

TOPICS

なぜ二酸化炭素の欠乏は光阻害を促進するのか？

オーストラリア国立大学
高橋俊一

はじめに

光は光合成を駆動すると同時に、光合成装置に損傷を与える。この損傷による光合成活性の低下を光阻害と呼ぶ。光合成装置の中で特に光化学系II (PSII) が光阻害を起こしやすいことから、単に「光阻害」というと「PSIIの光阻害」を指す場合が多い(本稿でも「PSIIの光阻害」を「光阻害」と呼ばせて頂く)。二酸化炭素の欠乏によりカルビンサイクルの炭酸固定活性が低下すると、光阻害が促進されることはよく知られている¹⁾。そのメカニズムを問うと、多くの研究者が「光エネルギーが過剰となりアクセプターサイド光阻害が起こるから。」と答えるのではないだろうか。しかし、我々の最近の研究成果は、この答えとは全く異なるメカニズムを示唆している。その成果を、この場を借りて紹介させて頂く。半信半疑な気持ちでしょうが、しばらくお付き合い頂ければ幸いです。

アクセプターサイド光阻害説(従来の説)

光阻害の程度はPSIIの光損傷速度と光損傷を受けたPSIIの修復速度とのバランスで決まる。そのため、ある要因により光阻害が促進された場合、それは(1)光損傷速度の増加、(2)修復速度の減少、(3)その両方、のいずれかによる。これまで、炭酸固定活性が低下するとPSIIで得られた光エネルギーが過剰となり、PSIIの第二次電子受容体(Q_A)が過還元(2電子還元)され、第一次電子受容体フェオフィチンとP680⁺との間の電荷再結合により生ずる³P680(三重項クロロフィル)が酸素と反応し一重項酸素(¹O₂)を生成し、それがPSIIに酸化傷害を与え、PSIIの光損傷速度が増加し、光阻害が促進されると考えられていた^{2,3)}(つまり、上記の1)。このPSIIの光損傷機構は「アクセプターサイド光阻害」と呼ばれ、多くの論文に引用されている。この光損傷機構は多くの総説^{4,6)}に紹介されているため、研究者の多くはこれが実験的に証明されているも

のと信じて疑わなかったかもしれない。しかし、この機構は断片的なデータを組み合わせて作り上げられた仮説にすぎず、それを生理的な条件で証明したデータは未だ示されていない。

炭酸固定活性の低下により PSII の光損傷速度は増加しない(実験結果1)

我々はクラミドモナスを用い、炭酸固定活性の低下がPSIIの光損傷速度に与える影響を調べた⁷⁾。炭酸固定では、リブロース-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(ルビスコ)の触媒により、二酸化炭素がリブロース-1,5-ビスリン酸に固定される。そのため、リブロース-1,5-ビスリン酸の合成に働くリブロース-5-リン酸キナーゼをグリコールアルデヒドで阻害すると、炭酸固定活性が低下する。グリコールアルデヒドの添加により炭酸固定活性を低下させると、光阻害が促進された。しかし、このグリコールアルデヒドの効果はPSIIの修復機構をクロラムフェニコール(葉緑体におけるタンパク質合成の阻害剤)で阻害した条件下では見られなかった⁷⁾。つまり、炭酸固定活性の低下によりPSIIの光損傷速度は増加しなかった。この事実は、炭酸固定活性の低下による光阻害の促進に「アクセプターサイド光阻害」が関与していないことを意味している。同様の結果は、高等植物でも見られている⁸⁾。また、電子伝達阻害剤であるDCMU(Q_AからQ_Bへの電子の流れを阻害する)によっても、光阻害が促進されるが、光損傷速度は増加しない^{9,10)}。この事実は、Q_Aが過還元されるような条件下でも、いわゆる「アクセプターサイド光阻害」は起こらないことを意味している。光阻害が強光条件下でよく見られることから、PSIIの光損傷が光過剰な条件下でのみ起こるという間違った解釈により、アクセプターサイド光阻害という考えが広く受け入れられてきたのかもしれない。しかし、実際にはPSIIの光損傷は弱光下でも起こる(光損

傷速度は光強度に正比例)¹¹⁾。ただ弱光下では修復速度が光損傷速度を上回っているため光阻害が起こらないだけである。

PSII の光損傷は 2 段階でおこる (実験結果 2)

最近の研究では、PSIIの光阻害は酸素発生部位の光損傷に起因することが分かってきた(図1)^{8, 12, 13)}。我々は岡崎大型スペクトルグラフを用い、*Thermosynechococcus elongatus*からの単離チラコイド膜に単色光(300 nmから 700 nmまでの 10 nmごとの光)を照射し、光の波長とPSII(酸素発生部位と反応中心)の光損傷との関係を調べた¹²⁾。その結果、紫外光や強い青色光により酸素発生部位が最初に光損傷を受け、続いてクロロフィルに吸収される光(赤色光や青色光)により反応中心が光損傷を受けることが分かった。紫外光の照射によりチラコイド膜のルーメン側にMnイオンが遊離することから、マンガンクラスターのMnによる紫外光吸収が酸素発生部位の光損傷に関与していることが示唆されている^{8, 14)}。酸素発生部位が失活した状態のPSIIでP680が励起されると、酸化力の高いP680⁺のライフタイムが長くなり、これがPSIIの反応中心に損傷を与えると考えられる^{8, 15)}。この説だと、PSIIの光損傷速度が光強度にのみ依存することになり¹¹⁾、グリコールアルデヒド⁷⁾やDCMU^{9, 10)}の影響を受けないことを矛盾なく説明することができる。

炭酸固定活性の低下は PSII の修復を阻害する (実験結果 3)

PSIIの光損傷は光合成生物にとって避けられない現象である。そのため、光合成器官には光損傷を受けたPSIIを速やかに修復する機構(PSII修復機構)が備わっている⁴⁾。我々はクラミドモナスを用いて、炭酸固定活性の低下がPSII修復機構に与える影響を調べた⁷⁾。光阻害(強光)処理によりPSII活性を低下させた野性株を弱光下に移すと、PSII活性が光阻害処理前の値まで速やかに回復した。しかし、この回復はグリコールアルデヒドの添加により阻害された⁷⁾。また、ルビスコ活性を欠失した変異体では、このPSII活性の回復が見られなかった⁷⁾。これらの事実は、炭酸固定活性の低下によりPSIIの修復が阻害されることを示している。PSII修復機構には、光損傷を受けたPSIIの反応中心タンパク質(特にD1タンパク質)のプロテアーゼによる分解、D1タンパク質の新規合成、PSIIの再構築など多くのステップがあるが、炭酸固定活性の低下によりD1タンパク質の合成が翻訳段階で阻害されることが確認された(他のPSIIタンパク質の合成も阻害されるがD1タンパク質の合成の阻害が特に顕著に現れる)⁷⁾。ホウレンソウから単離された葉緑体でもグリコールアルデヒドの添加によりD1タンパク質の合成が阻害された。その阻害は3-ホスホグリセリン酸を添加することで起こらなくなった。しかし、トリオースリン酸(グリセルアルデヒド-3-リン酸やジヒドロキシアセトン

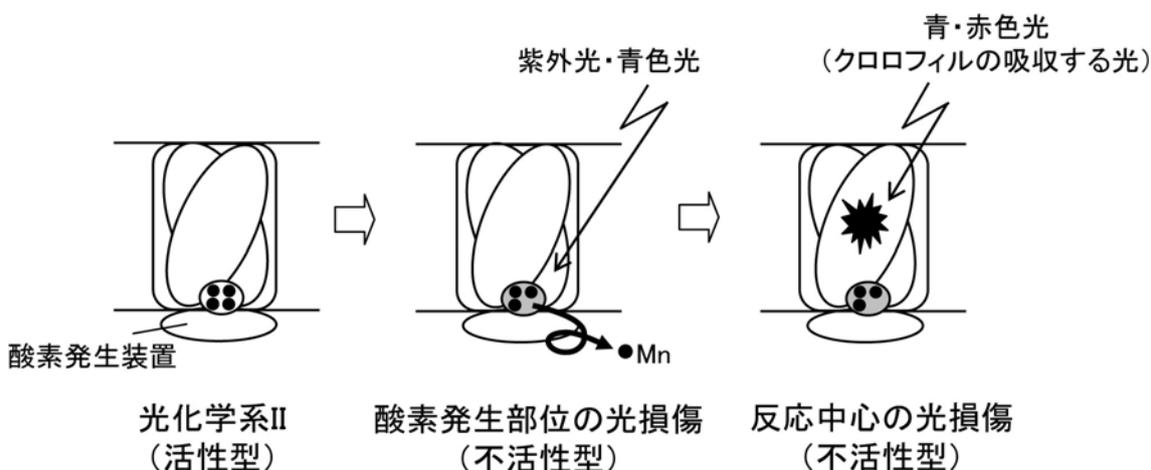


図1. 光化学系 II (PSII) の 2 段階光損傷説の模式図 (文献 8, 12 より改変)
PSII は紫外光や強い青色光により酸素発生部位が最初に光損傷を受け、続いてクロロフィルに吸収される青色光や赤色光により反応中心が光損傷を受ける。

リン酸)ではそのような効果は見られなかった¹⁶⁾。これは、3-ホスホグリセリン酸の量が低下すると、葉緑体内のタンパク質の合成が阻害されることを示唆している。

活性酸素はタンパク質の合成を阻害する (実験結果 4)

PSIIでの水の酸化により得られた電子は、電子伝達系を経てNADP⁺へと渡り、NADPHを生成する。NADPHは、カルビンサイクルの3-ホスホグリセリン酸からトリオースリン酸への反応で消費され、NADP⁺へと戻る。

炭酸固定活性の低下により3-ホスホグリセリン酸の量が低下すると、NADPHの生成量がその消費量を上回り、NADP⁺の欠乏が起こる (図2)。このような条件下では、PSIにおいて電子が酸素に渡され、活性酸素種のスーパーオキシド (O₂⁻) が生成されてしまう¹⁷⁾ (図3)。スーパーオキシドはスーパーオキシドジスムターゼによる触媒または自己不均化により同じく活性酸素種の過酸化水素 (H₂O₂) となる (図3)。実際、単離葉緑体¹⁸⁾やタバコの生葉¹⁹⁾ではカルビンサイクルの阻害により過酸化水素の生成量が増加することが確認されている。葉緑体には過酸化水素を水へと無毒化する

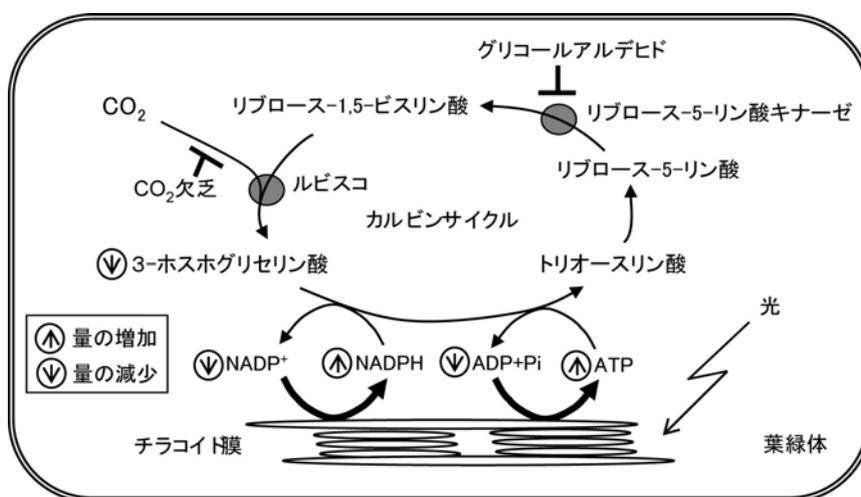


図2. 炭酸固定活性の低下によるNADP⁺の欠乏の模式図
二酸化炭素の欠乏やグリコールアルデヒドの添加によりリブロース-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (ルビスコ) の炭酸固定活性が低下すると、3-ホスホグリセリン酸量が低下し、NADPHの生成量がその消費量を上回り、NADP⁺の欠乏が起こる。

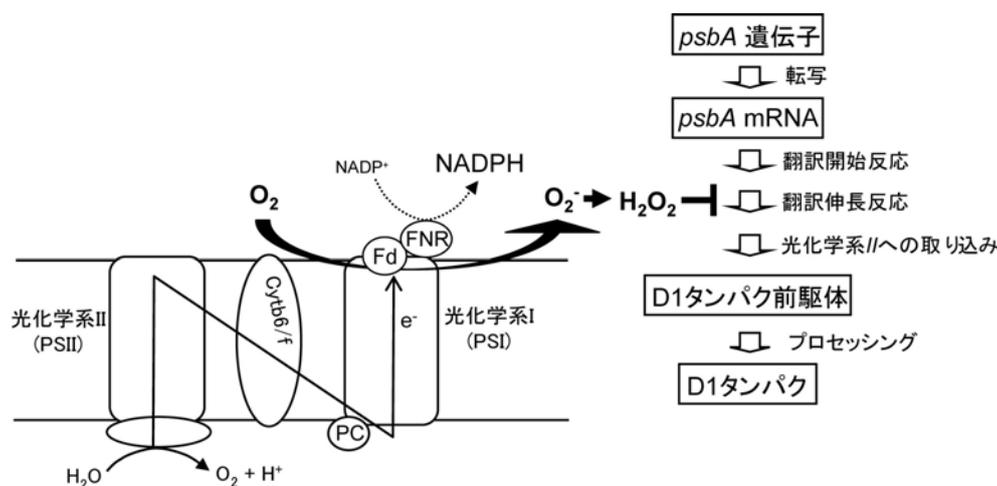


図3. 過酸化水素によるD1タンパク質の合成阻害 (文献21より改変)
光化学系I (PSI) の電子受容体であるNADP⁺が欠乏すると、電子が酸素に渡り、スーパーオキシド (O₂⁻) が生成される。スーパーオキシドは自己不均化、又はスーパーオキシドジスムターゼの触媒により過酸化水素 (H₂O₂) となる。過酸化水素はD1タンパク質合成の翻訳伸長反応を阻害する。

酵素（主にアスコルビン酸ペルオキシダーゼ）や抗酸化物質（アスコルビン酸やグルタチオン）が多く存在する¹⁷⁾。しかし、その除去能力を超える量の過酸化水素が生成されると、D1 タンパク質の合成は翻訳段階で阻害され、PSII修復機構が阻害される^{16, 20, 21)}。シアノバクテリアでは過酸化水素によりD1 タンパク質の合成の翻訳伸長反応が阻害されることが示されている²⁰⁾（図3）。

光呼吸（グリコール酸）回路による光阻害回避機構に関する仮説（実験結果5）

ルビスコはリブローズ-1,5-ビスリン酸のカルボキシラーゼ反応（リブローズ-1,5-ビスリン酸 → 2 x 3-ホスホグリセリン酸）を触媒すると同時に、そのオキシゲナーゼ反応（リブローズ-1,5-ビスリン酸 → 3-ホスホグリセリン酸 + グリコール酸）をも触媒する。この両反応は互いに競合しているため、二酸化炭素が欠乏するとオキシゲナーゼ反応が活発となり、3-ホスホグリセリン酸の生成量が低下する（カルボキシラーゼ反応では1分子のリブローズ-1,5-ビスリン酸から2分子の3-ホスホグリセリン酸が生成されるのに対し、オキシゲナーゼ反応では1分子の3-ホスホグリセリン酸しか生成されないため）。ホウレンソウからの単離葉緑体では、二酸化炭素の欠乏によりD1 タンパク質の合成が阻害され、その阻害は3-ホスホグリセリン酸の添加により抑制された¹⁶⁾。これは、二酸化炭素の欠乏により

3-ホスホグリセリン酸の量が低下し、D1 タンパク質の合成が阻害されることを示唆している。ただ、植物や藻類の細胞では、リブローズ-1,5-ビスリン酸のオキシゲナーゼ反応により生成されたグリコール酸は光呼吸（グリコール酸）回路を経て3-ホスホグリセリン酸となる（2分子のグリコール酸から1分子の3-ホスホグリセリン酸が生成される）（図4）。そのため、光呼吸回路による3-ホスホグリセリン酸の供給が、二酸化炭素の欠乏によるD1 タンパク質の合成阻害の抑制に働くことが予想される。単離葉緑体では、二酸化炭素の欠乏により阻害されたD1 タンパク質の合成がグリセリン酸（光呼吸回路の最終代謝産物）の添加により抑制されることが確認されている¹⁶⁾。筆者は、現在の所属先であるオーストラリア国立大学のMurray Badger教授の研究室において、アラビドプシスの光呼吸回路の変異体を用い、この仮説の検証を遂行中である。

環境ストレスによる PSII 修復機構の阻害に関する仮説

炭酸固定活性は温度、乾燥、塩、二酸化炭素欠乏、公害ガスといった環境ストレスにより低下する^{1, 22)}。特に高等植物では、環境ストレスに曝されると気孔が閉じ、二酸化炭素の供給が不足するため、環境ストレスによる炭酸固定活性の低下が起こりやすい。このような炭酸固定活性が低下するようなストレス環境下では、PSII修復機構が阻害され、光阻害が促進されると

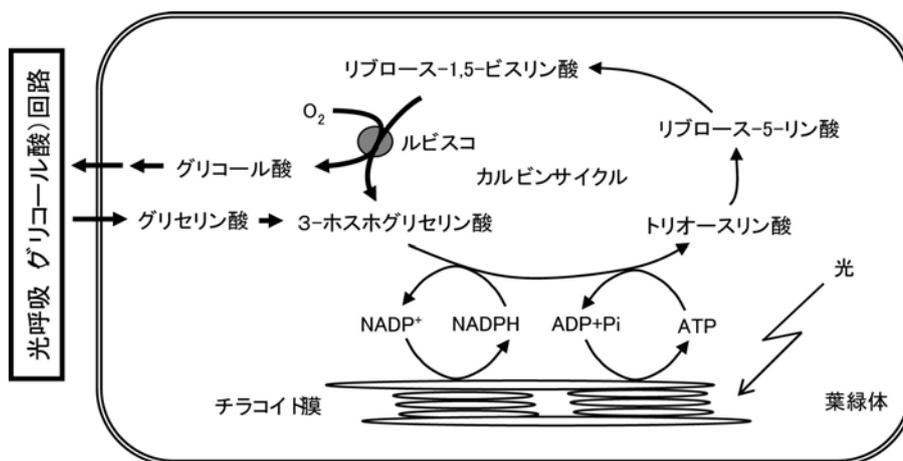


図4. リブローズ-1,5-ビスリン酸のオキシゲナーゼ反応及び光呼吸（グリコール酸）回路による3-ホスホグリセリン酸の供給の模式図
 リブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ（ルビスコ）はリブローズ-1,5-ビスリン酸のオキシゲナーゼ反応を触媒し、3-ホスホグリセリン酸とグリコール酸を生成する。グリコール酸は光呼吸（グリコール酸）回路を経て3-ホスホグリセリン酸へと変換される。

考えられる。これまでに、高温^{23,24}、低温^{24,25}、塩²⁶といった環境ストレスが、PSIIの光損傷速度を増加させることなく、PSIIの修復機構を阻害し、光阻害を促進することが報告されている。現在のところ、これらの修復機構の阻害に炭酸固定活性の低下が関与するかは明らかになっていない。しかし、PSII修復機構の環境ストレス感受性が光阻害感受性を決定する大きな要因であることは間違いない。

謝辞

最後に、本稿で紹介させて頂いた研究は、筆者が基礎生物学研究所の村田紀夫教授の研究室に在籍中に他のメンバーの方々と協同行ったもので、私の寄与はその一部である。この場を借りて、研究でお世話になった方々、そしてなにより私に本研究に携わる機会をお与え下さり、温かくご教授して下さいました村田先生に深く感謝したい。

参考文献

- 1) S. P. Long, S. Humphries and P. G. Falkowski (1994) *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 45, 633-662.
- 2) E. Hideg, C. Spetea and I. Vass (1994) *Photosynth. Res.*, 39, 191-199.
- 3) A. Telfer, T. C. Oldham, D. Phillips and J. Barber (1999) *J. Photochem. Photobiol. B-Biol.*, 48, 89-96.
- 4) E. M. Aro, I. Virgin and B. Andersson (1993) *Biochim. Biophys. Acta*, 1143, 113-134.
- 5) A. Melis (1999) *Trends Plant Sci.*, 4, 130-135.
- 6) J. Barber (1995) *Aust. J. Plant Physiol.*, 22, 201-208.
- 7) S. Takahashi and N. Murata (2005) *Biochim. Biophys. Acta-Bioenerg.*, 1708, 352-361.
- 8) M. Hakala, I. Tuominen, M. Keränen, T. Tyystjärvi and E. Tyystjärvi (2005) *Biochim. Biophys. Acta*, 1706, 68-80.
- 9) C. Jegerschöld, I. Virgin and S. Styring (1990) *Biochemistry*, 29, 6179-6184.
- 10) S. I. Allakhverdiev, Y. Nishiyama, S. Takahashi, S. Miyairi, I. Suzuki and N. Murata (2005) *Plant Physiol.*, 137, 263-273.
- 11) E. Tyystjärvi and E. M. Aro (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 93, 2213-2218.
- 12) N. Ohnishi, S. I. Allakhverdiev, S. Takahashi, S. Higashi, M. Watanabe, Y. Nishiyama and N. Murata (2005) *Biochemistry*, 44, 8494-8499.
- 13) P. Sarvikas, M. Hakala, E. Pätsikkä, T. Tyystjärvi and E. Tyystjärvi (2006) *Plant Cell Physiol.*, 47, 391-400.
- 14) O. Zsiros, S. I. Allakhverdiev, S. Higashi, M. Watanabe, Y. Nishiyama and N. Murata (2006) *Biochim. Biophys. Acta-Bioenerg.*, 1757, 123-129.
- 15) J. M. Anderson, Y. I. Park and W. S. Chow (1998) *Photosynth. Res.*, 56, 1-13.
- 16) S. Takahashi and N. Murata (2006) *Biochim. Biophys. Acta-Bioenerg.*, 1757, 198-205.
- 17) K. Asada (1999) *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50, 601-639.
- 18) K. Asada and M. R. Badger (1984) *Plant Cell Physiol.*, 25, 1169-1179.
- 19) Y. Allakhverdiyeva, F. Mamedov, P. Mäenpää, I. Vass and E. M. Aro (2005) *Biochim. Biophys. Acta*, 1709, 69-83.
- 20) Y. Nishiyama, H. Yamamoto, S. I. Allakhverdiev, M. Inaba, A. Yokota and N. Murata (2001) *EMBO J.*, 20, 5587-5594.
- 21) Y. Nishiyama, S. I. Allakhverdiev and N. Murata (2006) *Biochim. Biophys. Acta*, in Press.
- 22) M. T. Giardi, J. Masojidek and D. Godde (1997) *Physiol. Plant.*, 101, 635-642.
- 23) S. Takahashi, T. Nakamura, M. Sakamizu, R. van Woesik and H. Yamasaki (2004) *Plant Cell Physiol.*, 45, 251-255.
- 24) D. H. Greer, J. A. Berry and O. Björkman (1986) *Planta*, 168, 253-260.
- 25) S. I. Allakhverdiev and N. Murata (2004) *Biochim. Biophys. Acta-Bioenerg.*, 1657, 23-32.
- 26) S. I. Allakhverdiev, Y. Nishiyama, S. Miyairi, H. Yamamoto, N. Inagaki, Y. Kanesaki and N. Murata (2002) *Plant Physiol.*, 130, 1443-1453.