

## 解説

## シアノバクテリアの酸素適応と活性酸素適応

京都大学・名誉教授

浅田浩二\*

## 1. はじめに

シアノバクテリアは2種の光合成細菌(*Chlorobium*, *Rhodospseudomonas*)のそれぞれの反応中心を PSI, PSIIとして利用し、さらに、PSIIに2 H<sub>2</sub>Oを4電子酸化して(反応性の高い活性酸素となる酸素の還元分子種を遊離することなく) O<sub>2</sub>を発生できる Mn<sub>4</sub>Ca-Cluster-Cl (water oxidase) を PSII に組み込むことによって、酸素発生型光合成生物の現在に至るまでの進化の基となった。これによって生物圏に無限にあるH<sub>2</sub>Oを光合成の電子供与体とすることができ、地球大気にO<sub>2</sub>を、地上に有機基質を供給し、好気呼吸を初め、地球上のすべての生物進化の基となった。シアノバクテリアは、しかしながら、それまでの嫌気的環境を生存圏としていた光合成細菌と異なり、細胞内で自らO<sub>2</sub>を発生する初めての生物である。そのためシアノバクテリアは、細胞自身が発生するO<sub>2</sub>そのものによる酸素ストレス、活性酸素が最も生じやすい太陽光の下でCO<sub>2</sub>固定を進行させなければならぬために避けられない活性酸素ストレスに直面したはずである。ここではシアノバクテリアがどのようにしてこれらのストレスを緩和しつつ酸素発生型光合成の機能を進化させてきたかを中心に、酸素発生型光合成生物の酸素分子の消去機構、活性酸素の消去機構を考えてみたい。

## 2. シアノバクテリア出現以前の地球大気の酸素濃度

シアノバクテリアによってO<sub>2</sub>が発生する以前の地球大気O<sub>2</sub>濃度を推定する一つの手がかりは、探査機によって測定された現在の金星大気、火星大気の地表面でのO<sub>2</sub>濃度であろう。これまで金星、火星にはO<sub>2</sub>を発生する生物、その他どのような生物の存在も証明され

ていないが、これら惑星の表面での大気圧、O<sub>2</sub>の分圧、このO<sub>2</sub>が水に溶けて平衡になった時の濃度を、現在の地球大気と比べると以下の通りである<sup>1)</sup>。

	地表面の 大気圧 (bar)	大気O <sub>2</sub> 体積 (%)	O <sub>2</sub> 分圧 (bar)	水と平衡時 のO <sub>2</sub> 濃度 ( $\mu$ M, 25°C)
地球	1	21	$2.1 \times 10^{-1}$	250
火星	0.006	0.13	$7.8 \times 10^{-6}$	0.0093
金星	90	0.0069	$6.2 \times 10^{-3}$	7.4

金星は大気圧が地球に比べ2桁近く高く、また地球に比べ温度が高い(735 K)ため30億年以前の地球大気を直接に反映していないが、それでも地表面での大気O<sub>2</sub>濃度はゼロではない。火星大気は、地球でシアノバクテリアがO<sub>2</sub>を大気に供給し始める以前の状態をより反映していると考えられるが、これら惑星大気に含まれている極低濃度のO<sub>2</sub>は、大気に含まれているH<sub>2</sub>O(現在の火星大気にも0.03%の水分が検出されている)の紫外線分解(オゾン層がないため波長の短いUVも地表に届く)によって、さらに、放射線分解も寄与して生じたO<sub>2</sub>と、このO<sub>2</sub>が地表面成分と反応して消費されたバランスを反映していると考えられる。しかし、シアノバクテリア出現以前の岩石としてFeはFeS<sub>2</sub>(黄鉄鉱)としてのみ見いだされているので、この極低濃度のO<sub>2</sub>と地表面成分との反応は無視できるほどであったと考えてよいであろう。Fe<sup>2+</sup>とO<sub>2</sub>が反応して生ずるFe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>とシリカが縞状になっている縞状鉄鉱床が見いだされるのは、25~20億年前からであり、シアノバクテリアによって地球大気にO<sub>2</sub>が供給されて初

\* 連絡先 E-mail: k.asada@ks5.ecs.kyoto-u.ac.jp

めて $\text{Fe}_2\text{O}_3$ が生成沈積したと考えられ、逆にこれからシアノバクテリアの出現時期が推定されている<sup>2)</sup>。

### 3. 嫌気性菌の酸素消去酵素としてのcyt c oxidase

シアノバクテリアが $\text{O}_2$ を発生する以前に出現していた嫌気性の古細菌、(真正)細菌はその当時、できるだけ還元的な、極低濃度 $\text{O}_2$ のない環境を選んで生存していたと思われる。それでも当時の極低濃度の $\text{O}_2$ に接触する危険性があり、嫌気性細菌は極低濃度 $\text{O}_2$ を細胞内で速やかに消去し、酸化されやすい嫌気性菌の細胞成分を $\text{O}_2$ から保護する必要があったはずである。25億年前、シアノバクテリアが出現するまでの地球大気 $\text{O}_2$ 濃度を火星の大気 $\text{O}_2$ 濃度に等しいと仮定すれば、当時の地球の水たまりの $\text{O}_2$ 濃度は上の表のように9.3 nMとなる。

このレベルの $\text{O}_2$ 濃度は、酸素代謝生化学の立場からみれば、好気性代謝を象徴するcytochrome c oxidase (cyt c oxidase)の $\text{O}_2$ に対する $K_m$ 値(ミトコンドリアがState 3で80 nM, State 4で20 nM)に近い値である<sup>3)</sup>。この $K_m$ 値は cyt c oxidaseが機能している細胞内部の $\text{O}_2$ 環境を反映しているため、ミトコンドリア周辺の $\text{O}_2$ 濃度は空気の $\text{O}_2$ 飽和の水に比べ3~4桁低いと推定される。実際に動物の肝臓組織での、血管ヘモグロビンの酸素結合比、肝臓細胞のcyt c oxidaseの $\text{O}_2$ 濃度によるcyt a<sub>3</sub>の酸化還元比などが組織、細胞レベルで測定され、細胞内の $\text{O}_2$ 濃度勾配が測定されている。これらの結果から、物理的拡散だけによって $\text{O}_2$ が移動する肝臓細胞内で $\text{O}_2$ 濃度勾配があり、cyt c oxidaseが結合しているミトコンドリアの周りの $\text{O}_2$ 濃度は、血管からオキシヘモグロビン、オキシミオグロビンの解離によって供給される $\text{O}_2$ 濃度に比べ低く、細胞膜とミトコンドリアの間に~100倍の $\text{O}_2$ 濃度勾配があることが明らかにされている<sup>3)</sup>。この濃度勾配によって細胞膜からミトコンドリアへ $\text{O}_2$ が拡散移動しているが、ミトコンドリアとcyt c oxidase 周辺の $\text{O}_2$ 濃度は、シアノバクテリア出現以前の地球大気、現在の火星大気 $\text{O}_2$ が水に溶けた濃度に等しいレベルである。

cyt c oxidaseはシアノバクテリアを含め好気性生物のみでなく、シアノバクテリアが大気に $\text{O}_2$ を供給する以前に出現した嫌気性の古細菌、(真正)細菌にも存在している。cyt c oxidase のsubunit 1, 2 (Complex 1, 2)の古細菌、(真正)細菌から好気性生物に至る分子進化の解析から、現在、ミトコンドリアで高い効率でATP

を生産し、好気性代謝を代表するこの酵素の祖先タンパク質は、古細菌と(真正)細菌に見いだされ、これらの最後の共通祖先生物にすでに獲得されていたと推定されている(30~35億年前)<sup>4,5)</sup>。その時の地球の $\text{O}_2$ 環境は現在の火星の大気環境であり、その時に獲得された極低濃度の $\text{O}_2$ を利用できる(還元できる)性質、すなわち、 $\text{O}_2$ に対する低い $K_m$ 値を、現在でも保持している。このcyt c oxidaseの性質によって、細胞内 $\text{O}_2$ 濃度を、30億年以前の地球 $\text{O}_2$ 濃度に保ちつつ、活性酸素の生成を抑え、極低濃度の $\text{O}_2$ でも効率の高い酸素呼吸によってATPを生産している。この能力によって、酸素発生型光合成細胞以外の全ての好気性生物は、細胞内 $\text{O}_2$ 濃度を低く保ちつつ、酸素障害を防ぐことができる。哺乳動物、昆虫などで $\text{O}_2$ 濃度を空気より高くすると、活性酸素の生成増加による老化、寿命短縮が観察されている<sup>28)</sup>。循環系の機能がまだ充分でない未熟児に空気より高い濃度で $\text{O}_2$ を与えた時、網膜細胞が破壊されて生じた失明(未熟児網膜症)も、細胞内の $\text{O}_2$ 濃度を極低濃度に維持することがいかに重要かを示している。すなわち、極低濃度 $\text{O}_2$ を利用できるcyt c oxidaseの機能は、シアノバクテリアによって大気 $\text{O}_2$ 濃度が上昇する以前に獲得され、これが現在の好気性生物まで保持され、細胞内 $\text{O}_2$ 濃度が低くても機能できる。これは好気性生物にとって避けられない活性酸素による障害抑制に大きく寄与している<sup>4)</sup>。

シアノバクテリア出現以前の極限環境で生育する古細菌、嫌気性菌でcyt c oxidaseは細胞内の $\text{O}_2$ 消去の機能をもっていたと考えられている<sup>4)</sup>。cyt c oxidaseは $\text{O}_2$ の還元分子種( $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\cdot\text{OH}$ )を遊離することなく、極低濃度の $\text{O}_2$ を4電子還元して2  $\text{H}_2\text{O}$ に還元できる。この機能によって嫌気性の古細菌、細菌は活性酸素を遊離することなく細胞内 $\text{O}_2$ 濃度を低下させ、 $\text{O}_2$ に不安定な嫌気性菌に含まれる細胞成分の分解を抑えることができる。さらに、毒性のあるNO,  $\text{N}_2\text{O}$ の消去に関与していた可能性もあり、さらに、硝酸呼吸、硫酸呼吸などに関与する酵素もその祖先タンパク質は、古細菌、真正細菌の共通祖先に由来すると考えられている<sup>5)</sup>。

シアノバクテリアにもcyt c oxidase が存在しているが<sup>4)</sup>、これが $\text{O}_2$ 消去酵素として機能しているかどうかは示されていない。しかし、heterocystにdinitrogenaseをもち、これによって窒素固定をしているシアノバクテリアがある。dinitrogenaseは酸素によって失活しやすいため、heterocyst細胞の酸素濃度は低く保つ必要が

ある。そのため cyt c oxidase が酸素消去酵素として機能し heterocyst の dinitrogenase を酸素による失活から保護している可能性が考えられる。

#### 4. 嫌気性古細菌、細菌の酸素消去酵素

シアノバクテリア出現以前の嫌気性古細菌、真正細菌で cyt c oxidase が  $O_2$  消去酵素として機能している可能性について述べてきた。嫌気性菌は cyt c oxidase 以外に、 $O_2$  を消去する酵素 ( $H_2O$ -forming NADH oxidase) が極低濃度  $O_2$  によって誘導合成し、これらも cyt c oxidase と同様、 $O_2$  消去酵素として機能していると考えられる<sup>6-8)</sup>。さらに、嫌気性の古細菌、細菌から、rubredoxin を電子供与体として  $O_2$  を  $2 H_2 O$  に還元する酵素 flavodiiron protein (Flv) (A type flavoprotein) が見出されている<sup>9)</sup>。Flv は Fe とフラビンを含み、嫌気的な生育環境で生育している嫌気性菌が極低濃度の  $O_2$  に接触したとき、嫌気性菌にとって有毒ガスである  $O_2$  を  $2H_2O$  に還元していると考えられる。

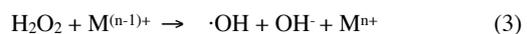
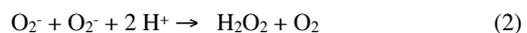
#### 5. シアノバクテリアの flavodiiron protein (Flv)

シアノバクテリア (*Synechocystis* 6803) に Flv1~4 がコードされ発現している<sup>10)</sup>。このうち Flv1、Flv3 が PSI での  $O_2$  の光還元に関与している<sup>10)</sup>。植物葉緑体の PSI では最初に  $O_2$  が 1 電子還元され  $O_2^- \rightarrow H_2O_2 \rightarrow 2H_2O$  の water-water Cycle を経て  $2H_2O$  に還元される<sup>11-12)</sup>。しかし、*Synechocystis* では  $O_2$  の PSI での光還元はその酸素同位体効果の測定から、植物葉緑体と異なり、 $O_2^-$ 、 $H_2O_2$  を遊離しないで 4 電子還元され  $2 H_2O$  になる<sup>13)</sup>。一方、Flv1、Flv3 の破壊株の結果から、この PSI での  $O_2$  の 4 電子還元は嫌気性菌に由来する  $O_2$  消去酵素 Flv1+Flv3 を利用している<sup>14)</sup>。これによって低  $CO_2$ 、高照度の光過剰ストレス環境になっても、過剰の PSI 還元当量は活性酸素を遊離することなく“安全に”消去できる。このように *Synechocystis* は自ら発生した  $O_2$  を過剰の還元当量の消去に用いているが、植物葉緑体と異なり活性酸素消去機能が不十分であったためか嫌気性菌の  $O_2$  消去システムである Flv を利用し、活性酸素を生じないようにしている。逆に、植物はなぜ Flv1+Flv3 のシステムを失って活性酸素を生ずるシステムになったのか、植物に Flv1+Flv3 のシステムを導入すればどうなるか、などはこれからの研究課題であろう。

一方、*Synechocystis* の Flv2、Flv4 破壊株は、野生株に比べ PSII 光阻害の生じやすい条件下、すなわち、低  $CO_2$ 、高照度下での PSII 反応中心の失活 (D1 タンパク質分解) が生じやすくなる<sup>15)</sup>。現在のところ、Flv2+Flv4 がどのような生化学的機構によって *Synechocystis* で PSII 失活を防禦しているか明らかではないが、上のような光過剰ストレス下では D1 タンパク質の再合成に必要な elongation factor G が活性酸素によって酸化失活を受けやすいため<sup>16)</sup>、Flv2+Flv4 が PSII で生成する活性酸素を消去し、elongation factor G の失活の抑制に機能しているかも知れない。このように、*Synechocystis* の PSI、PSII 共に、嫌気性菌の  $O_2$  消去酵素であった Flv を利用し、活性酸素ストレスに対処している。

#### 6. superoxide dismutase (SOD)

$O_2$  が 1 電子還元されて生ずる  $O_2^-$  は細胞成分との反応性はあまり高くないため、これ自身が酸素障害の作用分子となる場合は少ない。しかし、 $O_2^-$  によってラジカル反応が開始される場合もあり、 $O_2^-$  のみによって細胞障害が誘起されることもある。例えば、公害ガスである  $SO_2$  による植物障害は光照射下で顕著にみられるが、これは葉緑体で生ずる  $O_2^-$  が sulfite のラジカル連鎖酸化反応を開始するためである<sup>17)</sup>。一方、次式 (1~3) に示すように  $O_2^-$  は触媒量の遷移金属イオン ( $M^{n+}$ ) があるとこれを還元し、反応性の高い  $\cdot OH$  を次の反応連鎖で生成する (metal-catalyzed Haber-Weiss reaction)。この反応連鎖で生ずる  $\cdot OH$  による酸素障害を防禦するために  $O_2^-$  は生成したその site で消去する必要がある。遷移金属イオンは酸化還元酵素をはじめ多くの酵素の反応中心となる必須元素であるが、下の反応連鎖を引き起こしにくい配位子に配位しているか、細胞内の  $O_2^-$  の生成サイトから離れたサイトでの局在なども、反応性の高い  $\cdot OH$  による障害を防ぐ上で重要である。



$O_2^-$  は自発的不均化反応 (反応(2)) でもかなりの速度で消滅するが ( $5.3 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ , pH 7.0)、それでも  $O_2^-$  を生成サイトから拡散する前に消去し、 $\cdot OH$  生成を抑制できる superoxide dismutase (SOD) が酸素障害を防ぐ上に必須である。SOD は反応中心となる金属によって Fe-

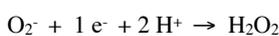
SOD、Mn-SOD、CuZn-SOD、Ni-SODの4種が見出されている。これらSODはすべて、 $O_2^-$ の不均化反応を拡散律速より速い速度で( $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )で触媒している。この速い反応は、CuZn-SODでは反応中心Cuの近くのArg残基によって $O_2^-$ が静電的に誘引され、可能となっている。海洋生物でFe-SODが欠損しているとNi-SODをコードしていることが多く、これはFeが成長の制限因子になることの多い海洋ではNi-SODがFe-SODの代替作用をしていると考えられている<sup>18)</sup>。

SODの速い反応速度からみて、これが効果的であるためにはSODは $O_2^-$ の生成サイトに局在し $O_2^-$ が拡散する前に消去しなければならない。光照度が $CO_2$ 固定能に比べ高い場合や環境ストレスによって $CO_2$ 固定能が低下したとき、PSIで $CO_2$ 固定に利用できなかった還元当量が $O_2^-$ を1電子還元し $O_2$ を生成する。植物の葉緑体ではCuZn-SODがチラコイド膜で $O_2^-$ を生成するPSI複合体のストロマ側に局在し、PSIで生成した $O_2^-$ が生成siteから拡散する前に消去している<sup>19)</sup>。これによって葉緑体でwater-water cycle<sup>11, 12)</sup>による活性酸素消去が完全なシステムとなっている。

嫌気性光合成細菌はFe-SOD、シアノバクテリアはFe-SOD、Mn-SODをもち、コケ、シダを初めとする陸上植物は、Fe-SOD、Mn-SODに加えCuZn-SODをもっている<sup>20)</sup>。Ni-SODはシアノバクテリアを初めとする原核生物、真核生物にもコードされている<sup>18)</sup>。Ni-SODをコードしている光合成細菌のSODはシアノバクテリアによる $O_2^-$ 発生以前の極低濃度 $O_2^-$ が1電子還元されて生ずる $O_2$ を消去する役割をもっていると考えられる。そのため、シアノバクテリアが $O_2^-$ を細胞内で発生するようになって、直ちに対応できたはずである。一部のシアノバクテリアは上に述べたようにFlv1によってPSIで $O_2^-$ を生成しないようにしているが、FlvをもたないシアノバクテリアではSODが、PSIその他で生ずる $O_2^-$ の消去に寄与していると考えられる。

### 7. superoxide reductase (SOR)

極限環境に生存している嫌気性古細菌に、 $O_2^-$ をSODによる不均化ではなく、電子供与体によって $O_2^-$ を $H_2O_2$ に還元する2Feを反応中心とするSORが見いだされている<sup>21)</sup>。



嫌気性菌にとって、極低濃度 $O_2^-$ によって生じた $O_2^-$ からSODによって1/2でも $O_2^-$ が再び生成するよりはSORによって $O_2^-$ が全く生成しない方が有利と考えられる。反応速度はSODと同様に拡散律速に近く、SORが $O_2^-$ 生成サイトにあれば $O_2^-$ が拡散するまでに消去できる。

S O R 反応で電子供与体として、好熱古細菌の *Pyrococcus furiosus* の場合、rubredoxinが機能している。細胞内の $O_2^-$ 濃度が高いシアノバクテリア、植物などでは、 $O_2^-$ から $O_2$ が発生してもあまり危険でないためか、SORは見いだされていない。しかし、好熱性古細菌のSORをタバコ培養細胞で発現させると、耐熱性が上昇することが示され<sup>22)</sup>、植物細胞にSOR反応に必要な電子供与体があり、この反応が耐熱性に関与していると考えられている。SORにferrocyanideが会合すると、 $H_2O_2$ がさらに $2H_2O$ にまで還元されるが<sup>23)</sup>、細胞内に見つけられていないferrocyanideに相当するFe-chelateは同定されていない。

### 8. $H_2O_2$ -消去酵素

上述のようにシアノバクテリアでは、PSIでFlv1+Flv3によって $O_2^-$ が $2H_2O$ に光還元される場合、 $O_2^-$ 、 $H_2O_2$ を遊離しないので、SOD、SOR、 $H_2O_2$ -消去酵素は必要ではない。しかし、植物葉緑体のようにこの4電子還元システムがない場合、 $O_2^-$ からSOD、SORによって生成する $H_2O_2$ を消去する必要がある。*Anacystis nidulans*は光照射によってPSIで生じた $H_2O_2$ を細胞外に排出する<sup>24)</sup>。植物の葉緑体ではアスコルビン酸(AsA)を電子供与体とするペルオキシダーゼ(APX)によって $H_2O_2$ を $2H_2O$ に還元するが<sup>11-12)</sup>、真核藻類でも同様のwater-water cycleが機能している<sup>25)</sup>。APXをコードしていない*Synechocystis* PCC6803はthioredoxin peroxidaseによって $H_2O_2$ を消去している<sup>26)</sup>。catalase-peroxidaseによって消去しているシアノバクテリアもあり<sup>27)</sup>、シアノバクテリアは多岐にわたる機構で $H_2O_2$ を消去している。

### 9. おわりに

酸素発生型光合成が進行している細胞は、動物細胞はもちろん、葉緑体をもっていない植物細胞に比べても、細胞内の $O_2^-$ 濃度は少なくとも~4桁以上高い。上に述べたように好気呼吸によってATPを生産している動物細胞でさえ、細胞内 $O_2^-$ 濃度はシアノバクテリア出現

以前の大気O<sub>2</sub>濃度レベルであるが、初めて細胞内でO<sub>2</sub>を発生したシアノバクテリアはこれによって大きな酸素ストレスに直面したのではない。これに対応するため極低濃度O<sub>2</sub>に適応していた嫌気性菌がもっていたO<sub>2</sub>消去機構、O<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>消去機構を利用し、シアノバクテリアは酸素ストレス、活性酸素ストレスを緩和してきたことが伺える。

Received July 15, 2009, Accepted July 21, 2009, Published August 31, 2009

## 参考文献

1. 理科年表 (2004) 惑星：衛星の大気組成, p. 85.
2. 田近英一 (2009) 地球環境46億年の大変動史, pp. 90-107, 化学同人.
3. 田村 守、櫛木 修 (1988) 細胞内酸素濃度とその制御、活性酸素 (中野、浅田、大柳編) pp. 203-209, 共立出版.
4. Castresana, J., Lubben, M., Saraste, M. and Higgins, D.G. (1994) Evolution of cytochrome c oxidase, an enzyme older than atmospheric oxygen. *EMBO J.* 13, 2516-2525.
5. Castresana, J. and Moreira, D. (1999) Respiratory chains in the last common ancestor of living organisms. *J. Mol. Biol.* 49, 453-460.
6. Kawasaki, S., Mimura, T., Satoh, T., Takeda, K., and Niimura Y. (2006) Response of the microaerophilic *Bifidobacterium* species, *B. Boum* and *B. thermophilum*, to oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 6854-6858.
7. Kawasaki, S., Ishikura, J., Chiba, D., Nishino, T. and Niimura, Y. (2004) Purification and characterization of an H<sub>2</sub>O-forming NADH oxidase from *Clostridium aminovalericum*: existence of an oxygen-detoxifying enzyme in an obligate anaerobic bacteria. *Arch Microbiol.* 181, 324-330.
8. Kawasaki, S., Ono, M., Watamura, Y., Sakai, Y., Satoh, T., Arai, T., Satoh, J. and Niimura, Y. (2007) An O<sub>2</sub>-inducible rubrerythrin-like protein, rubperoxin, is functional as a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reductase in an obligatory anaerobe *Clostridium acetobutylicum*. *FEBS Lett.* 581, 2460-2464.
9. Kawasaki, S., Watamura, Y., Ono, M., Watanabe, T., Takeda, K. and Niimura, Y. (2005) Adaptive response to oxygen stress in obligatory anaerobes *Clostridium acetobutylicum* and *Clostridium aminovalericum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 8442-8450.
10. Helman, Y., Tchernov, D., Reinhold, L., Shibata, M., Ogawa, T., Schwarz, R., Ohad, I. and Kaplan, A. (2003) Genes encoding A-type flavoproteins are essential for photoreduction of O<sub>2</sub> in cyanobacteria. *Cur. Biol.* 13, 230-235.
11. Asada, K. (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 601-639.
12. Asada, K. (2006) Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiol.* 141, 391-396.
13. Helman Y., Barkan, E., Eisenstadt, D., Luz, B. and Kaplan, A. (2005) Fractionation of the three stable oxygen isotopes by oxygen-producing and oxygen-consuming reactions in photosynthetic organisms. *Plant Physiol.* 138, 2292-2298.
14. Hackenberg, C., Engelhardt, A., Matthijs, H. C. P., Wittink, F., Bauwe, H., Kaplan, A., and Hagemann, M. (2009) Photorespiratory 2-phosphoglycolate metabolism and photoreduction of O<sub>2</sub> cooperate in high light acclimation of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Planta (in press)*.
15. Zhang, P., Allahverdiyeva, Y., Eisenhurd, M. and Aro, E-M. (2009) Flavodiiron proteins in oxygenic photosynthetic organisms: Photoprotection of photosystem II by Flv2 and Flv4 in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *PLoS One*, 4, e5331.
16. Kojima, K., Oshita, M., Nanjo, Y., Kasai, K., Tozawa, Y., Hayashi, H. and Nishiyama, Y. (2007) Oxidation of elongation factor G inhibits the synthesis of the D1 protein of photosystem II. *Mol. Microbiol.* 65, 936-947.
17. Asada, K. and Kiso, K. (1973) Initiation of aerobic oxidation of sulfite by illuminated spinach chloroplasts. *Eur. J. Biochem.* 33, 253-257.
18. Dupont, C. L., Neupane, K., Shearer, J. and Palenik, B. (2008) Diversity, function and evolution of genes coding for putative Ni-containing superoxide dismutase. *Environ. Microbiol.* 10, 1831-1843.
19. Ogawa, K., Kanematsu, S., Takabe, K. and Asada, K. (1995) Attachment of CuZn-superoxide dismutase to thylakoid membranes at the site of superoxide generation (PSI) in spinach chloroplasts: Detection by immune-gold labeling after rapid freezing and substitution method. *Plant Cell Physiol.* 36, 565-573.
20. Asada, K., Kanematsu, S., Okada, S. and Hayakawa, T. (1980) Phylogenetic distribution of the three types of superoxide dismutase in organisms and in cell organelles, in *Chemical and Biochemical Aspects of Superoxide and Superoxide Dismutase* (Bannister JV and Hill HAO, Eds.) pp. 136-153, Elsevier, North Holland.
21. Jenny, F. E. Jr., Verhagen, M. F. J. M., Cui, X. and Adams, M. W. W. (1999) Anaerobic microbes: oxygen detoxification without superoxide dismutase. *Science* 286, 306-309.
22. Im, J. I., Mikyoung J., Lee, A. M., Boss, W. F. and Grunden, A. M. (2005) Production of a thermostable archeal superoxide reductase in plant cells. *FEBS Lett.* 579, 5521-5526.
23. Molina-Heredia, F.P., Houee-Levin, C., Berthomieu, C., Touati, D., Tremey, E., Favaudon, V., Adam, V. and Niviere, V. (2006) Detoxification of superoxide without production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Antioxidant activity of superoxide

- reductase complexed with ferrocyanide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 14750-14755.
24. Patterson, C. O. P. and Myers, J. (1973) Photosynthetic production of hydrogen peroxide by *Anacystis nidulans*. *Plant Physiol.* 51, 104-109.
25. Miyake, C., Michihata, F. and Asada, K. (1991) Scavenging of hydrogen peroxide in prokaryotic and eukaryotic algae: Acquisition of ascorbate peroxidase during the evolution of cyanobacteria. *Plant Cell Physiol.* 32, 33-43.
26. Yamamoto, H., Miyake, C., Dietz, K.-J., Tomizawa, K. and Murata, N. (1999) Thioredoxin peroxidase in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *FEBS Lett.* 447, 269-273.
27. Miller, A. G., Hunter, K. J., O'Leary, J. B. and Hart, L. J. (2000) The photoreduction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by *Synechococcus* sp. PCC 7942 and UTEX 625. *Plant Physiol.* 123, 625-635.
28. 加藤邦彦 (1988) 老化、活性酸素 (中野, 浅田, 大柳編) pp. 475-483, 共立出版.

## Adaptation to Molecular Oxygen and Reactive Oxygen Species in Cyanobacteria

Kozi Asada\*

Kyoto University, Emeritus