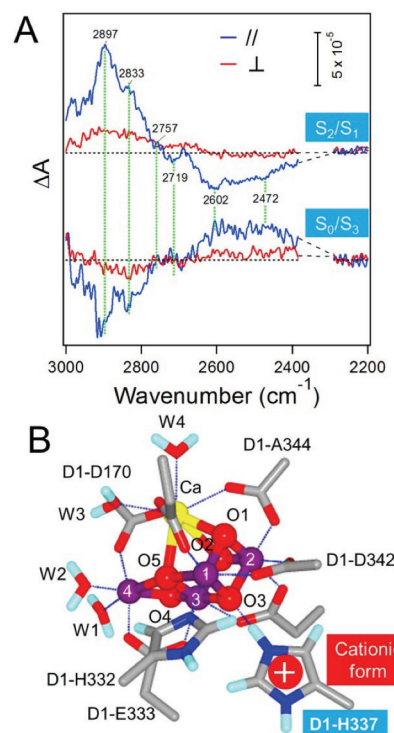


図 10. (A) $S_1 \rightarrow S_2$ および $S_3 \rightarrow S_0$ 遷移の偏光全反射 FTIR 差スペクトルの水素結合 NH 領域 (青線: 平行偏光; 赤線: 垂直偏光)、および (B) 水分解中心における D1-His337 のプロトン化構造

酸残基を特定した。また、 Y_Z および Mn クラスター近傍の水分子ネットワークの構造および振動から、基質水分子から Y_Z を経由するプロトン移動機構を提唱した。さらに、Mn と Ca を架橋するカルボキシル基配位子を介した部分的電荷移動による水分子の反応制御機構を明らかにし、また、近傍ヒスチジン側鎖のカチオン状態が Mn クラスターの高い酸化還元電位に寄与することを示した。このように、赤外分光法を用いた水分子およびアミノ酸残基の構造・反応解析により、他の手法では得られない水分解反応に関する多くの重要な知見を得ることができた。

PSII の水分解反応の分子機構には、未だ多くの謎が残されている。特に、 S_3 状態以降の反応過程の詳細は実験的にはほとんど明らかにされていない。最近、 S_3 状態の結晶構造が報告され、酸素形成過程の解明のための重要な手がかりが示された²⁹⁾。今後、結晶構造解析の情報に基づき、赤

外分光測定や量子化学計算を用いたより詳細な解析によって、さらなる水分解機構の解明が期待される。

謝辞

本記事の研究を遂行するにあたり、丁寧かつ熱心なご指導を頂きました野口巧教授に深謝いたします。また、長尾遼助教(現・岡山大学)には、試料調製において指導をいただきました。光生体エネルギー研究室の皆様には、日常の議論を通じて多くの知識や示唆を頂きました。ここに感謝の意を表します。本研究は、JSPS 科研費(15J10320)の助成を受けました。なお、本研究の量子化学計算については、自然科学研究機構岡崎共通研究施設の計算科学研究センターを利用いたしました。

Received Oct 16, 2017; Accepted Nov 22, 2017; Published Dec 31, 2017

参考文献

1. Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.-R. and Kamiya, N. (2011) Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature* 473, 55–60.
2. Suga, M., Akita, F., Hirata, K., Ueno, G., Murakami, H., Nakajima, Y., Shimizu, T., Yamashita, K., Yamamoto, M., Ago, H. and Shen, J.-R. (2015) Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses. *Nature* 517, 99–103.
3. Noguchi, T., Suzuki, H., Tsuno, M., Sugiura, M. and Kato, C. (2012) Time-resolved infrared detection of the proton and protein dynamics during photosynthetic oxygen evolution. *Biochemistry* 51, 3205–3214.
4. Kok, B., Forbush, B. and McGloin, M. (1970) Cooperation of charges in photosynthetic O₂ evolution—I. A linear four step mechanism. *Photochem. Photobiol.* 11, 457–475.
5. Klauss, A., Haumann, M. and Dau, H. (2015) Seven steps of alternating electron and proton transfer in photosystem II water oxidation traced by time-resolved photothermal beam deflection at improved sensitivity. *J. Phys. Chem. B* 119, 2677–2689.
6. Suzuki, H., Sugiura, M. and Noguchi, T. (2009) Monitoring proton release during photosynthetic water oxidation in photosystem II by means of isotope-edited infrared spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* 131, 7849–7857.
7. Cukierman, S. (2006) Et tu, Grotthuss! and other unfinished stories. *Biochim. Biophys. Acta* 1757, 876–885.
8. Renger, G. and Renger, T. (2008) Photosystem II: The machinery of photosynthetic water splitting. *Photosynth. Res.* 98, 53–80.
9. Faller, P., Debus, R.J., Brettel, K., Sugiura, M., Rutherford, A.W. and Boussac, A. (2001) Rapid formation of the stable tyrosyl radical in photosystem II. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 14368–14373.
10. Buser, C.A., Thompson, L.K., Diner, B.A. and Brudvig, G.W. (1990) Electron-transfer reactions in manganese-depleted photosystem II. *Biochemistry* 29, 8977–8985.
11. Rutherford, A.W., Boussac, A. and Faller, P. (2004) The stable tyrosyl radical in photosystem II: why D? *Biochim. Biophys. Acta* 1655, 222–230.
12. Styring, S., Sjöholm, J. and Mamedov, F. (2012) Two tyrosines that changed the world: Interfacing the oxidizing power of photochemistry to water splitting in photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 76–87.
13. Saito, K., Rutherford, A.W. and Ishikita, H. (2013) Mechanism of tyrosine D oxidation in Photosystem II. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 7690–7695.
14. Berthomieu, C. and Hienerwadel, R. (2005) Vibrational spectroscopy to study the properties of redox-active tyrosines in photosystem II and other proteins. *Biochim. Biophys. Acta* 1707, 51–66.
15. Saito, K., Shen, J., Ishida, T. and Ishikita, H. (2011) Short hydrogen bond between redox-active tyrosine Y_Z and D1-His190 in the photosystem II crystal structure. *Biochemistry* 50, 9836–9844.
16. Nakamura, S., Nagao, R., Takahashi, R. and Noguchi, T. (2014) Fourier transform infrared detection of a polarizable proton trapped between photooxidized tyrosine Y_Z and a coupled histidine in photosystem II: relevance to the proton transfer mechanism of water oxidation. *Biochemistry* 53, 3131–3144.
17. Nakamura, S. and Noguchi, T. (2015) Infrared detection of a proton released from tyrosine Y_D to the bulk upon its photo-oxidation in photosystem II. *Biochemistry* 54, 5045–5053.

18. Noguchi, T. and Sugiura, M. (2002) FTIR detection of water reactions during the flash-induced S-state cycle of the photosynthetic water-oxidizing complex. *Biochemistry* 41, 15706–15712.
19. Nakamura, S., Ota, K., Shibuya, Y. and Noguchi, T. (2016) Role of a water network around the Mn_4CaO_5 cluster in photosynthetic water oxidation: A Fourier transform infrared spectroscopy and quantum mechanics/molecular mechanics calculation study. *Biochemistry* 55, 597–607.
20. Noguchi, T., Ono, T. and Inoue, Y. (1995) Direct detection of a carboxylate bridge between Mn and Ca^{2+} in the photosynthetic oxygen-evolving center by means of Fourier transform infrared spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta* 1228, 189–200.
21. Noguchi, T. and Sugiura, M. (2003) Analysis of flash-induced FTIR difference spectra of the S-state cycle in the photosynthetic water-oxidizing complex by uniform ^{15}N and ^{13}C isotope labeling. *Biochemistry* 42, 6035–6042.
22. Noguchi, T. and Sugiura, M. (2002) Flash-induced FTIR difference spectra of the water oxidizing complex in moderately hydrated photosystem II core films: Effect of hydration extent on S-state transitions. *Biochemistry* 41, 2322–2330.
23. Chu, H.-A., Hillier, W. and Debus, R. J. (2004) Evidence that the C-terminus of the D1 polypeptide of photosystem II is ligated to the manganese ion that undergoes oxidation during the S_1 to S_2 transition: an isotope-edited FTIR study. *Biochemistry* 43, 3152–3166.
24. Nakamura, S. and Noguchi, T. (2016) Quantum mechanics/molecular mechanics simulation of the ligand vibrations of the water-oxidizing Mn_4CaO_5 cluster in photosystem II. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 113, 12727–12732.
25. Robertazzi, A., Galstyan, A. and Knapp, E.W. (2014) PSII manganese cluster: protonation of W2, O5, O4 and His337 in the S_1 state explored by combined quantum chemical and electrostatic energy computations. *Biochim. Biophys. Acta* 1837, 1316–1321.
26. Amin, M., Vogt, L., Szejgis, W., Vassiliev, S., Brudvig, G.W., Bruce, D. and Gunner, M.R. (2015) Proton-coupled electron transfer during the S-state transitions of the oxygen-evolving complex of photosystem II. *J. Phys. Chem. B* 119, 7366–7377.
27. Nakamura, S. and Noguchi, T. (2017) Infrared determination of the protonation state of a key histidine residue in the photosynthetic water oxidizing center. *J. Am. Chem. Soc.* 139, 9364–9375.
28. Noguchi, T., Inoue, Y. and Tang, X.S. (1999) Structure of a histidine ligand in the photosynthetic oxygen-evolving complex as studied by light-induced fourier transform infrared difference spectroscopy. *Biochemistry* 38, 10187–10195.
29. Suga, M., Akita, F., Sugahara, M., Kubo, M., Nakajima, Y., Nakane, T., Yamashita, K., Umena, Y., Nakabayashi, M., Yamane, T., Nakano, T., Suzuki, M., Masuda, T., Inoue, S., Kimura, T., Nomura, T., Yonekura, S., Yu, L.-J., Sakamoto, T., Motomura, T., Chen, J.-H., Kato, Y., Noguchi, T., Tono, K., Joti, Y., Kameshima, T., Hatsui, T., Nango, E., Tanaka, R., Naitow, H., Matsuura, Y., Yamashita, A., Yamamoto, M., Nureki, O., Yabashi, M., Ishikawa, T., Iwata, S. and Shen, J.-R. (2017) Light-induced structural changes and the site of O=O bond formation in PSII caught by XFEL. *Nature* 543, 131–135.

Infrared analysis of the photosynthetic water oxidation

Shin Nakamura

Division of Material Science, Graduate School of Science, Nagoya University

解説

光化学系 II 表在性タンパク質の分子進化と酸素発生における役割[†]

京都大学大学院生命科学研究科
伊福 健太郎*

光エネルギーを用いて水分解-酸素発生反応を行う光化学系 II 複合体は、葉緑体のチラコイド膜に存在し、その内腔側に位置する Mn_4CaO_5 クラスターが反応を触媒する。この Mn_4CaO_5 クラスターの周囲は、酸素発生系 (Oxygen-Evolving Complex, OEC) タンパク質とも呼ばれる表在性タンパク質で覆われており、その組成は光合成生物の種間で大きく異なる。これまでの研究から、緑色植物においては、進化の過程で OEC タンパク質の多様な分子進化と機能分化が生じ、チラコイド膜上の様々なタンパク質複合体の機能が支えられていることが明らかとなった。本稿では、最近報告された緑色植物由来の光化学系 II 複合体の電子顕微鏡による立体構造を踏まえながら、緑色植物における OEC タンパク質の分子進化、並びに、それを介した水分解-酸素発生反応の調節機構を考察する。

1. はじめに

2011年に発表された好熱性シアノバクテリア由来の光化学系 II 複合体 (Photosystem II、以下 PSII) の原子レベルでの X 線結晶解析は、世界に衝撃を与えた¹⁾。近年では、フェムト秒 X 線自由電子レーザーパルスを用いて、X 線照射による損傷を排除した構造²⁾や水酸化-酸素発生反応の中間段階の構造^{3,4)}が解析され、その全貌を明らかにする試みが続いている (本解説特集、他の記事参照)。一方、真核光合成生物の PSII については立体構造情報が不足していたが、最近になって、紅藻由来 PSII の X 線結晶構造解析が報告された⁵⁾。さらにクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析の装置と技術が大幅に進歩し、緑色植物由来の PSII 超複合体の立体構造が、X 線結晶構造解析に近いレベルの分解能で報告されている^{6,7)}。

真核光合成生物の葉緑体は、原始的なシアノバクテリアの細胞内共生により誕生したため、PSII の主要なサブユニットの基本構造は共通している。一方、集光タンパク質や複合体の分子集合を担うタンパク質については、各々の生育環境に合

わせて光合成活性を最適化するために、生物種間で大きな多様性がある⁸⁾。興味深いことに、PSII 複合体のチラコイド膜ルーメン側に結合し、水酸化-酸素発生反応を触媒する Mn_4CaO_5 クラスターを取り囲む表在性タンパク質 (OEC タンパク質) についても、光合成生物種間で違いがあることが知られている (図 1)。これらの OEC タンパク質は、水分解-酸素発生反応に必須なカルシウムイオン、塩素イオンの保持や、 Mn_4CaO_5 クラスターの保護、さらには基質となる水分子や生成物であるプロトンの通道の形成など、重要な役割を持つ^{9,10)}。しかしながら、進化の過程で PSII の OEC タンパク質に違いが生じた理由については、未だ定説は確立していない¹¹⁾。

本稿では、OEC タンパク質の進化と機能について、近年の知見を中心に紹介する。第一に、最近の PSII 立体構造情報をもとに、OEC タンパク質の PSII 複合体における配置と機能を生物種間で比較する。第二に、緑色植物で特異的に多様化した PsbP と PsbQ ファミリータンパク質について、我々の研究成果を中心に最近の話題を紹介する。そして最後に、緑色植物特有の PsbP タンパク質を介した水分解-酸素発生制御機構、ならびに、その進化の理由について考察したい。なお、

[†]解説特集「光合成の水の酸化機構と電子伝達」

*連絡先 E-mail: ifuku@kais.kyoto-u.ac.jp

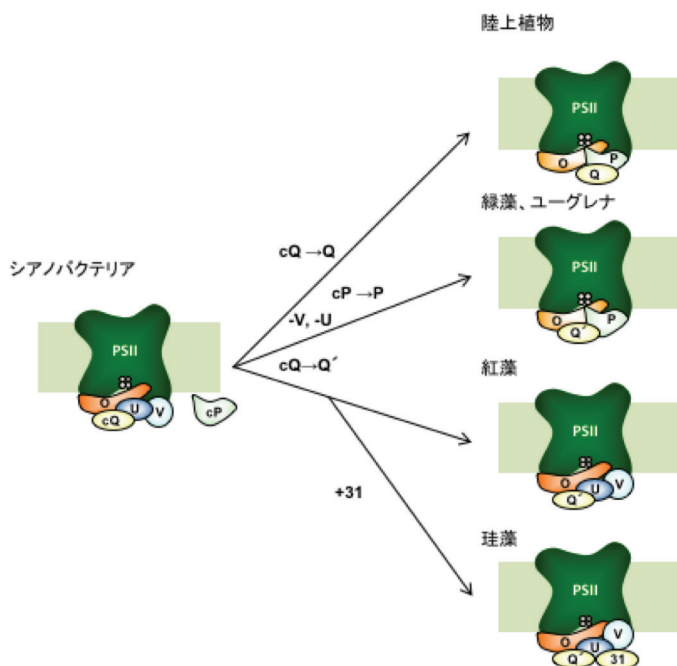


図 1. 進化に伴う PSII 表在性タンパク質 (OEC タンパク質) 組成の変化
PsbO (O) はシアノバクテリアから緑色植物まで全ての光合成生物に保存されている。高等植物や緑藻では PsbV (V) と PsbU (U) が失われ、CyanoP (cP) から PsbP (P)、CyanoQ (cQ) から PsbQ (Q) が発達したと考えられている。ただし、CyanoP は PSII との安定的な結合が報告されていない。紅藻や珪藻は、PsbV と PsbU を保持した上で PsbQ' (Q') を獲得した。珪藻ではそれらに加えて Psb31 (31) というタンパク質を新たに獲得した⁵⁷⁾。緑藻の PsbQ は紅藻や珪藻の PsbQ' と配列に相同性を持つため、Q' と表記してある。文献 9) から改変。

OEC タンパク質の研究の歴史は長く、特に日本の研究者の貢献は非常に大きい。本稿ではそれらの重要な研究の全てを紹介できないが、詳細は過去の優れた総説を参照されたい¹²⁻¹⁵⁾。

2. 光化学系 II 表在性タンパク質の配置

図 2 には、緑色植物、紅藻、シアノバクテリアの PSII コアダイマーの構造モデルを示す。OEC タンパク質の配置を示すため、いずれもチラコイド膜ルーメン側から膜平面を垂直にみた構造である。紅藻とシアノバクテリアの間では、共通する PsbO, PsbU, PsbV の配置は大きく変わらないが、紅藻では PsbQ' が CP43 コアサブユニットの外側に結合している。シアノバクテリアにおいても、PsbQ ホモログの祖先型と考えられる CyanoQ が、PSII に結合し、酸素発生活性を最適化していると考えられている¹⁶⁻¹⁸⁾。しかしながら、これまでに報告されているいずれの PSII 構造にも CyanoQ は含まれていない。化学架橋実験などから、PSII ダイマーのモノマー間で CyanoQ がダイマーを形成する¹⁹⁾、あるいは、PSII の分子集合過程において複数の CyanoQ が PSII に結合してアッセンブリーファクターとして機能する²⁰⁾、などの報告がなされている。真核生物の PsbQ ホモログとは異なり、CyanoQ はアミノ末端に脂質修飾を有する

リポタンパク質であり²¹⁾、両者の PSII との相互作用が全く異なる可能性もある。これについては、CyanoQ を含む PSII 複合体構造の解析が待たれる。

緑色植物の PSII においては、紅藻やシアノバクテリアの PSII において PsbV (Cyt *c*₅₅₀) が結合している位置に PsbP が結合している。このことは、水分解-酸素発生反応に必須なカルシウムイオン、塩素イオンの結合に、PsbP と PsbV が類似した役割を持つとする報告と一致する²²⁾。PsbQ については、紅藻の PsbQ' と同様の位置に結合が認められ、相互作用が進化的に保存されていることがわかる。実際、分子系統解析では、クラミドモナスなどの緑色藻類の PsbQ は PsbQ' に近い^{23, 24)}。従って、いわゆる緑色系統と紅色系統の分岐において、PsbQ と PsbQ' の結合位置は保存された一方で、PsbP の獲得が大きな違いを産んだと考えられる。

3. PsbP, PsbQ タンパク質の分子進化

では緑色植物に特異的な PsbP タンパク質はどのような過程で獲得されたのであろうか？シアノバクテリアには広く原核生物型の PsbP (CyanoP) が存在する¹⁸⁾。CyanoP の立体構造は緑色植物型 PsbP と基本構造は共通し、分子系統解析からも CyanoP が緑色植物タイプの PsbP の祖

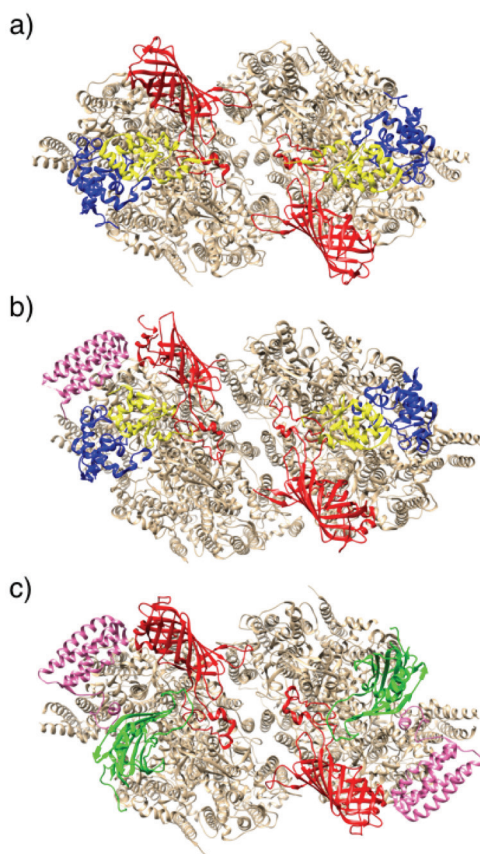


図2. 異種生物由来のPSII複合体におけるOECタンパク質の配置の比較

a) シアノバクテリア (*Thermosynechococcus vulcanus*, PDB ID: 3WU2)、b) 紅藻 (*Cyanidium caldarium*, 4YUU)、c) 陸上植物 (*Pisum sativum*, 5XNL) 由来のPSII複合体の立体構造モデル。チラコイド膜内腔側から膜方向を垂直に見下ろした図である。比較のため、集光タンパク質を除いたコア2量体のみを示す。OECタンパク質であるPsbO(赤)、PsbV(青)、PsbU(黄)、PsbP(緑)、PsbQ(Q')(ピンク)は色付けしてある。

先タンパク質であることが支持されている^{25, 26} (図3)。CyanoQと同様、CyanoPはリボタンパク質と考えられ、その欠損変異はPSIIの機能に大きな支障をきたさない^{18, 27}。最近になって、CyanoPは、PSIIの複合体形成過程の初期に関与するアッセムブリー因子であることが報告された²⁸。従って、PsbP、そしておそらくはPsbQも、かつて複合体のアッセムブリー因子であったと推定される。

また緑色植物においては、機能未知のPsbPやPsbQホモログが多数存在し、遺伝子ファミリーを形成している²⁹。シロイヌナズナでは2つの

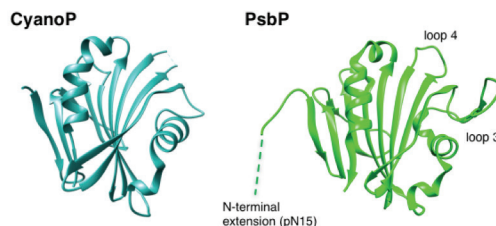


図3. CyanoPとPsbPの構造の比較

好熱性シアノバクテリア (*T. elongatus*, PDB ID: 2XB3) のCyanoP、陸上植物 (*Spinacia oleracea*, 4RTI) のPsbPの立体構造モデル。両者は共通した中心構造 ($\alpha\beta\alpha$ 構造) を有するが、PsbPには、CyanoPにはないループ配列 (loop3,4) や、結晶構造では見えない柔軟なN末端の伸長配列 (pN15) が存在する。

PsbP-like protein (PPL)、3つのPsbQ-like protein (PQL)、そしてPsbPと弱い相同性を示す少なくとも7つのPsbP-domain protein (PPD) が存在する³⁰。遺伝子破壊株を用いた逆遺伝学的解析から、それらのPsbP、PsbQホモログの一部は、光合成電子伝達複合体において、様々な機能を持っていることが明らかになった。例として、原核生物型PsbPに似た配列をもつPPL1は、強光で障害を受けたPSIIの修復過程に関わり³¹、PPL2と3種のPsbQホモログ (PQL1~3) は、光化学系I周辺での循環的電子伝達に関わる葉緑体NAD(P)Hデヒドロゲナーゼ様複合体 (NDH) のサブユニットやアッセムブリー因子として機能する²⁴。さらにPPD1はシロイヌナズナにおいて光化学系Iのアッセムブリー因子であった^{32,33}。従って、PsbPおよびPsbQファミリーは進化の過程で遺伝子重複を経て機能的にも多様化し、その中からPsbPやPsbQ (PsbQ') がPSIIの表在性タンパク質として獲得されたと考えられる。

PsbPファミリーについては、ホモロジーモデリングによる構造予測と精緻な分子系統解析が報告されている²⁵。それによれば、CyanoPやPPL1が属するグループが、PsbPファミリーの基本構造である最もシンプルな $\alpha\beta\alpha$ 構造(図3)を持ち、そこに各グループ特異的なN末端の伸長やループ配列の付加が生じて、分子機能の多様化に至ったことが明らかとなった。一方、PsbPを持たない紅藻や珪藻においても、原核生物型PsbPに加

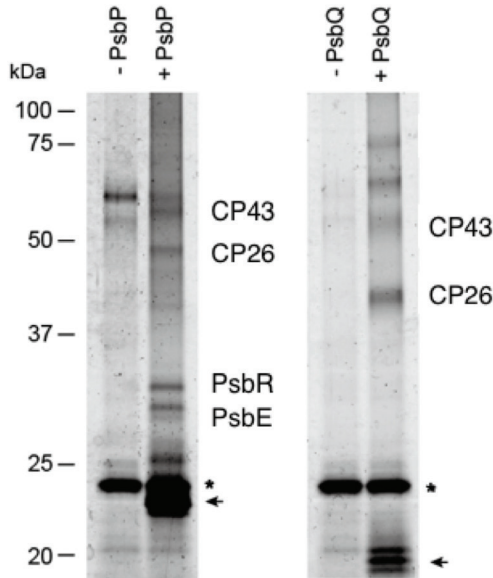


図 4. 再構成/化学架橋実験で検出された PsbP, PsbQ と相互作用するタンパク質

ビオチンラベルした PsbP, または PsbQ の存在下 (+), または非存在下 (-) で PSII 膜を水溶性カルボジイミドで化学架橋した後、アフィニティー精製で相互作用するタンパク質を精製し、SDS-PAGE に供した。右には質量分析の結果、同定された PSII サブユニットを示す。文献 (36) から改変して抜粋。矢印はフリーのタンパク質、アスタリスクは非特異的バンド。

え、いくつかの PsbP ホモログの存在がゲノム中に認められた。このことは、遺伝子の水平伝播を考えなければ、緑色系統と紅色系統の分岐以前に、PsbP ファミリーの多様化が生じていたことを示唆する。しかしながら、紅色系統の真核光合成生物は、PsbP を獲得するには至らなかった。

4. 光化学系 II における PsbP の相互作用

我々は緑色植物に特異的な PsbP に着目し、最初の X 線結晶構造を報告する³⁴⁾とともに、PsbP と他の PSII サブユニットとの相互作用について詳細な解析を行って来た¹¹⁾。最近では、従来の再構成実験に、化学架橋と質量分析法を組み合わせ、新しい相互作用の検出に成功している^{35,36)}。それによれば、PsbP は PSII のコアアンテナの 1 つである CP43 と相互作用し、かつ、Cyt *b*₅₅₉ の α サブユニットである PsbE と、PsbP の結合を補助する

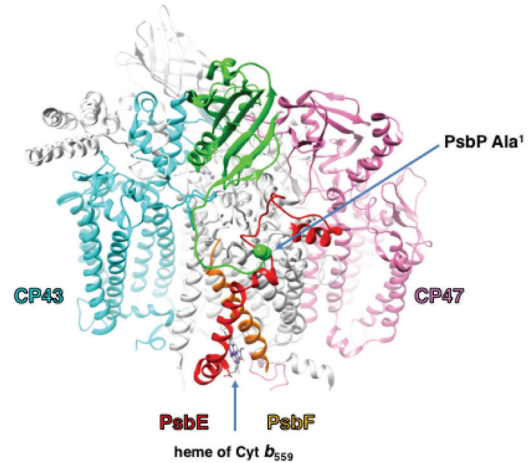


図 5. PSII-LHCII 超複合体 cryo-TEM 構造における PsbP の結合位置

PSII-LHCII 複合体立体構造 (PDB ID: 3JCU) のうち、PsbP の結合部位周辺のサブユニットのみを示す。チラコイド膜内腔側、斜め上から見た図である。CP43, CP47, PsbE, PsbF, PsbP をそれぞれ水色、桃色、赤色、橙色、緑色のリボンモデルで示した。PsbP の N 末端アラニン残基を sphere モデル、PsbE と PsbF 中に配位しているヘムを stick モデルで示した (矢印)。

ことが報告されている PsbR³⁷⁾に加え、モノマータイプの集光タンパク質 (LHC) である CP26 と相互作用することが示唆された (図 4)。さらに PsbQ についても同様の解析を行い、CP43 と CP26 との相互作用を認めた。これらの結果は、旧来のモデルとは異なり、PsbP と PsbQ とともに、PSII や周辺の LHC タンパク質と直接的かつ多面的に相互作用していることを示していた。

では次にこれらの結果を、電子顕微鏡で得られた最新の立体構造から考察する。これまでに、PSII ダイマーあたり、2 個の LHCII を結合した構造 (C₂S₂ 構造, PDB_ID: 3JCU)⁶⁾と、4 個の LHCII を結合した構造 (C₂S₂M₂ 構造, 5XNL)⁷⁾が報告されている。両構造の OEC タンパク質については、モデリングされているアミノ酸残基や側鎖の配向には違いが認められるが、いずれの構造においても PsbP と PsbQ の配置に大きな相違はない。すなわち、PsbP は CP43 と相互作用し、N 末端配列を伸ばして PsbE と相互作用する⁷⁾ (図 5)。さらに PsbQ は CP43 と CP26 の境界領域に結合し、我々の化学架橋実験の結果とよく一致していた。

一方で、PsbP は化学架橋では検出されなかった CP47 や D2 といったサブユニットとも相互作用していた。また、いずれの構造にも PsbR は含まれず、PsbP と CP26 の相互作用は距離的に支持されなかった。PsbR については、複合体の精製過程における界面活性剤処理で外れてしまった可能性が高い³⁸⁾。CP26 と PsbP の相互作用については、単に化学架橋実験のアーティファクトかもしれないが、非常に再現性よく検出されるため、多数の複合体が共存するチラコイド膜中で生じ得る相互作用である可能性もある。

PSII の酸素発生系との関係においては、PsbP に特徴的なループ構造の一つである Loop 4 領域が、 Mn_4CaO_5 クラスタを配位する D1 タンパク質の C 末端領域の近傍に挿入され、その周辺構造に影響している可能性が示唆されている⁶⁾。ただし、Loop4 のアミノ酸残基の配向は、報告されている構造によって異なり、定まっていない。Sakashita らは、構造最適化計算によって残基の配向を修正し、PsbP の Loop4 近傍の構造がプロトンの排出経路としても重要である可能性を示唆した³⁹⁾。このプロトン排出経路は、シアノバクテリア PSII においても、O1-PsbU 経路として存在しており⁴⁰⁾、OEC タンパク質の変遷を経ても保存された重要な経路であると考えられる。PsbP の Loop4 の役割については、今後、変異タンパク質を用いた再構成実験などによる詳細な解析が求められる。

5. PsbP による副次的電子伝達経路の活性化

PsbP の N 末端と PsbE (Cyt b_{559}) の相互作用について、最近、興味深い結果が得られたので紹介する。Cyt b_{559} は約 9 kDa の PsbE (α サブユニット) と分子量約 4 kDa の PsbF タンパク質 (β サブユニット) から構成されるヘテロ二量体であり、両サブユニットに挟まれるように、チラコイド膜のストロマ側に 1 分子のヘムが結合している⁴¹⁾(図 5)。ルーメン側には PsbE から伸びる膜外領域があり、PsbP の N 末端はそこに結合する³⁵⁾。シアノバクテリア、クラミドモナス、タバコにおいて PsbE や PsbF を欠損した変異株は PSII が蓄積せず、光独立栄養的に生育することができない

⁴²⁻⁴⁴⁾。したがって、Cyt b_{559} は特に PSII の形成過程において構造的に必須であることが明らかとなっている⁴⁵⁾。

PSII 内部では、 Mn_4CaO_5 クラスタにおいて水から電子を引き抜き、プラストキノンを還元する主要な電子伝達経路に加えて、Cyt b_{559} 、カロテノイド、アクセサリークロロフィルから構成される副次的電子伝達経路が存在する⁴⁶⁾。即ち、Cyt b_{559} は、光により励起された反応中心クロロフィル P680⁺にカロテノイドやアクセサリークロロフィルを介して電子を供給し、自身はプラストキノールから電子を受け取ることで再還元されると考えられている⁴⁷⁾。この副次的経路は OEC の形成過程において PSII の水の酸化側で生じた過剰な正孔を消去する、あるいは還元側に電子が滞らないようにすることで、PSII を酸化的損傷から保護する役割をもつと考えられている⁴⁸⁾。

この Cyt b_{559} の特徴として、生体内で複数の酸化還元電位を取ることが知られており、high-potential (HP)、intermediate-potential (IP)、low-potential (LP) と呼ばれる⁴⁶⁾。HP の Cyt b_{559} は大気条件下において還元状態で存在し、PSII の水の酸化側が阻害を受けた際に P680⁺に電子を供給する。一方で、LP の Cyt b_{559} は大気条件下において、酸化状態で存在し、PSII の還元側が滞った際に電子を受け取るとされる^{49,50)}。また、ストロマチラコイドに存在する PSII 中の Cyt b_{559} は主に LP であり、グラナチラコイドに存在する PSII 中の Cyt b_{559} は主に HP であることから、PSII の複合体形成過程において、Cyt b_{559} の酸化還元電位の変換が起こっていると推定される⁵¹⁾。単離 PSII 膜を用いた *in vitro* の解析では、Cyt b_{559} の HP から IP や LP への変換は PSII の Tris 処理や塩処理、熱処理、強光処理などによって容易に引き起こされる。しかしながら、IP や LP から HP への回復が実験的に観測された例は限定的であり⁵²⁾、Cyt b_{559} のレドックスポテンシャルを制御しているメカニズムや、それぞれの状態における構造の違いは未解明のままであった。

そこで PsbP の N 末端域を介した PsbE との相互作用が、Cyt b_{559} の構造と機能に及ぼす影響を解析した(図 6)。塩処理により PsbP を解離さ

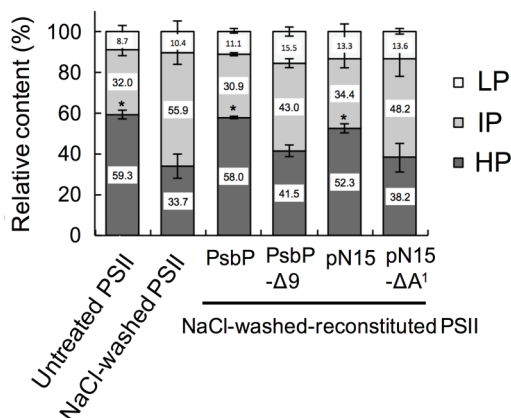


図 6. PsbP の N 末端伸張配列が Cyt b₅₅₉ の酸化還元電位に及ぼす影響

ホウレンソウ PSII 膜標品における、酸化還元差スペクトル測定によって算出された HP-, IP-, LP-Cyt b₅₅₉ の存在比。未処理 (Untreated)、NaCl 処理 (NaCl)、PsbP 再構成 (PsbP)、N 末端 9 アミノ酸を欠く PsbP-Δ9 再構成 (PsbP-Δ9)、PsbP の N 末端 15 アミノ酸配列の合成ペプチド pN15 再構成 (pN15)、pN15 から N 末端の Ala を除いた pN15-ΔA¹ 再構成 (pN15-ΔA¹) PSII における Cyt b₅₅₉ の酸化還元差スペクトルを用いた。ヒドロキノンで還元時、アスコルビン酸ナトリウムで還元時、ヒドロサルファイトナトリウムで還元時とフェリシアン化カリウムで酸化時の差スペクトルを測定した。全 Cyt b₅₅₉ 量を 100% とした。再構成によって HP の割合が有意に回復しているものをアスタリスクで示した **p*<0.05, Student's t-test; *n* = 3, error bars = SEM. 文献 53) から抜粋。

せた PSII 膜では、HP 状態の Cyt b₅₅₉ の存在比が減少するが、野生型の PsbP や PsbP の N 末端域の配列からなるペプチド断片 pN15 を再構成すると、Cyt b₅₅₉ が HP 状態に回復することが認められた⁵³⁾。しかしながら、N 末端配列を欠失した PsbP-Δ9 や pN15 から N 末端の Ala を除いた pN15-ΔA¹ の再構成では、Cyt b₅₅₉ の HP 状態への回復が抑えられた。すなわち、PsbP の N 末端域を介した PsbE との相互作用は、PsbE と PsbF から形成される Cyt b₅₅₉ の酸化還元電位の調節に重要であることが明らかとなった。また、化学架橋実験より、pN15 が全長の PsbP タンパク質と同様に PsbE と相互作用し、そのとき Cyt b₅₅₉ のストロマ側に結合したヘム周辺での構造変化が誘導されることが示された。さらに興味深いことに、pN15 は可逆的に PSII の酸素発生活性を阻害することが

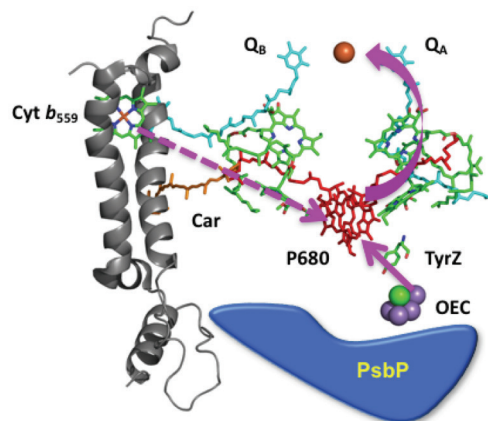


図 7. PsbP は Mn₄CaO₅ クラスターにおける水分解反応の活性化と、Cyt b₅₅₉ を介する副次的電子伝達の両方を活性化する

PSII をチラコイド膜の横方向から見た時の酸化還元コファクターの配置。加えて、Cyt b₅₅₉ サブユニットのリボンモデルとヘムを示す。

認められた。熱発光測定・FTIR 解析の結果より、Mn₄CaO₅ クラスターの S₁/S₂ 遷移の阻害が示唆された。この阻害効果の詳細はまだ解明できていないが、Cyt b₅₅₉ を介する副次的電子伝達経路の活性化と関連している可能性も考えられる。

以上の結果より、PsbP は 2 つの役割を持ち、その N 末端域と loop4 を含む中心構造の協調的な相互作用が Mn₄CaO₅ クラスターからの電子伝達を活性化する一方で、N 末端域の相互作用は Cyt b₅₅₉ を介する副次的電子伝達経路を活性化することが見出された (図 7)。両経路は PSII 反応中心への電子供与において拮抗するように見えるかもしれないが、実際には副次的電子伝達経路の電子伝達速度は圧倒的に遅く、Mn₄CaO₅ クラスターを介した水からの電子供与が機能しない時のみ働くと考えられる。

では PsbP を有しないシアノバクテリアなどにおいても、同様の制御機構が存在するのであろうか? シアノバクテリアの PSII においても、PsbV の N 末端が PsbE と近い位置にあるが、OEC タンパク質の結合と Cyt b₅₅₉ の酸化還元電位との関係は明らかにされていない。加えて、シアノバクテリアにおいては、緑色植物に存在しないタンパク質である Psb30 や Psb28 といったタンパク質が Cyt b₅₅₉ と相互作用、あるいは酸化還元電位に影響

響するといった報告があり、全く別の機構が存在する可能性もある^{54,55)}。

6. おわりに

では最後に、緑色植物が PsbP を獲得した選択圧を考察したい。シアノバクテリアや紅色系統の真核藻類の PSII が結合する PsbV (Cyt *c*₅₅₀) は、非酸素発生型光合成を行う紅色細菌などの II 型反応中心において硫化水素などの還元物質からの電子を仲介する Cyt *c* 群の様に、PSII 酸化側への電子ドナーとしての機能を持つ可能性が推定されてきた⁵⁶⁾。しかしながら、現在の PSII 複合体においては、PsbV 中のヘムは PSII 反応中心や Mn₄CaO₅ クラスターから距離的に離れており、それらへの電子ドナーとなっていることを示す証拠はない。いわば“機能不明のヘム”である。ヘムタンパク質の生合成のためか、真核生物の OEC タンパク質の中で唯一、PsbV の遺伝子は未だ葉緑体ゲノムに残されている。おそらく緑色植物は、PsbP を獲得することで不要なヘムを有する PsbV を除去して重要な栄養素である鉄を確保し、かつ、遊離のヘムを介した活性酸素発生の危険性も回避した可能性が考えられる。もちろん、紅藻や珪藻が PsbV を選択した特別な理由が他にあり得る可能性も否定できない。それについては、それら藻類における OEC タンパク質の *in vivo* における生理機能解明が必要となるであろう。

今後、立体構造情報やゲノム編集による変異体作成技術を基盤にして、真核光合成生物における水分解-酸素発生反応制御の分子メカニズムの解明が大きく進展することが期待される。

謝辞

我々の研究成果については、JST さきがけ「光エネルギーと物質変換」領域（代表：井上晴夫先生）、科学研究費補助金 (JP16K07690) の支援をいただいた。現在は、主に新学術領域「新光合成」のもとで、研究を継続している (JP16H06554)。京都大学の佐藤文彦先生、名古屋大学の野口巧先生をはじめ、お世話になった多くの共同研究者に感謝申し上げます。最後に、本記事を書く機会を頂いた愛媛大学の杉浦美羽先生に御礼申し上げます。

Received Oct 21, 2017; Accepted Nov 29, 2017; Published Dec 31, 2017

参考文献

1. Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.-R. and Kamiya, N. (2011) Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature* 473, 55–60.
2. Suga, M., Akita, F., Hirata, K., et al. (2015) Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses. *Nature* 517, 99–103.
3. Young, I.D., Ibrahim, M., Chatterjee, R., et al. (2016) Structure of photosystem II and substrate binding at room temperature. *Nature*. 540, 453–457.
4. Suga, M., Akita, F., Sugahara, M., et al. (2017) Light-induced structural changes and the site of O=O bond formation in PSII caught by XFEL. *Nature* 543, 131–135.
5. Ago, H., Adachi, H., Umena, Y., et al. (2016) Novel features of eukaryotic photosystem II revealed by its crystal structure analysis from a red alga. *J. Biol. Chem.* 291. 5676–5687.
6. Wei, X. P., Su, X. D., Cao, P., et al. (2016) Structure of spinach photosystem II-LHCII supercomplex at 3.2 angstrom resolution. *Nature* 534, 69–74.
7. Su, X., Ma, J., Wei, X., et al. (2017) Structure and assembly mechanism of plant C₂S₂M₂-type PSII-LHCII supercomplex. *Science* 357, 815–820.
8. Nickelsen, J. and Rengstl, B. (2013) Photosystem II assembly: from cyanobacteria to plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 609–635.
9. Ifuku, K. (2015) Localization and functional characterization of the extrinsic subunits of photosystem II: an update. *Biosci Biotechnol Biochem* 79, 1223–1231.
10. Roose, J.L., Frankel, L.K., Mummadisetti, M.P. and Bricker, T.M. (2016) The extrinsic proteins of photosystem II: update. *Planta* 243, 889–908.
11. Ifuku, K. and Noguchi, T. (2016) Structural Coupling of Extrinsic Proteins with the Oxygen-Evolving Center in Photosystem II. *Front. Plant. Sci.* 7.
12. Murata, N. and Miyao, M. (1985) Extrinsic membrane proteins in the photosynthetic oxygen-evolving complex. *Trends Biochem. Sci.* 10, 122–124.

13. Seidler, A. (1996) The extrinsic polypeptides of Photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1277, 35–60.
14. Enami, I., Okumura, A., Nagao, R., Suzuki, T., Iwai, M. and Shen, J.R. (2008) Structures and functions of the extrinsic proteins of photosystem II from different species. *Photosynth. Res.* 98, 349–363.
15. Bricker, T.M., Roose, J.L., Fagerlund, R.D., Frankel, L.K. and Eaton-Rye, J.J. (2012) The extrinsic proteins of Photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 121–142.
16. Kashino, Y., Lauber, W.M., Carroll, J.A., et al. (2002) Proteomic analysis of a highly active photosystem II preparation from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 reveals the presence of novel polypeptides. *Biochemistry* 41, 8004–8012.
17. Kashino, Y., Inoue-Kashino, N., Roose, J.L. and Pakrasi, H.B. (2006) Absence of the PsbQ protein results in destabilization of the PsbV protein and decreased oxygen evolution activity in cyanobacterial photosystem II. *J. Biol. Chem.* 281, 20834–20841.
18. Thornton, L.E., Ohkawa, H., Roose, J.L., Kashino, Y., Keren, N. and Pakrasi, H.B. (2004) Homologs of plant PsbP and PsbQ proteins are necessary for regulation of photosystem II activity in the cyanobacterium *Synechocystis* 6803. *Plant Cell* 16, 2164–2175.
19. Liu, H., Zhang, H., Weisz, D.A., Vidavsky, I., Gross, M.L. and Pakrasi, H.B. (2014) MS-based cross-linking analysis reveals the location of the PsbQ protein in cyanobacterial photosystem II. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 4638–4643.
20. Liu, H., Weisz, D.A., and Pakrasi, H.B. (2015) Multiple copies of the PsbQ protein in a cyanobacterial photosystem II assembly intermediate complex. *Photosynth. Res.* 126, 375–383.
21. Juneau, A.D., Frankel, L.K., Bricker, T.M. and Roose, J.L. (2016) N-terminal lipid modification is required for the stable accumulation of CyanoQ in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *PLoS One* 11, e0163646.
22. Uno, C., Nagao, R., Suzuki, H., Tomo, T. and Noguchi, T. (2013) Structural coupling of extrinsic proteins with the oxygen-evolving center in red algal photosystem II as revealed by light-induced FTIR difference spectroscopy. *Biochemistry* 52, 5705–5707.
23. Ohta, H., Suzuki, T., Ueno, M., Okumura, A., Yoshihara, S., Shen, J. R. and Enami, I. (2003) Extrinsic proteins of photosystem II: an intermediate member of PsbQ protein family in red algal PS II. *Eur. J. Biochem.* 270, 4156–4163.
24. Yabuta, S., Ifuku, K., Takabayashi, A., et al. (2010) Three PsbQ-like proteins are required for the function of the chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complex in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 51, 866–876.
25. Sato, N. (2010) Phylogenomic and structural modeling analyses of the PsbP superfamily reveal multiple small segment additions in the evolution of photosystem II-associated PsbP protein in green plants. *Mol. Phylogenet. Evol.* 56, 176–186.
26. Jackson, S.A., Hinds, M.G. and Eaton-Rye, J.J. (2012) Solution structure of CyanoP from *Synechocystis* sp. PCC 6803: new insights on the structural basis for functional specialization amongst PsbP family proteins. *Biochim. Biophys. Acta.* 1817, 1331–1338.
27. Aoi, M., Kashino, Y. and Ifuku, K. (2014) Function and association of CyanoP in photosystem II of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Res. Chem. Intermed.* 40, 3209–3217.
28. Knoppová, J., Yu, J., Konik, P., Nixon, P.J. and Komenda, J. (2016) CyanoP is involved in the early steps of photosystem II assembly in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol.* 57, 1921–1931.
29. Ifuku, K., Ishihara, S. and Sato, F. (2010) Molecular functions of oxygen-evolving complex family proteins in photosynthetic electron flow. *J. Integr. Plant Biol.* 52, 723–734.
30. Ifuku, K. (2014) The PsbP and PsbQ family proteins in the photosynthetic machinery of chloroplasts. *Plant Physiol. Biochem.* 81, 108–114.
31. Ishihara, S., Takabayashi, A., Ido, K., Endo, T., Ifuku, K. and Sato, F. (2007) Distinct functions for the two PsbP-like proteins PPL1 and PPL2 in the chloroplast thylakoid lumen of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 145, 668–679.
32. Liu, J., Yang, H., Lu, Q., et al. (2012) PsbP-domain protein1, a nuclear-encoded thylakoid luminal protein, is essential for photosystem I assembly in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 24, 4992–5006.
33. Roose, J. L., Frankel, L. K. and Bricker, T. M. (2014) The PsbP domain protein 1 functions in the assembly of luminal domains in photosystem I. *J. Biol. Chem.* 289, 23776–23785.
34. Ifuku, K., Nakatsu, T., Kato, H. and Sato, F. (2004) Crystal structure of the PsbP protein of photosystem II from *Nicotiana tabacum*. *EMBO Rep.* 5, 362–367.

35. Ido, K., Kakiuchi, S., Uno, C., et al. (2012) The conserved His-144 in the PsbP protein is important for the interaction between the PsbP N-terminus and the Cyt b_{559} subunit of photosystem II. *J. Biol. Chem.* 287, 26377–26387.
36. Ido K, Nield J, Fukao Y, et al. (2014) Cross-linking evidence for multiple interactions of the PsbP and PsbQ proteins in a higher plant photosystem II supercomplex. *J. Biol. Chem.* 289, 20150–20157.
37. Suorsa, M., Sirpiö, S., Allahverdiyeva, Y., et al. (2006) PsbR, a missing link in the assembly of the oxygen-evolving complex of plant photosystem II. *J. Biol. Chem.* 281, 145–50.
38. Ido, K., Ifuku, K. and Sato, F. (2013) Functional analysis of PsbR in PsbP binding to Photosystem II, in *Photosynthesis Research for Food, Fuel and the Future, Advanced Topics in Science and Technology in China* (Kuang, T., Lu, C. and Zhang, L., Eds.) pp 423–426, Zhejiang Univ. Press, Hangzhou, and Springer-Verlag, Heidelberg.
39. Sakashita, N., Watanabe, H. C., Ikeda, T. and Ishikita, H. (2017) Structurally conserved channels in cyanobacterial and plant photosystem II. *Photosynth. Res.* 133, 75–85.
40. Takaoka, T., Sakashita, N., Saito, K. and Ishikita, H. (2016) pKa of a proton-conducting water chain in photosystem II. *J. Phys. Chem. Lett.* 7, 1925–1932.
41. Stewart, D.H. and Brudvig, G.W. (1998) Cytochrome b_{559} of photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1367, 63–87.
42. Pakrasi, H.B., Diner, B.A., Williams, J. and Arntzen, C.J. (1989) Deletion mutagenesis of the cytochrome b_{559} protein inactivates the reaction center of Photosystem II. *Plant Cell* 1, 591–597.
43. Morais, F., Barber, J. and Nixon, P.J. (1998) The chloroplast-encoded subunit of cytochrome b -559 is required for assembly of the photosystem two complex in both the light and the dark in *Chlamydomonas reinhardtii*. *J. Biol. Chem.* 273, 29315–29320.
44. Suorsa, M., Regel, R.E., Paakkarinen, V., Battchikova, N., Herrmann, R.G. and Aro, E.-M. (2004) Protein assembly of photosystem II and accumulation of subcomplexes in the absence of low molecular mass subunits PsbL and PsbJ. *Eur. J. Biochem.* 271, 96–107.
45. Sugiura, M., Nakamura, M., Koyama, K. and Boussac, A. (2015) Assembly of oxygen-evolving Photosystem II efficiently occurs with the apo-Cyt b_{559} but the holo-Cyt b_{559} accelerates the recovery of a functional enzyme upon photoinhibition. *Biochim. Biophys. Acta* 21847, 276–285.
46. Shinopoulos, K.E. and Brudvig, G.W. (2012) Cytochrome b_{559} and cyclic electron transfer within photosystem II. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 66–75.
47. Whitmarsh, J. and Cramer, W.A. (1978) A pathway for the reduction of cytochrome b -559 by photosystem II in chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 501, 83–93.
48. Chu, H. -A. and Chiu, Y. -F. (2016) The roles of cytochrome b_{559} in assembly and photoprotection of photosystem II revealed by site-directed mutagenesis studies. *Front. Plant Sci.* 6.
49. Nedbal, L., Samson, G. and Whitmarsh, J. (1992) Redox state of a one-electron component controls the rate of photoinhibition of photosystem II. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89, 7929–7933.
50. Barber, J. and De Las Rivas, J. (1993) A functional model for the role of cytochrome b_{559} in the protection against donor and acceptor side photoinhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90, 10942–10946.
51. Cox, R.P. and Anderson, B. (1981) Lateral and transverse organization of cytochromes in the chloroplast thylakoid membrane. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 103, 1336–1342.
52. Gadjjeva, R., Eckert, H.J. and Renger, G. (2000) Photoinhibition as a function of the ambient redox potential in Tris-washed PS II membrane fragments. *Photosynth. Res.* 63, 237–248.
53. Nishimura, T., Nagao, R., Noguchi, T., Nield, J., Sato, F., Ifuku, K. (2016) The N-terminal sequence of the extrinsic PsbP protein modulates the redox potential of Cyt b_{559} in photosystem II. *Sci Rep.* 6, 21490.
54. Sugiura, M., Harada, S., Manabe, T., Hayashi, H., Kashino, Y. and Boussac, A. (2010) Psb30 contributes to structurally stabilize the photosystem II complex in the thermophilic cyanobacterium *Thermosynechococcus elongatus*. *Biochim. Biophys. Acta* 1797, 1546–1554.
55. Weisz, D.A., Liu, H., Zhang, H., Thangapandian, S., Tajkhorshid, E., Gross, M.L. and Pakrasi, H.B. (2017) Mass spectrometry-based cross-linking study shows that the Psb28 protein binds to cytochrome b_{559} in Photosystem II. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114, 2224–2229.

56. Roncel, M., Kirilovsky, D., Guerrero, F., Serrano, A. and Ortega, J.M. (2012) Photosynthetic cytochrome *c550*. *Biochim. Biophys. Acta* 1817, 1152–11163.
57. Nagao, R., Moriguchi, A., Tomo, T., et al. (2010) Binding and functional properties of five extrinsic proteins in oxygen-evolving photosystem II from a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*. *J. Biol. Chem.* 285, 29191–29199.

Evolution and Functions of the extrinsic subunits of photosystem II

Kentaro Ifuku

Graduate School of Biostudies, Kyoto University

特別企画：若手研究者の海外留学レポート！

第二回「アメリカで研究するということ」

Department of Molecular and Cellular Biochemistry
Indiana University

山本 治樹

私は名古屋大学でクロロフィルの生合成に関わる酵素の生化学で学位取得後、大阪大学蛋白質研究所にて同酵素のX線結晶構造解析に携わったのち、アメリカにおいて光合成細菌の色素合成遺伝子の発現制御に関わる転写制御因子の生理、生化学の研究を行っている。本稿では今後アメリカで研究をしてみたいと考えている若手を対象に、実際にアメリカで研究をして気づいたことに焦点を当てた。若手の皆様の留学の参考にしていただけたら幸いである。

■場所の説明

私はインディアナ州の南方に位置するブルーミントンと言う街にあるインディアナ大学で研究をしている。インディアナといえばインディ 500 というモーターレースが開催されることが有名で、毎年その時期には全米から人が集まり大変賑わう。インディアナ州にはX線結晶構造解析で有名なパデュー大学もあり、理系の大学という意味ではそちらの方が有名である。州都インディアナポリスから車で1時間ほど南下したところにあるブルーミントンはインディアナ大学を中心とした典型的な学園都市で、病院、図書館、映画館、劇場などの施設も大学を中心に存在している。気候は、夏は35度まで上がり冬は-20度まで下がるので寒暖の差は激しいが、湿度は低くとても過ごしやすく、建物が断熱仕様なので屋内ではあまり寒暖の差は感じない。大学内の建物は24時間365日空調システムが動いているので、1年中25度付近に維持されている。よって夏はじっとしていると寒いくらいなので、研究室では必ず長袖の上着を着て作業をする。学生の人種も様々でアジア人であっても目立つことはない。しかしアメリカは東に行けば行くほど日本人との遭遇率は低くなる傾向にあり、インディアナ州となると日本人と遭遇することは滅多にない。もし単身でアメリカの東方面、特に都市部じゃないところに留学するつもりの方は、独り言くらいしか日本語を喋る機会はないので覚悟したほうがいい。

■アメリカに至る経緯

私は学術振興会特別研究員の採用期間の最後の1年を利用して渡米し、特別研究員の任期終了後も同じ研究室で Research associate として働いている。この原稿執筆の段階で2年半ほどアメリカに滞在していることになる。この方法での留学のハードルは決して高くはなく、先方としては給料を支払わなくてもいいポストドクが来るわけなので、よっぽどの事情がない限り断られることはないと思う。ただそうは言っても全く知らない人を迎え入れるのも難しいので、学会等で先方と面識があることが望ましい。私の場合は学会での面識以外に、学位取得時の指導教官がかつて留学していた研究室であるという繋がりがあった。実際に私が希望した研究室では予算の都合上ポストドクはお断りしていたが、上記の要素のおかげで無事にアクセプトされることになった。日本での所属先の指導教官が理解ある人であれば、この方法での海外留学は行き先の選択という点で非常に恵まれていると言える。具体的な段取りとしては特別研究員の採用内定をいただいた後、任期後半でアメリカに行くことを計画し、初年度にインディアナ大学の幾つかの研究室に訪問し、2年目に研究打ち合わせや渡米の手続きなどを行った。実際に留学先が決定していればビザ関係の手続きは半年以内には終わるので1年前から準備をすれば十分間に合うと思う。アメリ

カでは現在幾つかの国からの入国に著しい制限がかかっているが幸い日本は対象外なので、今の所入国許可に関して大きな変化はない。

■良かったこと

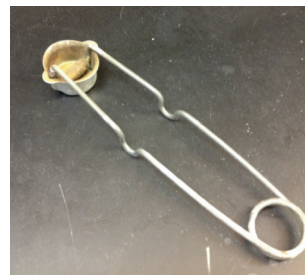
研究に没頭できること。日本での研究生活と比べて格段に違うのはこの点。研究とディスカッションと論文執筆以外、他のことは一切しなくていい。やる気があれば相当なことができると思う。私は18時くらいに帰宅していましたが、朝8時から夜22時までバリバリやれるスーパーマンは邪魔が一切入らないので相当な仕事量をこなせると思う。また人間関係もドライなので本当に周りに気を使わないし、周りのせいでイライラさせられることも少ない。科学雑誌の購読契約も幅広いので大学が契約してなくて論文が読めないというケースに遭遇したことは今までない。アメリカは研究をする上で非常に良い環境との事前情報は概ね正しかったと思う。



私のデスク及び実験ベンチ

英語でのやり取りに慣れたこと。決して流暢に喋れるようになったわけではないが、英語でのコミュニケーションが必要な環境にいて慣れる。会話だけでなく、メールでのやり取りとか発表の時の文句とか、使える Tips がそこらじゅうに転がっている。以下、これから英語での研究活動を控えている人へのアドバイスを少し紹介する。研究で優先度の高い英語能力は、リスニングと語彙力であると考えている。発表や質問で相手の言っていることを理解できて、かつ自分が言いたいことをシンプルに表現できる言葉 (究極的には一つの key word) が出れば大方コミュニケーションは成立する。発音はよほど違ってない限りネイティブはフォローできるので、発音やイントネーションにこだわるよりは語彙を増やしてみたいかだろうか。また私の場合、英語での表現に制限がかかっていたからこそ、研究の話をする際に「結局何が言いたいのか」を考えることが重要であった。実際に話そうとしている内容と本当に言いたいことが異なっていることがままあり、面白い発見だった。日本語からの直訳にこだわるとかかなり幅広い語彙力が必要になるため、シンプルな英語で言える結論を据えて喋るようになった、という経験も参考になるかもしれない。ちゃんと自分の意見を整理してから話す癖ができて、日本語での話し方にも影響を与えたと考えている。

ランチミーティング。所属していた研究室では金曜の12時からミーティングがあり、教授がピザを頼んでみんなで食べながら発表聞いたり、話し合いをしたりする。食事しながら会議という不思議な感じだが、これが思ったよりいい。会議の堅苦しさがなくなり発言のハードルがぐっと下がる感じがする。日本では会議で発言がなかなか出ないことが良くあったので、活発な議論という点ではランチミーティングは日本でも導入の余地があると考えている。



日本に持って帰りたいアイテム。着火用器具で名前は知らない。原理は火打ち石と同じ。

■良くないこと

公平に良くないと思ったことも列挙していこうかと思う。まず第一にして最大の欠点は、日本の科研費申請ができないこと。さらに持参しても現実的に使うのは困難である。日本の科研費は基本的に日本の研究機関に所属していないと申請できないので海外の研究機関からは申請できない。さらに万が一取れたとしても後述のようにアメリカで円ベースの科研費を行使するのは至難である。ポスドクとして留学する場合は自分で研究費を獲得しないといけない状態はあまりないかと思う。しかし競争的資金の獲得は業績となるので気になる人は数年間申請資格がなくなるこ

とに留意しておいたほうがいい。さらに日本で取得した科研費をアメリカで使うには非常に面倒な手続きが必要になる。私の場合は前述のように日本学術振興会特別研究員として渡米したので、直接経費として少額ながら使える研究費があった。それを使ってこちらで試薬や備品などを購入する場合、基本的に立替え払いとなる。さらに購入証明書(クレジットカードの明細やレシート、通信販売の場合は購入確定画面のスクリーンショット等)と購入したものの写真(全体像+商品コードなどが分かる写真)を通貨レートとともに日本の会計部署に送る必要があった。さらに、インディアナ大学では通常の消耗品はストックルームという学内のショップで購入するのだが、ここでは研究費のアカウントを提示して買い物をするので基本的に個人のクレジットカードで購入はできない。また Amazon や ebay 等で備品を購入してもこちらの大学会計的には私費で購入していることになるので、大学に直接搬入すると手続き上厄介になるため、PC 用のディスプレイなどは一旦自宅に送付してもらい自分で研究室に運んだこともある。このようなシステムの中、日本の科研費をアメリカで行使することは現実的ではないと考える。

もう一つが日本語の劣化の問題。20 歳を超えてからだと、どれだけ英語がしゃべれるようになっても基本言語はやっぱり日本語。頭の中で理論的な構築をする際に用いる言葉も日本語。その日本語を使わない生活を続けると、的確な日本語が出てこなくなることがある。信じられないかもしれないが、いくら母国語といえど使わないと退化していくようである。その結果、日本人とのディスカッションにおいて「何て言うんだっけ、あれ？」を連発することになる。英語も大事だが、研究者にとって理論構築の基本言語は大事しておいたほうが良いと心底思う。これから渡米する人には毎日日本語で日記を書くか、日本人と話す習慣を作ることを勧める。

最後に個人的なデメリットではあるが、教育活動に携われないことも挙げる。これは人によってはメリットになるかもしれないが、私にとってはマイナス要因となる。私が所属する研究室では日本のように先輩が後輩にしっかり指導するという風潮はない。機器の使い方とか、実験がうまくいかないとか個々の問題を軽く手伝う程度である。私の日本での研究活動は教育活動と常に一体だったので研究一本になるとどこか寂しい感じがする。研究に没頭できるメリットと表裏一体だが、教育を通して得られるものはアメリカの研究室では得られないかもしれない。

■留学の後は？

私はこれまで日本の多額の国税をもって勉強させてもらったので、日本の自然科学研究の振興に貢献したいと考えている。この選択肢は身近にいる大学の先生に聞けば体験談を聞かせてもらえるだろう。よってここでは、アメリカに残留して研究する選択肢の話をする。もしアメリカでそのまま研究活動を続けていきたい場合、どうすればいいか。結論から言うと、アメリカの大学で PhD を取得することを勧める。アメリカでアカデミックポジションに着くときに、国外で取得した PhD の評価はあまり高くない。そのため日本で取った PhD と業績で勝負するより、アメリカで PhD を取ってしまう方が対等な土俵に立てるからだ。アメリカでの PhD コースは中間審査で脱落がありうる等、やや厳しい側面はあるが、日本でちゃんと PhD を取れる人なら問題はない。もし将来的にアメリカで研究室を持ちたいと考えている人は大学院進学時点でアメリカの大学に行くべきである。タイミングとしては学部卒業後が理想だが、その段階では研究の世界をほとんど知らないで修士取得あたりが現実的かもしれない。PhD 取得後でもポスドクとして行くより大学院生として留学した方が将来的なアメリカでのキャリアは明るいと思う。大学院生として留学する場合は 8 月に始業なので 6-7 月に渡米するつもりで準備をする必要があり、日本の年度区切りとかみ合わないので注意が必要である。もう一つ留意すべき事項である永住権の問題についても言及する。日本人がアメリカに居続けるに有効な査証(正確には滞在許可証)を保持し続けなければならない。交換留学の J ビザを更新し続けるのも限界があるので、どこかでグリーンカードと呼ばれる永住者カードを取得する必要がある。研究者であればアメリカで実施した研究の論文を 3-5 本程度出せば取得できると聞いているので、そこまで難しいことではない。アメリカで PhD を取得し、もう数本論文を出せば手が届く範囲である。もちろんアメリカにおいてもアカデミックポジションの競争は熾烈である。上記の条件が揃って初めてスタートラインに立てる、そんな感じである。



Bloomington には日本で動物園でしか見られない動物が野生に多く散見される。しかも結構近づける。

■最後に

今回、私が感じたアメリカ留学におけるメリット、デメリットを中心に執筆をさせていただいた。もちろん人によって感じ方は様々なのでこれが正解というわけではないが、ここに書かれていることは私が実際に感じた嘘偽りない本心である。私は若手研究者にアメリカ留学を推奨する立場ではない。日本でも十分優れた研究ができるのは事実で、留学によって得られるものは人によって異なり「絶対行くべきだ」とは口が裂けても言えない。留学によるキャリアが今後のキャリアにどのように影響していくかなどの問いにも今は全く答えることができない。ただ、留学したいけど迷っている人には背中を押してあげたい。行きたいのであれば、絶対に行ったほうがいい。かつて私がそうだったように。

最後になりましたが、光合成研究にこのような形で投稿の機会を与えてくださった、光合成学会若手の会、榎本会長及び渡辺さん、また光合成研究編集長の伊福先生にお礼を申し上げます。この寄稿が研究の未来を担う若手の方に新しいインスピレーションを与えるものになっていることを切に願います。もし筆者に対し詳細な質問やご意見などありましたら、お気軽にお聞きください。

(plectonema.boryanum@gmail.com)

連載企画「若手研究者の海外留学レポート！」について

東京大学大学院 総合文化研究科
渡辺 麻衣

前号から連載しています、「若手研究者の海外留学レポート！」では、光合成学会若手の会が中心となり、日本を離れ海外で研究生活をおくる若手研究者に自身の経験を語ってもらう企画です。今後海外留学を考えている若い学生さんの参考にしてもらうと同時に、留学中の研究者にとっては、日本にいる人へ向けたアピールの場にしてもらえればと考えています。

前号は、フランスでポスドクとして働いている溝上さんのお話でした。今号では、アメリカでポスドクをしている山本さんにその経験談を語ってもらっています。

今後も連載を続けていきますので、留学中の方、海外留学経験のある方で、執筆していただける方、この人の体験を聞いてみたいといったリクエストなどを募集しています。

渡辺麻衣 (maiwatanabe.ps@gmail.com) までご連絡ください。

報告記事

若手の会の会長交代のご報告

東京大学大学院 総合文化研究科広域科学専攻
榎本 元

若手の会は、日本光合成学会に所属する若手研究者の有志によって発足し、2009年から活動を始めました。今年の4月から運営体制を一新し、静岡大学の成川さん、立命館大学の浅井さんに続き、私が三代目の会長として活動を行ってきました。幹事総入れ替えに伴う困難もありましたが、新企画「PIに聞いてみよう！」立ち上げを含むセミナーの開催や、連載企画「若手研究者の海外留学レポート！」の開始、新学術領域研究「新光合成」との合同セミナーの開催と、初年度からアクティブに活動を始められています。11月には、国際的な交流を見据えた新たな試みを含むセミナーを開催する予定です。（執筆時点。4月号に開催報告記事を掲載予定。）

そんな折、来年2018年2月より、EMBO Long-Term Fellowshipsの援助を受けて、ドイツ・フライブルク大学へポスドクとして渡ることになりました。国外に拠点を移すことになれば、若手の会会長としての務めを果たすことは難しくなります。この会報12月号での報告をもちまして、既に幹事の一人として活躍しておられた東京大学の清水さんに、会長を交代することにいたしました。一年足らずでの会長交代、まことに恐縮ではありますが、フレッシュな若手の会の活動を今後とも応援していただければと思います。

若手の会新会長からのごあいさつ

東京大学大学院 総合文化研究科広域科学専攻
清水 隆之

4代目の会長を務めることになりました、清水隆之と申します。今年の10月から、東京大学の増田建研究室で助教として働いております。今後しばらくは私が会長として全力で務めてまいりますので、よろしくお願い申し上げます。

私が初めて参加した光合成学会若手の会は、私が修士2年のとき（2012年）に長野県中房温泉にて1泊2日で行われたセミナーだと記憶しています。それから5年間、出来る限り参加してきましたが、それら経験の一部は現在までの研究生生活で活かしているように感じます。今後は、これまで若手の会で経験させてもらったこと以上のものを、若い学生のみなさんに提供していく所存です。それが、最終的には光合成研究の発展にも繋がると信じています。

基本的な活動は、年2回程度のセミナーと本会誌への投稿「若手研究者の海外留学レポート！」ですが、若手からの積極的な企画提案・運営参加を随時募集しております。遠慮なく、清水（ctshimizu@g.ecc.u-tokyo.ac.jp）までご連絡ください。

報告記事

「新光合成&光合成若手の会 ジョイント若手ワークショップ」開催報告

関西学院大学 理工学部 生命科学科
辻 敬典

8月30～31日にかけて、神戸セミナーハウスにて、新学術領域「新光合成：光エネルギー変換システムの再最適化」および日本光合成学会若手の会のジョイント若手ワークショップを開催しました。北は宮城から南は福岡まで、41名の学生を中心とする若手研究者が集いました。例年、若手の会では合宿セミナーを開催していますが、今回は新学術領域との共催ということもあり、普段とは異なる顔ぶれが集まりました。



招待講演は、神戸大学の蘆田弘樹先生と、国立遺伝学研究所の小林優介博士にお願いしました。蘆田先生には、アーキアが持つ始原的なカルビン・ベンソン回路の発見についてご講演していただきました。カルビン・ベンソン回路の起源は何か？という根源的な問いに対する答えが、非光合成生物も含めた包括的解析によって得られたということは、広い視野を持つことの重要性を意味しており、若手にとって示唆に富む内容でした。小林優介博士には、葉緑体ゲノムの均等分配に不可欠なホリデイジャンクション解離酵素についてお話してもらいました。ホリデイジャンクション解離酵素は、DNAの複製と分配に必須ですが、植物の葉緑体では同定されていませんでした。今回は、その最後のミッシングピースを明らかにしたというインパクトのある内容のお話をしていただきました。お二人のご講演はいずれも多くの方々に当てはまる普遍的テーマであるため、全ての参加者にとって興味深いものだったと思います。

上記の二つの招待講演に加え、9題の口頭発表と、18題のポスター発表がありましたが、いずれの発表も興味深く、活発な質疑応答がなされました。また、例年行われる若手の会合宿セミナーと同様に、夜のディスカッションも大いに盛り上がりました。今回参加された方は分かると思いますが、本若手ワークショップは終始和やかな雰囲気です、学生同士が自由に議論する場となりました。今後も同様の若手を中心としたセミナーやワークショップがあると思いますが、ぜひ学部生や大学院生の方々も積極的に参加し、光合成研究を盛り上げて欲しいと思います。

最後になりますが、本ワークショップの開催にあたり、関西学院大の谷口幸美先生、宗景ゆり先生、および新学術領域「新光合成」の代表である皆川純先生には、多大なご助力をいただきました。この場を借りて御礼申し上げます。

報告記事

「Farquhar 教授京都賞受賞記念 光合成機能の環境応答とモデリング」
ワークショップ 参加報告

東京大学 大学院理学系研究科
河野 優

2017年6月16日、公益財団法人 稲盛財団は、第33回（2017年）京都賞の基礎科学部門受賞者に、オーストラリア国立大学特別教授の Graham Farquhar 博士を決定したと発表した。授賞式は11月10日に国立京都国際会館で開かれ、12日に同所で記念ワークショップ基礎科学部門シンポジウム「植物の生き方を知り地球環境の変化を予測する」が開催された。また、11月17日と18日にかけて東京大学小柴ホールにて、東京大学の寺島一郎 教授・熊谷朝臣 教授・矢守航 准教授らが主催した「Farquhar 教授京都賞受賞記念 光合成機能の環境応答とモデリング」ワークショップが開催された。本ワークショップの報告記事は、主催者の研究室メンバーとして、当日の運営のお手伝いに携わり、講演発表を聴いた参加者の視点で報告させていただく。

Farquhar 博士は、炭素同化酵素であるルビスコの反応が光合成の律速要因として重要であることに注目して、光合成の機能モデルを打ち立てた。1980年、Planta 誌に発表されたこのモデルは、植物と大気中の二酸化炭素交換の環境応答を数値解析できることから、光合成研究の理解と発展に常にその礎となってきた (Farquhar et al., 1980, Planta)。このモデルは、個葉だけでなく細胞から森林生態系まで広く応用されている。つまり、人間活動による大気中の二酸化炭素の変動が、農地、草原、森林など多様なレベルでの植生の応答にどのような影響を与えるのかを、水分供給や温度の影響までも考慮した解析に広く利用されている。過去40年近くにもわたる Farquhar 博士の研究の結果は、現在、気候変動科学、農学、環境科学、古生物学（年輪解析）、生態系生態学にまで広く利用されている。Farquhar 博士自身は現在でも植物科学と環境科学において活発に研究されており、本ワークショップにおいて、博士が今何に興味を持ち、どんな考えを持っておられるのかを生で聞くことのできる貴重な機会であった。

開催日は快晴とまではいかないが雨の心配もなく、気候的にも非常に過ごしやすいコンディションのもとでワークショップを迎えることができた。参加者は約120名で、招待講演が11件、ポスター発表が23件あった。発表はすべて英語で行われた。本ワークショップの初日の招待講演では、東北大学の彦坂幸毅先生は光合成の温度馴化モデル研究について、東京薬科大学の野口航先生はミトコンドリア呼吸系が光合成の調節に果たす役割について、そして、東京大学の熊谷朝臣先生と国立環境研究所の伊藤昭彦先生は世界規模な環境変化が植生の環境応答にどのような影響を与えるのかという最新のモデル解析の研究成果について講演された。また、二日目の招待講演では、フランス CER の溝上祐介先生は気孔コンダクタンスと葉肉コンダクタンスの環境応答の違いについて、京都工芸繊維大学の半場祐子先生はシダ植物やコケ植物における葉肉コンダクタンスについて、三重大大学の松尾奈緒子先生は乾燥地植物の水利用と耐塩性について、東京大学の矢守航先生は変動する環境に対する植物の適応戦略について、東北農業センターの長谷川利拓先生は気候変動に対するイネの応答について、そして、岐阜大学の村岡裕由先生は森林の CO₂ 吸収量の季節変化について講演された。

個葉レベルから生態系レベルまで様々なスケールや視点からの研究紹介があり、どの講演も興味深く、積極的なオープンディスカッションが繰り広げられた。

Farquhar 博士自身も、“My latest modeling studies” という演題で講演された。Farquhar 博士はご自身が 1980 年に発表した光合成機能モデルをさらに改良し、硝酸還元、アミノ酸合成、光呼吸といったこれらの相互作用の影響を盛り込んだ新バージョンのモデルを開発したことをお話くださった。数式がたくさん並ぶ難解な内容ではあったが、その場にいた全員が真剣にかつ驚きを伴って話に聞き入っていた。なお、この改変版の光合成モデルについては、*Nature Plants* に発表されることが決まっている。本ワークショップの最後の Farquhar 博士による挨拶の際には、各講演やポスター発表に対する講評までしていただき、Farquhar 博士の誠実な人柄が見て取れた。

二日間の間に 4 度のポスター発表の時間が設けられたため、こちらも熱心な議論が繰り広げられた。ポスター発表は、講演会場から出たすぐのフロアで行われ、休憩場所と懇親会会場と兼用していたため、気軽な感じでじっくりと各ポスターを見る時間があつた。また、光合成を扱う様々な分野の人たちが参加くださっていたことも相まって、普段なら学会でもお会いしないような研究者の方々と議論する機会に恵まれた。ポスター発表がきっかけで共同研究が生まれたという方々もおられたようだ。初日の懇親会の料理は、日本にはじめての洋式公園として誕生した日比谷公園に本店を構える洋食店 日比谷松本樓の東大工学部支店にお願いした。都内屈指の洋食店だけあって、どの料理もとてもおいしく、評判はよかつた。参加者の中には、お酒の差し入れをしてくださった方もいらして、料理だけでなく、お酒のバラエティも豊富で参加者の皆様に楽しんでいただけたのではないかと思う。

最後に、寺島先生から Farquhar 博士との思い出話を聞く機会があつたので、少し紹介する。Farquhar 博士との出会いは 1984 年 12 月に、出来上がった博士論文のコピーを世界の 5 研究室に送ったところから始まる。返事が来たのが 3 件で、そのうちの 1 件が Farquhar 博士からだった。Farquhar 博士からの返事が最も早かつたこともあり、1985 年 10 月にオーストラリア国立大学に留学することに決めたようだ。寺島先生が Farquhar 博士との思い出語りによく話してくださるのが、当時英語の話せなかつたポストドクの寺島先生の面倒を見るのに苦労させてしまったことである。寺島先生は下手な英語でも果敢に批判したり議論を持ち掛けたようである。そういうこともあって、寺島先生自身は、Farquhar 博士に好かれていなかつたと感じていたようだが、決してそんなことはないと思う。その証拠に、Farquhar 博士は寺島先生の真摯な研究姿勢と学問的知識を認めて、投稿論文のレフリーレポートの下書きなどを依頼されたという。研究業績の面では、ストレス条件下では、葉面の光合成が不均一になり、それが細胞間隙二酸化炭素の計算値が過大評価となることなどの研究を一緒に行った (Terashima et al., 1988, *Plant & Cell Physiology*)。Farquhar 博士は偉大な光合成機能モデルを発表されたことからわかるが、当然数学も得意である。長年、Farquhar 博士と研究されていたオーストラリア国立大学の Susanne von Caemmerer 教授は、彼のことを、植物科学者にも数式が追えるよう、適度な近似や省略が絶妙であつたと評している。ルビスコのキネティクスのモデルなど、同じ頃にいくつかの論文が出たが、結局残つたのは Farquhar 博士のものだった。理論は誰にでも理解しやすいものでなければならない。正確を期すあまり、複雑な式を展開するとダメなのである、ということなのだろう。

Farquhar 博士は生物現象の定性的理解から、定量的理解への道を強力に開いた研究者として、偉大です。この度の京都賞の受賞を心より賛辞を贈りたいと思います。そして、博士自身の研究の最前線を生で聞かせてくださったことに感謝申し上げます。



東京大学小柴ホールにて開催されたワークショップ講演の様子(提供: 稲盛財団)

報告記事

The 8th International Conference “Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability – 2017” 参加報告

神戸大学大学院 農学研究科
門田 かなえ

2017年10月30日から11月3日の5日間、インドのハイデラバード大学において 8th International Conference “Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability – 2017” が開催されました。学生を含め、約20人の日本人が参加し、全体としては200人規模と大きな集会でしたが、コーヒーブレイクやエクスカージョンを通して多くの方々と交流することができました。初めての国際学会だったのですが、日本人の研究者の方も多く参加していたため、安心して参加することができました。また本学会は、Raghavendra 先生、Cramer 先生、Govindjee 先生の退官記念講演も行われており、諸先生方の業績や経歴などを、所々ユーモアの加わったお話を通して楽しく聞かせていただきました。特に Govindjee 先生は、学会中終始お元気そうなお様子でディスカッションをなさっておられました。



カラフルな砂で床に書かれた集会のロゴマーク

1日目から3日目、5日目の4日間は7時ごろまで口頭発表とポスターディスカッション、その後カルチャープログラム、ディナーととても充実した内容でした。学会は Photosynthesis Research for Sustainability と Hydrogen Energy Research for Sustainability の2つのセッションで構成されており、Photosynthesis Research for Sustainability においては更に12のセッションに分かれており、その中でも Regulation of Photosynthesis and Environmental Stress の発表が最も多く、自分の専門と関係しているため特に勉強になりました。また本学会は、光合成の中でも光化学系I、光化学系II、チラコイド膜、C4光合成、光合成電子伝達など広い分野における専門の方が発表されており、自身の勉強不足を痛感しながらも、多くの最先端の研究をお聞きすることができ、とても参考になるものでした。特に自身の発表内容が Q-cycle と関わっていたことがあり、Danas Baniulis 先生の Cyt *b₆f* におけるスーパーオキシドラジカル生成の発表は非常に参考になりました。私は、光化学系I反応中心クロロフィルである P700 の酸化における Reduction-induced suppression of electron flow (RISE) の重要性を、低酸素拡散速度環境下で生育する水草を用いて示した研究結果をポスターにおいて発表しました。ディスカッションにおいては、膜脂質の専門の方など、専門の異なる方からも多くのご意見を頂くことができ、今後の研究に活かしたいと思っています。

2日目にはカルチャープログラムとして、インドの民族舞踊をハイデラバード大学の学生の方々が披露してくださいました。4日目にはエクスカーションとして、ゴルコンダフォート遺跡の見学、その後シルパラマンというインドの文化を体験できる施設に伺いました。ゴルコンダフォートではガイドの方が丁寧に説明をしてくださり、シルパラマンではインドならではの民芸品などを拝見することができました。カルチャープログラム、エクスカーションどちらもインドならではの文化を体験することができ、貴重な体験をさせていただきました。



カルチャープログラムの様子

最後になりますが、本学会に参加するにあたり手配をしてくださいました東京理科大学の鞆先生、他の参加者の方々、また本稿を執筆する機会を与えてくださった京都大学の伊福先生にこの場をお借りして感謝申し上げます。



参加者全体での集合写真

事務局からのお知らせ

★入会案内

本会へ入会を希望される方は、会費（個人会員年会費：¥1,500、賛助法人会員年会費：¥50,000）を郵便振替（加入者名：日本光合成学会、口座番号：00140-3-730290）あるいは銀行振込（ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290 名前：ニホンコウゴウセイガクカイ）にて送金の上、次ページの申し込み用紙、または電子メールにて、氏名、所属、住所、電話番号、ファックス番号、電子メールアドレス、入会希望年を事務局までお知らせください。

★会費納入のお願い

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（sonoike@waseda.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

〒700-8530 岡山県岡山市北区津島中 3-1-1

岡山大学 異分野基礎科学研究所

高橋裕一郎 研究室内

日本光合成学会

TEL : 086-251-7861

FAX : 086-251-7876

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(ゼロイチキユウと入力)、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。役員の任期は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。

日本光合成学会の役員選出に関する申し合わせ

平成27年5月27日 幹事会

1. 選挙管理委員会

本会の選挙を公正に実施するため、選挙管理委員会を置く。選挙管理委員2名は常任幹事会が幹事会に推薦し、決定する。選挙管理委員の互選により委員長を選出する。

2. 会長〔会則第5条第6項〕

1) 幹事および常任幹事による若干名の候補者の推薦方法

幹事は、会長選挙に推薦する候補者としてふさわしい会員を3名連記で投票する。投票結果が上位の会員について、常任幹事会は、本人の意向を確認した上で、若干名を推薦候補者として決定する。選挙事務は事務局長が執り行う。

2) 会長選挙

会長選挙の実施に当たっては、会員に推薦候補者を提示し、全会員による単記無記名投票を実施する。最高得票者を、次期会長とする。得票数が同数の場合は、抽選により決定する。選挙事務は選挙管理委員会が執り行う。

日本光合成学会の運営に関する申し合わせ

1. 幹事会

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

2. 事務局

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

3. 次期会長

会長の引き継ぎを円滑に行うため、次期会長の選挙は任期の1年前に行う。

4. 常任幹事会

常任幹事会の運営を円滑におこなうため、次期会長は常任幹事となる。

幹事会名簿

秋本誠志	神戸大学大学院理学研究科	高橋裕一郎	岡山大学異分野基礎科学研究所
栗井光一郎	静岡大学大学院理学領域	田中 歩	北海道大学低温科学研究所
池内昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	田中 寛	東京工業大学資源化学研究所
石北 央	東京大学大学院工学研究科	田中亮一	北海道大学低温科学研究所
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	民秋 均	立命館大学総合理工学院
伊藤 繁	名古屋大学	都筑幹夫	東京薬科大学生命科学部
井上和仁	神奈川大学理学部	出羽毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
伊福健太郎	京都大学大学院生命科学研究科	寺島一郎	東京大学大学院理学系研究科
榎並 勲	東京理科大学	輅 達也	東京理科大学理学部
得平茂樹	首都大学東京大学院理工学研究科	仲本 準	埼玉大学大学院理工学研究科
遠藤 剛	京都大学大学院生命科学研究科	永島賢治	神奈川大学
大岡宏造	大阪大学大学院理学研究科	成川 礼	静岡大学大学院理学研究科
太田啓之	東京工業大学	南後 守	大阪市立大学大学院理学研究科
	バイオ研究基盤支援総合センター	西田生郎	埼玉大学大学院理工学研究科
大友征宇	茨城大学理学部	西山佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
大政謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科	野口 航	東京薬科大学生命科学部
小川健一	岡山県農林水産総合センター	野口 巧	名古屋大学理学研究科
	生物科学研究所	長谷俊治	大阪大学蛋白質研究所
小俣達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	林 秀則	愛媛大学プロテオサイエンスセンター
垣谷俊昭	名古屋大学	原登志彦	北海道大学低温科学研究所
菓子野康浩	兵庫県立大学理工学部	彦坂幸毅	東北大学大学院生命科学研究科
柏山祐一郎	福井工業大学環境情報学部	久堀 徹	東京工業大学研究院化学生命科学研究科
金井龍二	埼玉大学	日原由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
神谷信夫	大阪市立大学複合先端研究機構	福澤秀哉	京都大学大学院生命科学研究科
熊崎茂一	京都大学大学院理学研究科	藤田祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
栗栖源嗣	大阪大学蛋白質研究所	古本 強	龍谷大学農学部
小池裕幸	中央大学理工学部	前 忠彦	東北大学
小林正美	筑波大学大学院数理物質科学研究科	牧野 周	東北大学大学院農学研究科
坂本 亘	岡山大学資源生物科学研究所	増田真二	東京工業大学
佐賀佳央	近畿大学理工学理学部		バイオ研究基盤支援総合センター
櫻井英博	早稲田大学	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
佐藤公行	岡山大学	松浦克美	首都大学東京都市教養学部
佐藤直樹	東京大学大学院総合文化研究科	松田祐介	関西学院大学理工学部
佐藤文彦	京都大学大学院生命科学研究科	真野純一	山口大学農学部
鹿内利治	京都大学大学院理学研究科	皆川 純	基礎生物学研究所
重岡 成	近畿大学農学部	宮尾光恵	東北大学大学院農学研究科
篠崎一雄	理化学研究所植物科学研究センター	宮下英明	京都大学大学院地球環境学堂
嶋田敬三	首都大学東京	宗景(中島)ゆり	関西学院大学理工学部
白岩義博	筑波大学生物科学系	村田紀夫	基礎生物学研究所
沈 建仁	岡山大学異分野基礎科学研究所	本橋 健	京都産業大学総合生命科学部
杉浦昌弘	名古屋市立大学	矢守 航*	東京大学大学院理学系研究科
	大学院システム自然科学研究科	横田明穂	奈良先端科学技術大学院大学
杉浦美羽	愛媛大学プロテオサイエンスセンター		バイオサイエンス研究科
杉田 護	名古屋大学遺伝子実験施設	和田 元	東京大学大学院総合文化研究科
杉山達夫	名古屋大学		
鈴木祥弘	神奈川大学理学部		
園池公毅	早稲田大学教育学部		
高市真一	東京農業大学生命科学部		

*2017年度より新任

編集後記

今月号もシアノバクテリアの生態から、植物の炭素代謝、光化学系の進化、藻類バイオ、そして光合成の水の酸化反応に関する解説特集と、幅広い内容の記事が集まりました。著者の皆様、ならびに、査読や編集にご協力頂きました皆様に深く御礼申し上げます。大久保さんの温泉微生物マットに関するご研究は、若手の会の集会から生まれた成果ということですが、若手の会は活発に活動されており、今後もそうした事例が増えることが期待されます。さらに最近では、計算科学や理論物理の方からのご投稿も増えており、編集部として大変嬉しく思っております。このような様々な専門分野にわたる学際的な面こそが「光合成研究」の最大の魅力だと思いますが、その一方で、記事の内容が専門的に偏りすぎていると判断した場合には、大幅な改訂等をお願いするケースも出て参りました。本誌では、各々の専門分野で評価が確立された新しい情報を、記事として会員にわかりやすく伝えることを目指しております。限られた紙面で誤解のない情報を分かり易く伝えることは、非常に難しい要求であるとは重々承知しておりますが、何卒ご理解のほど、よろしくお願い申し上げます。

内容に関するご意見や、本誌に対するご要望がございましたら、私までご連絡ください。また、研究紹介や解説などの記事を随時受け付けておりますので、ぜひご投稿ください。

編集長・伊福 健太郎（京都大学）

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、編集長の伊福（ifuku@kais.kyoto-u.ac.jp）までご連絡ください。

「光合成研究」編集委員会

編集長 伊福 健太郎 (京都大学)
編集委員 粟井 光一郎 (静岡大学)
編集委員 成川 礼 (静岡大学)
編集委員 矢守 航 (東京大学)

日本光合成学会 2017年度役員

会長 高橋 裕一郎 (岡山大学)
事務局長 園池 公毅 (早稲田大学)

常任幹事 田中 歩 (北海道大学) 前会長
常任幹事 鹿内 利治 (京都大学) 前事務局長
常任幹事 松田 祐介 (関西学院大学) 年会 2015年
常任幹事 柏山 祐一郎 (福井工業大学) 年会 2016年
常任幹事 杉浦 美羽 (愛媛大学) 年会 2017年
常任幹事 古本 強 (龍谷大学) 年会 2017年
常任幹事 牧野 周 (東北大学) 年会 2018年
常任幹事 宮尾 光恵 (東北大学) 年会 2018年
常任幹事 榎 達也 (東京理科大学) 光生物学協会
常任幹事 石北 央 (東京大学)
常任幹事 伊福 健太郎 (京都大学) 編集長

会計監査 藤田 祐一 (名古屋大学)
ホームページ 加藤 裕介 (岡山大学)

光合成研究 第27巻 第3号 (通巻80号) 2017年12月31日発行

日本光合成学会

〒700-8530 岡山県岡山市北区津島中 3-1-1

岡山大学 異分野基礎科学研究所

高橋 裕一郎 研究室内

TEL : 086-251-7861

FAX : 086-251-7876

e-mail : jspr@photosyn.jp

ホームページ : <http://photosyn.jp/>

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

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

名前 : ニホンコウゴウセイガッカイ
