

光化学系1複合体の分子集合[‡]岡山大学 大学院 自然科学研究科
高橋 裕一郎*

1. はじめに

光合成反応で最も重要な反応の一つである光エネルギー変換反応は、光化学系の反応中心が担う。光化学系は光エネルギーを捕集するアンテナ色素と光エネルギーを変換して得られた酸化還元エネルギーを安定化する複数の電子供与体と受容体から構成される複雑な構造をもつ。酸素発生型光合成電子伝達系では、光化学系1 (系1) と光化学系2 (系2) が直列に機能し、 H_2O から $NADP^+$ への電子移動を駆動する。異なる光環境下で光合成電子伝達反応を効率的に進めるため、光化学系の量比を調節したり、アンテナ複合体の量を増減したり、アンテナ複合体から2つの光化学系へ励起エネルギーを再分配 (ステート遷移) して、光化学系の活性が適切に調節されている。

光化学系複合体の生合成の解析は、光合成器官の生合成過程の一端を明らかにするだけでなく、光合成生物が異なる光環境へ馴化する分子機構の解明にも重要である。不安定な光エネルギーを効率よく変換するため、アンテナ色素と電子伝達成分を秩序正しく配置するように光化学系の構造は精密に構築されている。光化学複合体の生合成過程は複雑であるが、迅速に進むため解析は容易でない。系1は系2に比べて代謝回転が遅いため、その分子集合過程の解析は実験技術的にも難しく、解決すべき課題が多く残されている。

2. 系1の構造と機能

系2により H_2O から引き抜かれた電子はプラストキノン (PQ)、シトクロム b_6f (Cyt. b_6f)、プラストシアニン (Pc) もしくはシトクロム c (Cyt. c) を経て系1へ伝達される。系1はこの電子を用いてフェレドキシン (Fd) を還元する。この様な直鎖型電子伝達反応の他に、ある条件下ではFdの電子がPQを経て再び

系1へ戻る循環型電子伝達反応も起こる。したがって、系1は2種の電子伝達反応に関与し、その活性の制御にも関わっている。

酸素発生型光合成を行うシアノバクテリア、藻類、高等植物の系1コア複合体の主要な構造と機能はよく保存されている。コア複合体には大部分のコア・アンテナ色素と全ての電子伝達成分が存在する。図1に示すように、初期光化学反応 (電荷分離反応) を起こす

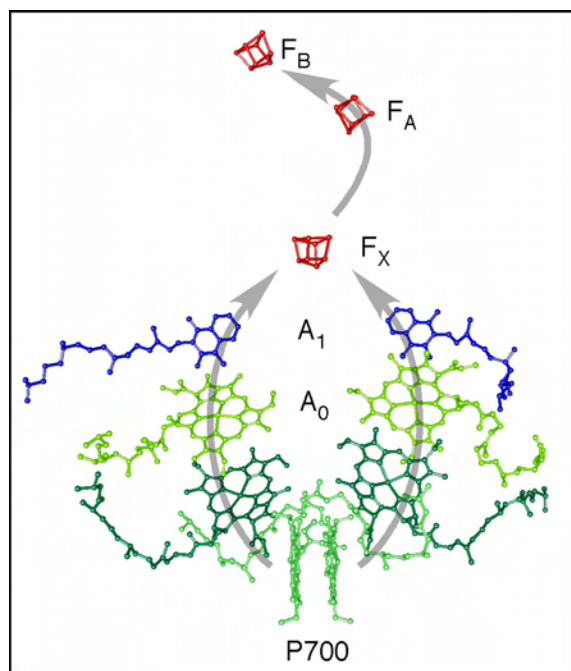


図1 系1電子伝達系の空間配置

シアノバクテリアの系1複合体の結晶構造解析から得られた電子伝達成分の配置を示す。図の一番下のクロロフィル2量体が初期電子供与体P700で、そこから矢印で示したように鉄硫黄中心の2次電子受容体 F_X まで2通りの経路を電子が移動する。P700から F_X まではそれぞれの経路には2分子のChlaと1分子のナフトキノンが存在する。P700から F_X までの成分は反応中心サブユニットPsaAとPsaBに結合する。 F_X から電子は F_A と F_B を経て、Fdが還元される。2つの鉄硫黄中心は反応中心のストロマ側に存在するPsaCに結合する。

[‡] 解説特集「最新の光合成研究と未来」

* 連絡先 E-mail: taka@cc.okayama-u.ac.jp

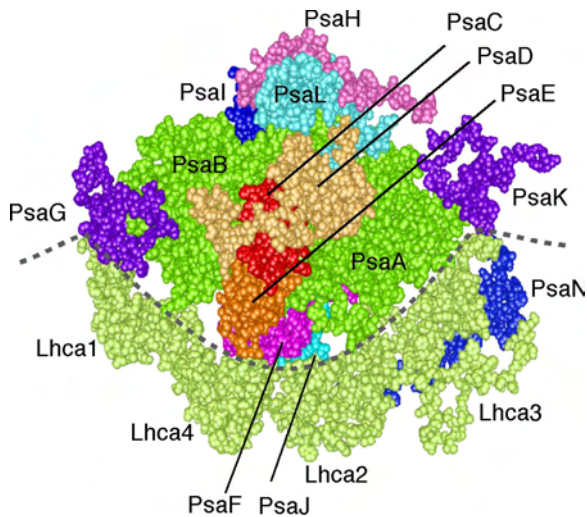


図2 系1複合体のサブユニット構造

植物の系1複合体の結晶構造解析により明らかにされたサブユニット構造を示す。系1コアとアンテナ複合体 (LHCI) から構成されるPSI-LHCI超分子複合体が形成されているのをストロマ側から見た構造である。点線が系1コア複合体とLHCI複合体の境界を示す。反応中心サブユニットPsaAとPsaBのストロマ側にPsaC/D/Eが結合する。LHCIと接する部位にそれぞれ膜を貫通するヘリックスを1本もつPsaFとPsaJが存在する。反応中心に対して反対側にPsaH/I/Lが存在する。PsaOはこの構造には含まれていないが、PsaHとPsaLの近傍に存在する。LHCI 4量体の両端に PsaG と PsaK が存在する。また、Lhca2とLhca3のルーメン側にPsaNが結合する。

初期電子供与体 (P700) と電子受容体 (A₀) が近接して存在し、電荷分離を安定化する役割を果たす一連の電子受容体 (A₁, F_X, F_A, F_B) が整然と並んでいる¹⁾。その結果、A₀の電子はF_Bまで迅速に伝達され、P700⁺への電子の逆流 (逆反応) が抑えられ、効率的にFdが還元される。

図2に示したのは、ストロマ側から見た植物の系1複合体のサブユニット構造である²⁾。各サブユニットを色分けしたが、数が多いため詳細は分かりにくいかもしれない。点線の上側の構造が系1コア複合体で、周辺部のサブユニット組成に多少に違いがあるが、シアノバクテリアと高等植物で本質的な差はほとんどない。しかし、シアノバクテリアではコア複合体が3量体を形成するが¹⁾、高等植物ではコア複合体にアンテナ複合体 (LHCI) が結合した超分子複合体が単量体で存在する²⁾。表1にシアノバクテリア、緑藻クラミドモナス、高等植物の系1複合体のサブユニット組成をまとめた。P700からF_Xまでの電子伝達成分は反応中心サブユニットであるPsaAとPsaBに結合する。一方、鉄硫黄中心F_AとF_Bは反応中心サブユニット

トのストロマ側に存在する小型サブユニットPsaCに結合する。系1コアには約100分子のクロロフィルa (Chla) と約20分子のβ-カロテン (β-Car) が存在するが、そのほとんどは反応中心サブユニットに結合し、コアアンテナとして光捕集をする。PsaC、PsaD、PsaEはストロマ側にFd結合部位を形成する。一方、PsaFはPsaJと隣接しルーメン側のPcもしくはCyt. c 結合部位の一部を形成する。また、PsaIとPsaLは反応中心を挟んでPsaFの反対側に存在し、クラスターを形成する。シアノバクテリアでは3量体形成の安定化にこれらのサブユニットが関与している。しかし、高等植物にはシアノバクテリアはもたないPsaHとその近傍にPsaOが存在する³⁾。さらにこれらのサブユニットはステート遷移の過程で系1へ移動するアンテナ複合体の結合に関与する。その他に、高等植物にはPsaGとPsaKがLHCI 4量体の両端に対称的に存在し、LHCIの結合を安定化している^{4,5)}。シアノバクテリアにはPsaGが存在しないがPsaMをもつ。

3. 系1複合体の分子集合の解析に有利な緑藻クラミドモナス

光化学系複合体の分子集合の解析にはシアノバクテリア、クラミドモナス、タバコやシロイヌナズナがモデル生物としてよく使われる。その理由は、(1)ゲノム

表1 系1複合体のサブユニット組成

サブユニット	植物	クラミドモナス	シアノバクテリア
PsaA	+	+	+
PsaB	+	+	+
PsaC	+	+	+
PsaD	+	+	+
PsaE	+	+	+
PsaF	+	+	+
PsaG	+	+	-
PsaH	+	+	-
PsaI	+	+	+
PsaJ	+	+	+
PsaK	+	+	+
PsaL	+	+	+
PsaM	-	-	+
PsaN	+	+	-
PsaO	+	+	-
PsaP	+	-	-
PsaX	-	-	+
Lhca1	+	+	-
Lhca2	+	+	-
Lhca3	+	+	-
Lhca4	+	+	-
Lhca5	+	+	-
Lhca6	+	+	-
Lhca7	-	+	-
Lhca8	-	+	-
Lhca9	-	+	-



図3 緑藻クラミドモナス

単細胞で鞭毛を2本もち、細胞体積の40%を占める葉緑体を1つもつ。光独立栄養的に生育し、酢酸塩存在下では従属栄養的に生育する。

解析が進んでいる、(2)核と葉緑体遺伝子の形質転換系が確立している、(3)光化学系複合体の変異株が単離されている、(4)高度な生化学的解析が可能である、などである。複合体の生合成は多数の構成サブユニットやコファクターが生合成された後の分子集合過程を詳細に調べる必要があるため、(4)の条件は重要である。単細胞の真核藻であるクラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) は系1複合体の分子集合の解析に最も適したモデル生物の一つであり(図3)、これまでにその解明に大きく貢献してきた⁶⁾。光化学系複合体の生合成の様々な段階で欠損をもつ変異株のコレクションがあり、主要な光化学系複合体サブユニットをコードする葉緑体遺伝子の特異的形質転換が容易であり、構成サブユニットの生合成後の分子集合過程を分析する上で必須なタンパク質のプルダウン法が確立している。その他に研究室での培養が容易であるなどの長所をもつ。しかし、シロイヌナズナに比べて核遺伝子にコードされた分子集合に関与する因子の解析が容易でない欠点がある。今後、変異株の核ゲノム上の原因遺伝子の効率的なクローニング法の開発が進めば、事情が大幅に改善されると期待される。

4. 分子集合に関与する因子

機能的な系1複合体が生合成されるには、多数の構成成分が秩序正しく分子集合されなければならない。多数の成分が自発的に集合して機能的な構造体が形成されるとは考えにくく、緻密な分子集合過程を介添えする因子や装置が存在するはずである。

系1複合体の合成に影響を与える因子は多数存在する。それは、系1サブユニットの遺伝子発現に関与す

る因子やコファクターの生合成に関与する酵素が多数存在するため、その一つが変異を受けると系1複合体の蓄積に影響を受けるからである。したがって、系1複合体の分子集合に直接関与する因子の変異株は、系1サブユニット遺伝子の発現(系1遺伝子のmRNAの蓄積と系1タンパク質の合成)やコファクター生合成は正常であるにもかかわらず、系1複合体の蓄積が正常に行われないことを指標にスクリーニングしなければならない。

葉緑体ゲノムにコードされるYcf3とYcf4はこれまでに最も解析が進んでいる因子で、系1サブユニットの翻訳後の過程で重要な役割を果たしていると考えられている⁷⁻⁹⁾。これらは酸素発生理型光合成生物に保存されている。Ycf3は膜貫通ヘリックスをもたないチラコイド膜の表在性タンパク質で、TPR (tetra-tryc peptide repeat) モチーフをもつことから他のタンパク質と相互作用すると予想されている。クラミドモナスのycf3遺伝子を欠損させると系1サブユニットの遺伝子発現は正常であるが、系1複合体の蓄積は検出限界以下になる⁷⁾。TPRモチーフを欠損させた変異株は正常に系1複合体を蓄積するので、TPRモチーフは系1複合体の分子集合に必須ではない。しかし、大腸菌に大量発現させたYcf3は系1サブユニットのPsaAとPsaDと相互作用するので、系1サブユニットの分子集合に直接関与すると考えられている¹⁰⁾。シアノバクテリアのYcf3はチラコイド膜と細胞膜の結合部位に局在し、そこが反応中心複合体の合成部位であると指摘されている¹¹⁾。しかし、葉緑体のチラコイド膜の特定の部位にYcf3が局在することを示す証拠は得られていない。葉緑体とシアノバクテリアの間には、系1複合体が分子集合する部位に違いがあるのかもしれない。

Ycf4はN末端側に2つの膜貫通ヘリックスをもつチラコイド膜に局在するタンパク質である。この遺伝子の欠損株はシアノバクテリアで最初に作出された¹²⁾。この欠損株は光合成的に生育し、系2に対する系1の量比が大きく減少していたため、Ycf4は光合成機能に必須ではないが光化学系の量比を調節する機能を持つ因子であると結論された。これに対して、クラミドモナスの欠損株は系1複合体を検出限界以下にしか蓄積しなかったため、Ycf4は系1複合体の生合成に必須な因子である⁷⁾。興味深いことに、チラコイド膜を非イオン性界面活性剤で温和に可溶化しショ糖密度勾配超遠心法にかけると、Ycf4は大きな分子量の画分

に分離され、複合体の成分であることが示唆された。そこで、タグを融合したYcf4を発現するクラミドモナスの形質転換株からYcf4を含む複合体をアフィニティークロマトグラフィーで精製しその成分を分析すると、Ycf4複合体には新規に合成された系1反応中心サブユニット (PsaAとPsaB) の他にPsaF、PsaC、PsaD、PsaE が存在することが明らかにされた¹³⁾。さらに、これらのサブユニットはクロロフィルとカロテノイドを結合した複合体を形成していたため、系1コア複合体はYcf4複合体上で形成されると考えられる。Ycf4複合体は系1複合体の分子集合を効率化したり、中間体を安定化したりする足場タンパク質の役割を果たしていると考えられる。

シアノバクテリアで同定されたYcf3⁷⁾もしくはシロイヌナズナで同定されたオーソログのPyg7 (pale yellow green 7)¹⁴⁾も系1複合体の蓄積に関与する因子である。Ycf3と同様にTPRモチーフをもち、チラコイド膜に局在し、系1複合体と相互作用する。シアノバクテリアの欠損株では系1複合体が30%程度減少するに過ぎないが、系1コア複合体の3量体形成が影響を受ける。一方、シロイヌナズナの欠損株では系1タンパク質は合成されるが複合体は蓄積しない。Pyg7はYcf4と同様にシアノバクテリアでは必須ではないが、葉緑体では必須である。

その他にも表2にまとめたように系1複合体の蓄積に関与する因子が報告されている。しかし、これらの

表2 系1複合体の分子集合に関与する因子

因子	特徴・機能など	文献番号
Ycf3	TPRモチーフ	7, 9, 10
Ycf4	系1分子集合に必須複合体を形成	7, 13
Pyg7(Ycf37)	足場タンパク質RPRモチーフ	8, 14, 26
Hcf44	系1分子集合PsaCの分子集合	27
FtsH	AAA protease系1の蓄積	28
BtpA	系1の蓄積	29
viridis-zb	系1の蓄積に必須	30
Apo1, CnfU, Hcf101	鉄硫黄中心の合成	31-33

因子の機能の詳細はほとんど明らかにされていない。また、系1に存在する3種の鉄硫黄中心の形成に関与する因子が見つかった。これらの因子の欠損は系1複合体の合成を損なうことから、鉄硫黄中心の形成は系1複合体の分子集合もしくは安定性に重要な役割を果たしていると考えられる。

これまでに報告された因子の中には、系1複合体の蓄積に対してシアノバクテリアでは必須ではないが、クラミドモナスや高等植物では必須であるものがある。欠損株の表現型に差が生じる理由は明確ではないが、シアノバクテリアでは同等の機能をもつ複数の因子が関わっているのかもしれない。さもないければ、これらの因子は分子集合中間体の安定化や分解に対する保護の役割を果たしているのかもしれない。この場合、葉緑体の方がシアノバクテリアより分子集合中間体を分解・除去する活性が高いのかもしれない。例えば、光化学系複合体の構成サブユニットの一つを欠損させると (例えば系1のPsaC¹⁵⁾や系2のPsbK¹⁶⁾など)、葉緑体の方が不完全な複合体が速く分解される。これは、損傷を受けたり、構造が不完全であったりするタンパク質を除去する活性が葉緑体の方が高いことを示唆している。

5. 系1複合体の段階的分子集合

系1複合体は多数の成分から構成されるが、各成分の分子集合は中心成分 (反応中心複合体) から周辺成分 (小型サブユニット) へと段階的に進むはずである (図4)。したがって、反応中心を形成する2種の相同な反応中心サブユニットPsaAとPsaBの分子集合が最初の過程であると考えられる。確かに、反応中心サブユニットが欠損すると他の構成成分は合成されたとしても速やかに分解してしまう。これに対して、複合体の周辺に結合するサブユニットを欠損させても系1複合体の主要部分は分子集合することが多い。反応中心サブユニットは11の膜貫通領域を含むため極めて疎水性が高く、多数のChlaとβ-Car、2分子のナフトキノン、鉄硫黄中心などのコファクターを結合するため、反応中心の分子集合過程は最も複雑で困難な過程である。反応中心サブユニットの合成とコファクターの結合は同時に起こるのだろうか。これに明確に答えるのは難しい。タンパクが蓄積しないとコファクターは存在しないし、コファクターの合成を阻害すると反応中心の蓄積は著しく抑えられる。例えば、

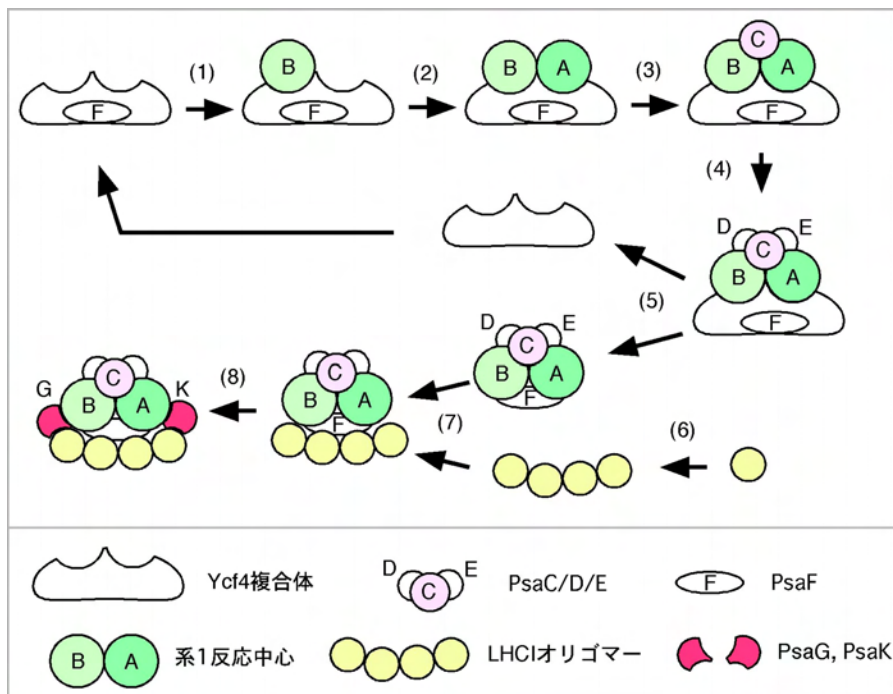


図4 系1複合体サブユニットの分子集合モデル

葉緑体のチラコイド膜上で系1サブユニットが段階的に分子集合する過程を示す。足場タンパク質の役割を果たすサイズの大きなYcf4とPsaFを含む複合体上にPsaBが分子集合し (1)、その次にもう一つの反応中心サブユニットPsaAが分子集合し、反応中心複合体が形成される (2)。その後、ストロマ側に存在するPsaCが分子集合する (3)。PsaDとPsaEがPsaCに隣接して分子集合し、Fd結合部位が形成される (4)。この段階の前でPsaFが反応中心に移動し、系1コア複合体が形成され、Ycf4複合体と遊離する (5)。Ycf4複合体は再び分子集合過程に再利用される。ここまでの分子集合過程はかなり迅速に進む分子集合の初期段階であり、Ycf4以外にもYcf3やPgy7などの因子が関与すると考えられる。LHCIの合成とオリゴマー化は系1欠損株でも起こるため、系1複合体の合成とは独立して行われる (6)。その後、系1コア複合体とLHCIのオリゴマーは結合して、PSI-LHCIが形成される (7)。分子集合過程の最終段階は、未成熟のPSI-LHCIにPsaGとPsaKが結合する過程である (8)。

Chl_aが合成されないと反応中心サブユニットの合成および反応中心複合体の安定性が著しく低下し、系1複合体は形成されない¹⁷⁾。クラミドモナスではカロテノイドは系1複合体の合成もしくは安定性に重要であるが、*Scenedesmus*では系1複合体の分子集合には必ずしも必要でない。また、鉄硫黄中心の合成が欠損した変異株では系1複合体の蓄積は著しく減少するため、このコファクターが系1複合体の合成もしくは安定性に重要である (表2)。おそらくコファクターの存在は系1反応中心サブユニットの合成を促進し、またコファクターが結合するとサブユニットが安定化されるため、タンパクの合成とコファクターの結合は同時もしくは連続して起こると考えるのが妥当であろう。

真核光合成生物ではPsaA/B/Cは葉緑体ゲノムにコードされ、葉緑体内で合成される。これらの合成と分

子集合の制御機構はクラミドモナスで詳しく調べられている。PsaAの欠損株ではPsaBは合成されるが、PsaBの欠損株ではPsaAはほとんど合成されない。この結果は、PsaBが最初に合成され、そこにPsaAが分子集合することを示唆している¹⁸⁾。この時、PsaBが存在しないため分子集合できないPsaAが*psaA*のmRNAと相互作用し翻訳を自己制御する。このようにPsaAはPsaBの発現量と一致させる分子機構が存在する¹⁹⁾。同様な制御機構がシアノバクテリアにもあるかどうかは分かっていない。さらに、PsaAとPsaBから構成される反応中心が形成された後、鉄硫黄中心を結合するPsaCが分子集合する。反応中心が存在しないと分子集合できないPsaCはPsaAと同様

の機構により*psaC*のmRNAと相互作用し翻訳が自己制御される。したがって、系1複合体の合成の初期は、PsaB、PsaA、PsaCの順番で分子集合すると言える。ところで、PsaCはストロマ側に存在するサブユニットで、PsaDとPsaEと共にFd結合部位を形成している。結晶構造からも明らかなように、PsaCが内側に、PsaDとPsaEがそれを覆うように存在している。PsaC欠損株ではPsaDの蓄積しなくなることから、PsaCが分子集合した後、PsaDとPsaEが分子集合すると思われる^{20,21)}。精製したYcf4複合体に反応中心の他に、PsaC、PsaD、PsaEが存在したことから、反応中心複合体とストロマ側の3種のサブユニットはYcf4複合体上で分子集合すると思われる。

葉緑体の系1コア複合体の周辺部には、PsaH、PsaI、PsaL、PsaOがクラスターを形成して存在する。シアノバクテリアにはPsaHとPsaOは存在せず、PsaIと

PsaLの領域が3量体形成の安定化に関与する。一方、植物や藻類では、この領域はステート遷移に伴うアンテナ複合体の可逆的結合に関与する。このクラスターの形成はコア複合体の分子集合後に起こるのであろう。シアノバクテリアでは3量体形成の前に起こることは容易に想像できる。コア複合体の構造からPsaLとPsaIが最初に分子集合し、その後PsaHが、最後にPsaOが結合すると考えられる。PsaOのknock-down株でも正常に系1複合体が形成されることから、この順番は支持されている³⁾。PsaFとPsaJはアンテナ複合体とコア複合体の境界領域に存在する。Ycf4複合体にPsaFが存在し、系1コア複合体の分子集合の後半に、このサブユニットがYcf4複合体からコア複合体へ移動して結合すると考えられる。しかし、PsaFおよびPsaJを欠損させてもコア複合体の蓄積は大きく損なわれることはない^{22,23)}。しかし、欠損株ではアンテナ複合体(LHCI)の結合が弱くなることから、コア複合体とLHCIの結合の安定化に関与している。PsaFとPsaJはその存在部位を考慮するとLHCIの結合より前に分子集合すると考えるのは合理的であろう。

PsaFとPsaJ以外に3つのサブユニットPsaG、PsaKとPsaNもLHCIの近傍に存在する。PsaGとPsaKはLHCIの4量体の両端に存在し、LHCIの構造の安定化に関与する。興味深いことに、活発に系1複合体を合成する対数増殖期の緑藻クラミドモナスではPsaGとPsaKが結合していない系1複合体が2-3%程度蓄積することが示された²⁴⁾。タンパク質のパルス・チェースラベル実験から、このサブ複合体は一過性的に蓄積し、他の分子集合過程と比べてかなりゆっくりと成熟型の複合体へ変換されることが示された。このサブ複合体にはすでにLHCIが結合しているが、PsaGとPsaKが存在しないためLHCIの結合は弱く、分析のためチラコイド膜を温和な条件で可溶化しても遊離してしまったと考えられる。LHCIのオリゴマー形成は系1複合体に結合してから起こるのではなく、オリゴマーを形成し終えてから系1複合体へ結合すると考えられる。その理由は、クラミドモナスでは系1欠損株でもLHCIはほぼ正常に合成され、オリゴマー形成するからである²⁵⁾。LHCIのオリゴマーが系1複合体へ結合するとき、PsaGとPsaKが存在するとその結合過程が妨害されるのかもしれない。そして、LHCIオリゴマーが分子集合した後、その結合を安定化するためPsaGとPsaKが結合するのであろう。この過程は系1複合体の

分子集合過程の中では最もゆっくり進むが(30分くらい)、すでに機能上重要な構造は形成されているので、それでも問題ないのであろう。興味深い課題として残されているのは、PsaNである。このサブユニットはLHCIを持たないシアノバクテリアには存在しないが、その結合部位はLHCIのLhca2とLhca4のルーメン側である。PsaNは系1サブユニットとされているが、奇妙なことにLHCIとより密接に結合している。それでは系1複合体の合成過程でPsaNはどのように分子集合するのであろうか。今のところ明確な答えは得られていないが、PsaNのLHCIへの結合は、LHCIのオリゴマー化の時か、LHCIオリゴマーが系1コア複合体へ結合した後ではないかと考えられる。

6. 今後の展望

光化学系複合体の分子集合過程の解析は実験技術上の難しさがあり解明すべき課題が多く残されている。特に、分子集合過程が速く進行すること、多数の成分が関与すること、十分の量の分子集合の中間体が得られないこと、などが障害となっていた。これからは、タンパク質の質量分析技術やコファクターの分析の高度化・微量化、分子遺伝学的手法の発展などにより新しい研究が展開されるであろう。また系2やシトクロム_{b₆f}複合体の分子集合の解析の進展も系1複合体の分子集合の解明にとって大きく貢献すると期待される。

Received April 19, 2011, Accepted April 19, 2011,
Published April 30, 2011

参考文献

1. Jordan, P., Fromme, P., Witt, H. T., Klukas, O., Saenger, W., and Krauss, N. (2001) Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution, *Nature* 411, 909-917.
2. Amunts, A., Toporik, H., Borovikova, A., and Nelson, N. (2010) Structure determination and improved model of plant photosystem I, *J. Biol. Chem.* 285, 3478-3486.
3. Jensen, P. E., Haldrup, A., Zhang, S., and Scheller, H. V. (2004) The PSI-O subunit of plant photosystem I is involved in balancing the excitation pressure between the two photosystems, *J. Biol. Chem.* 279, 24212-24217.
4. Varotto, C., Pesaresi, P., Jahns, P., Lessnick, A., Tizzano, M., Schiavon, F., Salamini, F., and Leister, D.

- (2002) Single and double knockouts of the genes for photosystem I subunits G, K, and H of Arabidopsis. Effects on photosystem I composition, photosynthetic electron flow, and state transitions, *Plant Physiol.* **129**, 616-624.
5. Jensen, P. E., Rosgaard, L., Knoetzel, J., and Scheller, H. V. (2002) Photosystem I activity is increased in the absence of the PSI-G subunit, *J. Biol. Chem.* **277**, 2798-2803.
 6. Harris, E. H. (2009) *The Chlamydomonas Sourcebook* Second Edition.
 7. Boudreau, E., Takahashi, Y., Lemieux, C., Turmel, M., and Rochaix, J. D. (1997) The chloroplast *ycf3* and *ycf4* open reading frames of *Chlamydomonas reinhardtii* are required for the accumulation of the photosystem I complex, *EMBO J.* **16**, 6095-6104.
 8. Wilde, A., Lunser, K., Ossenbuhl, F., Nickelsen, J., and Borner, T. (2001) Characterization of the cyanobacterial *ycf37*: mutation decreases the photosystem I content, *Biochem J.* **357**, 211-216.
 9. Ruf, S., Kossel, H., and Bock, R. (1997) Targeted inactivation of a tobacco intron-containing open reading frame reveals a novel chloroplast-encoded photosystem I-related gene, *J. Cell. Biol.* **139**, 95-102.
 10. Naver, H., Boudreau, E., and Rochaix, J. D. (2001) Functional studies of Ycf3: its role in assembly of photosystem I and interactions with some of its subunits, *Plant Cell* **13**, 2731-2745.
 11. Zak, E., and Pakrasi, H. B. (2000) The BtpA protein stabilizes the reaction center proteins of photosystem I in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 at low temperature, *Plant Physiol.* **123**, 215-222.
 12. Wilde, A., Hartel, H., Hubschmann, T., Hoffmann, P., Shestakov, S. V., and Borner, T. (1995) Inactivation of a *Synechocystis* sp strain PCC 6803 gene with homology to conserved chloroplast open reading frame 184 increases the photosystem II-to-photosystem I ratio, *Plant Cell* **7**, 649-658.
 13. Ozawa, S., Nield, J., Terao, A., Stauber, E. J., Hippler, M., Koike, H., Rochaix, J. D., and Takahashi, Y. (2009) Biochemical and structural studies of the large Ycf4-photosystem I assembly complex of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, *Plant Cell* **21**, 2424-2442.
 14. Stockel, J., Bennewitz, S., Hein, P., and Oelmuller, R. (2006) The evolutionarily conserved tetratricopeptide repeat protein pale yellow green7 is required for photosystem I accumulation in Arabidopsis and copurifies with the complex, *Plant Physiol.* **141**, 870-878.
 15. Takahashi, Y., Goldschmidt-Clermont, M., Soen, S. Y., Franzen, L. G., and Rochaix, J. D. (1991) Directed chloroplast transformation in *Chlamydomonas reinhardtii*: insertional inactivation of the *psaC* gene encoding the iron sulfur protein destabilizes photosystem I, *EMBO J.* **10**, 2033-2040.
 16. Takahashi, Y., Matsumoto, H., Goldschmidt-Clermont, M., and Rochaix, J. D. (1994) Directed disruption of the *Chlamydomonas* chloroplast *psbK* gene destabilizes the photosystem II reaction center complex, *Plant Mol. Biol.* **24**, 779-788.
 17. Herrin, D. L., Battey, J. F., Greer, K., and Schmidt, G. W. (1992) Regulation of chlorophyll apoprotein expression and accumulation. Requirements for carotenoids and chlorophyll, *J. Biol. Chem.* **267**, 8260-8269.
 18. Girard-Bascou, J., Choquet, Y., Schneider, M., Delosme, M., and Dron, M. (1987) Characterization of a chloroplast mutation in the *psaA2* gene of *Chlamydomonas reinhardtii*, *Curr. Genet* **12**, 489-495.
 19. Wostrikoff, K., Girard-Bascou, J., Wollman, F. A., and Choquet, Y. (2004) Biogenesis of PSI involves a cascade of translational autoregulation in the chloroplast of *Chlamydomonas*, *EMBO J.* **23**, 2696-2705.
 20. Yu, J., Smart, L. B., Jung, Y. S., Golbeck, J., and McIntosh, L. (1995) Absence of PsaC subunit allows assembly of photosystem I core but prevents the binding of PsaD and PsaE in *Synechocystis* sp. PCC6803, *Plant Mol. Biol.* **29**, 331-342.
 21. Mannan, R. M., Pakrasi, H. B., and Sonoike, K. (1994) The PsaC protein is necessary for the stable association of the PsaD, PsaE, and PsaL proteins in the photosystem I complex: analysis of a cyanobacterial mutant strain, *Arch. Biochem. Biophys.* **315**, 68-73.
 22. Farah, J., Rappaport, F., Choquet, Y., Joliot, P., and Rochaix, J. D. (1995) Isolation of a *psaF*-deficient mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*: efficient interaction of plastocyanin with the photosystem I reaction center is mediated by the PsaF subunit, *EMBO J.* **14**, 4976-4984.
 23. Fischer, N., Boudreau, E., Hippler, M., Drepper, F., Haehnel, W., and Rochaix, J. D. (1999) A large fraction of PsaF is nonfunctional in photosystem I complexes lacking the PsaJ subunit, *Biochemistry* **38**, 5546-5552.
 24. Ozawa, S., Onishi, T., and Takahashi, Y. (2010) Identification and characterization of an assembly intermediate subcomplex of photosystem I in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, *J. Biol. Chem.* **285**, 20072-20079.
 25. Takahashi, Y., Yasui, T. A., Stauber, E. J., and Hippler, M. (2004) Comparison of the subunit compositions of the PSI-LHCI supercomplex and the LHCI in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, *Biochemistry* **43**, 7816-7823.
 26. Duhring, U., Ossenbuhl, F., and Wilde, A. (2007) Late assembly steps and dynamics of the cyanobacterial photosystem I, *J. Biol. Chem.* **282**, 10915-10921.
 27. Heck, D. A., Miles, D., and Chitnis, P. R. (1999) Characterization of two photosynthetic mutants of maize, *Plant Physiol.* **120**, 1129-1136.
 28. Mann, N. H., Novac, N., Mullineaux, C. W., Newman, J., Bailey, S., and Robinson, C. (2000) Involvement of an FtsH homologue in the assembly of functional photosystem I in the cyanobacterium *Synechocystis* sp.

- PCC 6803, *FEBS Lett.* 479, 72-77.
29. Bartsevich, V. V., and Pakrasi, H. B. (1997) Molecular identification of a novel protein that regulates biogenesis of photosystem I, a membrane protein complex, *J. Biol. Chem.* 272, 6382-6387.
30. Nielsen, V. S., Scheller, H. V., and Moller, B. L. (1996) The photosystem I mutant *viridis-zb63* of barley (*Hordeum vulgare*) contains low amounts of active but unstable photosystem I, *Physiol. Plant.* 98, 637-644.
31. Amann, K., Lezhneva, L., Wanner, G., Herrmann, R. G., and Meurer, J. (2004) *ACCUMULATION OF PHOTOSYSTEM ONE1*, a member of a novel gene family, is required for accumulation of [4Fe-4S] cluster-containing chloroplast complexes and antenna proteins, *Plant Cell* 16, 3084-3097.
32. Yabe, T., Morimoto, K., Kikuchi, S., Nishio, K., Terashima, I., and Nakai, M. (2004) The Arabidopsis chloroplastic NifU-like protein CnfU, which can act as an iron-sulfur cluster scaffold protein, is required for biogenesis of ferredoxin and photosystem I, *Plant Cell* 16, 993-1007.
33. Stockel, J., and Oelmuller, R. (2004) A novel protein for photosystem I biogenesis, *J. Biol. Chem.* 279, 10243-10251.

Photosystem I Complex Assembly

Yuichiro Takahashi*

The Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University