

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26291055

研究課題名(和文)陸上植物光合成系の変動光も含む生育光環境への馴化：光阻害とその修復過程に注目して

研究課題名(英文)Acclimation of the photosynthetic apparatus to fluctuating light environment

研究代表者

寺島 一郎 (TERASHIMA, Ichiro)

東京大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：40211388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：野外の植物の光阻害の速度定数は、過剰エネルギー量あるいは非制御エネルギー散逸量と強い相関を示した。また野外の植物には過剰エネルギーを熱として散逸する能力が高い傾向があった。

シロイヌナズナのpgr5変異体の葉に、赤色光の穏やかな強光と弱光を2分毎に繰り返す変動光処理を1時間程度施すと、光化学系Iの顕著な阻害が見られた。この阻害は野生型でも見られた。一方、変動光処理の際に遠赤色光が共存すると阻害はほぼ完全に抑制された。遠赤色光の存在下では、強光照射、弱光照射、いずれの時にも光化学系I反応中心が酸化状態にあり、これが抑制に寄与している。強光照射時には循環的電子伝達の抑制への寄与も大きい。

研究成果の概要(英文)：In field grown plants, photosystem II (PSII) photoinhibitory rate constant shows strong correlations to the excess energy and energy dissipated in non-regulatory ways.

It has been reported that PSI photoinhibition is induced even in wild-type plants of Arabidopsis thaliana, rice and other species by exposure of leaves to fluctuating light (FL) for a few hours. Because plants are exposed to FL in nature, they must possess protective mechanisms against the FL induced photodamage. We examined PSI photoprotection by far-red (FR) light at intensities comparable with those observed in nature. The addition of continuous FR light during the FL suppressed this damage almost completely. With FR light, P700 was kept in a more oxidized state in both low- and high-light phases. The protective effect of FR light was diminished in the mutants of cyclic electron flow around PSI, indicating important roles of the cyclic electron flow in protection of PSI from photoinhibition.

研究分野：植物生理生態学

キーワード：光阻害 光化学系 I 光化学系II

1. 研究開始当初の背景

葉の光合成系は生育光環境に馴化する。馴化の幅はその種の生育光環境によって遺伝的に決まるので、光環境馴化は適応現象としても重要である。1960年代から、陽生植物と陰生植物や異なる光強度で栽培した植物を用いた光合成の比較研究は生理生態学のメインテーマの一つであった。葉レベルのガス交換特性、解剖学的性質と光合成特性の関連、単離した葉緑体の光合成特性などについて詳細な比較研究が行われ、その成果が総説や単行本にまとめられた(たとえば Björkman 1981, Anderson 1986)。その後、この分野の研究は、sun fleck(陽斑)などの変動光への応答(Pearcy ら、1994, Külheim ら 2002)、過剰光下の光阻害(Adams and Demmig-Adams 2006)、光阻害の修復(Nishiyama ら 2006)などをテーマとして継続されている。しかし、自然界の光環境を考慮した生理生態学的観点からの研究は意外に少ない。

申請者は、1980年代から、葉の内部の光環境やCO₂環境が葉の光合成に及ぼす影響を、生理生態学、生理解剖学の立場から研究してきた。また、Osmond教授(オーストラリア国立大)のもとで行った研究(Terashima ら 1989~)を端緒として、光阻害も研究テーマとしてきた。キュウリなどの低温感受性植物で、光化学系 I の光阻害が起こることを発見した(Terashima ら 1994, 1998、園池公毅博士(現早稲田大)との共同研究)のも、その一環である。最近では、Stefanov 博士(現 Sofia 大)と、光阻害に密接に関連する非光化学的蛍光パラメータを提唱した(Stefanov and Terashima, 2008)。また、酸素発生系表在性タンパク質の研究も行った(兵庫県立大 菓子野康浩博士との共同研究)。さらに、光阻害が過剰エネルギー説と2ステップ説のメカニズムによって起こる条件を検討した(Oguchi ら 2008)。本申請研究は、現在研究室で鋭意取り組んでいる研究を発展させるものであり、光化学系 II 光阻害の損傷と修復の生育(栽培)光環境依存性と、変動光環境に対する光合成系の馴化を対象とする。

植物が強光下で光阻害を受けることはよく知られている。しかし、野外の植物の光阻害を、損傷と修復のプロセスを分離して詳しく検討した研究例はない。また、損傷ならびに修復過程における Mn クラスターの挙動には未知な部分も多く、光損傷や光修復プロセスを理解する上で大きなネックとなっている。2ステップ説(大西ら 2005)による損傷が自然条件下でどの程度起こるのかを検証する上でも、Mn クラスターの挙動の理解は不可欠である。

野外の光環境の大きな特徴の一つとして、

さまざまな周期で光強度が変動することがあげられる。裸地に生育する植物でさえ雲の影響で変動光をうける。林床植物は、その上部に存在する植生によってさらに激しい変動光をうける。植物が過剰な光エネルギーを熱として散逸することはよく知られ、この機能が損傷された突然変異体がシロイヌナズナなどの植物でいくつか得られている。これらの変異体は、定常光栽培時には顕著な表現型を示さないが、野外や変動光条件下では顕著な成長低下が見られた(Külheim ら 2000)。また、シロイヌナズナの光化学系 I サイクリック電子伝達系の突然変異体(*pgr5*)も、変動光で栽培すると成長が著しく悪くなることが報告されている(Suorsa ら 2012)。

2. 研究の目的

1) 光阻害と修復のコスト: 葉が強光にさらされると、光化学系 II の反応中心を擁する D1 タンパク質が損傷される。損傷を受けた D1 タンパク質はチラコイド膜から引き抜かれ、*de novo* 合成 D1 タンパク質と差し替えられる。強光下における D1 タンパク質の寿命は数十分程度と短い。一方、修復も同時に進行する。したがって、見かけの光阻害は実際には損傷と修復の差である。ストレスのかからない状況では、強光下でも光阻害はそれほど見られないが、それは阻害速度も速いが修復速度がより速いからである。

それでは、修復速度はどのように決定されているだろうか。研究室の宮田一範が、いくつかの光量子束密度で修復速度定数を測定し、それらをもとにして一日の光合成生産がどのように変化するのかを計算したところ、修復速度定数を測定値の2倍にしても一日の光合成速度はそれほど上昇しないが、修復速度定数を1/2や1/4にすると、光合成生産は著しく低下する。また、大学の構内で、光環境の大きく異なる場所から採取した植物の修復速度定数を比較すると、速度定数は採取場所の光環境とよい相関を示した。これらは、植物がそれぞれの光環境において適切な修復速度をもっていることを強く示唆している。

本研究では、種々の光環境に生育する植物を材料として、いくつかの異なる光量子束密度の下で、i) 光阻害の損傷速度定数と修復速度定数を求めて上記の仮説を検証する。また、ii) 特定の波長の LED を使って、これらの定数が測定波長によってどのように異なるのかを検討する。さらに、iii) これらの定数の違いをもたらす要因を明らかにする。iv) i-iii を通して、Mn クラスターの状態を精査する。

2) 変動光環境における光阻害について

研究室の河野優は、春植物カタクリを落葉

樹林林床と裸地で栽培し、変動光に対する応答を比較した。林床栽培植物の光合成電子伝達速度は、数分毎に強光と弱光を繰り返す変動光によく追従した。この現象を精査するために変異体を用いた研究も行っている。定常光で栽培したシロイヌナズナ野生型と光化学系 I の循環的電子伝達活性を欠くとされる *pgr5* に、2 分毎に変動する温和な強光と弱光を照射すると、わずか 30 分間の処理によって、著しい光化学系 I の光阻害が見られた。野生型でも有意な阻害が見られた。また、定常光栽培した *pgr5* では、吸収した光エネルギーの多くが光化学系 I に分配されていた。これら知見をまとめ、変動光がストレスとなることを提唱した。この研究過程で、光化学系 I の循環的電子伝達速度の測定法も開発した。さらに、野生型を変動光下で栽培すると光合成活性が連続強光下で栽培したものよりも変動光によく追従することも見出した。

これらの成果は、変動光条件で植物を栽培すると変動光下で役立つ機能が強化されることを示している。本研究では、この研究をさらに推進し、i) 変動光と定常光条件で栽培した野生型植物の光合成系の性質を比較する。また、ii) カタクリなどの春植物も含めた野生植物数種を用いて、変動光条件下の光合成系強化の実態を明らかにする。

3. 研究の方法

異なる光環境で栽培した植物や野外の植物を用いて、光阻害の損傷速度定数と修復速度定数を求める。これらの速度定数の差が、修復系のどのステップによってもたらされるのかを明らかにする。情報の乏しい酸素発生系の挙動も精査した。

変動光下で栽培した植物と定常光条件で栽培した植物の光合成系の変動光への応答を比較し、変動光への追従および変動光ストレスへの耐性がどのようなメカニズムによって賦与されるのかを明らかにする。野生植物を用いてこれらの種間差についても解析を進めた。

変動光処理を可視光のみで行うと、野生型植物においても、顕著な光化学系 I の光阻害が見られた。光化学系 I のみを駆動する遠赤色光を共存させると、この阻害がほとんど完全に抑制されることを見出したので、遠赤色光の効果を、Dual PAM による光化学系 I、II の量子収率の測定により精査した。

4. 研究成果

1) 野外環境下における光化学系 II 光阻害

光化学系 II の光阻害の速度定数と修復の速度定数を、野外で生育する植物について季節を追って測定し、野外の光環境との関係を調べた。光阻害の速度定数は、過剰エネルギー E あるいは非制御エネルギー散逸 (Y(NO))

と強い相関を示した。野外の気温の効果を補正した修復速度定数は、野外の日光量子束密度と強い相関を示した。また、一般に、野外の植物には、非化学的消光能力が高い傾向があった。これらの成果は、光合成系の野外環境への馴化プロセスの研究が必須であることを物語っている。酸素発生系の傷害については、無傷葉緑体から調製したチラコイド膜のみならず、光化学系 II 粒子を調製して検討を進めている。

2) 変動光照射による光化学系 I の阻害とその抑制機構について

Arabidopsis thaliana の *pgr5* 変異体の葉に、赤色光の穏やかな強光 ($240 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) と弱光 ($30 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を 2 分毎に繰り返す変動光処理を 1 時間程度施すと、光化学系 I の顕著な阻害が見られた。興味深いことに、この阻害は野生型でも見られた。この原因は、PSI の電子伝達の受容体側の律速に依っていた。酸素濃度を低下させると、光化学系 I の周りの循環的電子伝達が活性化され光化学系 I の阻害が抑制された。また、PGR5 の過剰発現体では、21%酸素条件下でも PSI の光阻害は起こらないことも見出した。

3) 変動光照射時に遠赤色光が存在する効果

野外の光環境は変動している。2) で示したように、変動光環境下で光化学系 I が阻害されるのであれば、野外の植物は PSI の阻害を受けるはずである。しかし、PSI の修復は遅いので、光化学系 I の阻害は植物にとって致命的であると思われる。これまでの研究を見直し、野外では常に遠赤光が存在することに注目して研究をデザインした。赤色光の変動光照射時に、光化学系 I のみを駆動する遠赤色光が共存すると、その強度依存的に PSI の光阻害が抑制された。遠赤色光が共存すると、光化学系 I の反応中心の P700 は、強光照射、弱光照射、いずれの時にも P700⁺ の状態のフラクションが増加した。変異体の解析から、強光時には光化学系 I の周りの循環的電子伝達系が重要な働きをしていること、二種の光化学系 I 循環のうち C3 植物ではマイナーな役割を果たすとされてきた NDH 経路が特に重要な働きを示すことも明らかになった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)[全て査読有]

Kono M, Yamori W, Suzuki Y, Terashima I (2017) Photoprotection of PSI by Far-Red Light Against the Fluctuating Light-Induced Photoinhibition in *Arabidopsis thaliana* and Field-Grown Plants, *Plant Cell Physiol* 58: 35-45.

DOI: 10.1093/pcp/pcw215

Kono M, Terashima I (2016) Elucidation of photoprotective mechanisms of PSI against the fluctuating light photoinhibition, *Plant Cell Physiol* 157: 1405-1414.
DOI: 10.1093/pcp/pcw103

河野優、寺島一郎 (2016) 変動光に対する光合成電子伝達系の応答: PSIの光阻害と防御のメカニズム 光合成研究 26: 95-105
<http://photosyn.jp/journal/kaiho76.pdf>

Miyata K, Ikeda H, Nakaji M, Kanel DR, Terashima I (2015) Rate constants of PSII photoinhibition and its repair, and PSII fluorescence parameters in the field plants in relation to their growth light environments, *Plant Cell Physiol* 56: 1841-1854.
DOI: 10.1093/pcp/pcv107

Kono M, Noguchi K, Terashima I (2014) Roles of the cyclic electron flow around PSI (CEF-PSI) and O₂-dependent alternative pathways in regulation of the photosynthetic electron flow in short-term fluctuating light in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Cell Physiol* 55: 990-1004.
DOI: 10.1093/pcp/pcu033

Kono M, Terashima I (2014) Long-term and short-term responses of the photosynthetic electron transport to fluctuating light, *J Photochem Photobiol B* 137: 89-99.
DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2014.02.016

〔学会発表〕(計 10 件)

寺島一郎、河野優、矢守航、鈴木祥弘 “「光合成有効放射」再考: 遠赤色光の役割” 日本農業気象学会 2017 年全国大会 (2017 年 3 月 27~30 日)・北里大学十和田キャンパス (青森県・十和田市)

河野優、矢守航、鈴木祥弘、寺島一郎 “遠赤色光による変動光障害に対する PSI 保護機構” 第 58 回日本植物生理学会年会 (2017 年 3 月 16~18 日)・鹿児島大学群元キャンパス (鹿児島県・鹿児島市)

寺島一郎 “高 CO₂・高温時代の安定的光合成 C 獲得にむけて” 日本植物学会第 80 回大会 (2016 年 9 月 16~20 日)・沖縄コンベンションセンター (沖縄県・宜野湾市)

松尾光敏、河野優、園池公毅、寺島一郎 “Growth light conditions and mechanisms that make *Alocasia odora* resistant to PSI photoinhibition induced by fluctuating light” 第 57 回日本植物生理学会年会 (2016 年 3 月 18~20 日)・岩手大学上田キャンパス (岩手県

盛岡市)

河野優、北島正治、鈴木祥弘、井上和仁、寺島一郎 “変動光による光化学系 I 光阻害のメカニズムと遠赤色光による阻害の抑制” 第 57 回日本植物生理学会年会 (2016 年 3 月 18~20 日)・岩手大学上田キャンパス (岩手県盛岡市)

寺島一郎、河野優 “シロイヌナズナ pgr5 のチラコイド膜はやや脱共役状態にある?” 第 57 回日本植物生理学会年会 (2016 年 3 月 18~20 日)・岩手大学上田キャンパス (岩手県盛岡市)

寺島一郎、河野優 “シロイヌナズナ野生型、PGR5 過剰発現体、欠損変異体のチラコイドの比較” 第 79 回日本植物学会 (2015 年 9 月 6~8 日)・朱鷺メッセ:新潟コンベンションセンター (新潟県新潟市)

松尾光敏、河野優、野口航、寺島一郎 “変動光に対するクワズイモの葉の光合成系の馴化” 第 79 回日本植物学会 第 79 回日本植物学会 (2015 年 9 月 6~8 日)・朱鷺メッセ:新潟コンベンションセンター (新潟県新潟市)

河野優、寺島一郎 “光化学系 I と II の活性の不均衡が光合成電子伝達系に与える影響” 第 79 回日本植物学会 (2015 年 9 月 6~8 日)・朱鷺メッセ:新潟コンベンションセンター (新潟県新潟市)

河野優、野口航、寺島一郎 “変動光が光化学系 I と II の光阻害に及ぼす影響” 第 78 回日本植物学会 (2014 年 9 月 12~14 日)・明治大学生田キャンパス (神奈川県川崎市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕 なし

〔その他〕

研究室ホームページ

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/seitaip/inde x.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺島一郎 (TERASHIMA, Ichiro)
東京大学・大学院理学系研究科・教授
研究者番号: 40211388

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

河野優 (KONO, Masaru)

東京大学・大学院理学系研究科・博士研究員

宮田 一範 (MIYATA, Kazunori)

東京大学・大学院理学系研究科・生物
科学専攻・博士課程学生