

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15759

研究課題名（和文）光化学系IとIIで誘導される非光化学消光による光エネルギー制御機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of regulatory mechanism of light energy by non-photochemical quenching induced in photosystem I and II

研究代表者

植野 嘉文（UENO, Yoshifumi）

神戸大学・理学研究科・理学研究科研究員

研究者番号：70847805

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、過剰な光エネルギーを光合成に利用せず熱として散逸する制御機構（非光化学消光）による両光化学系における光エネルギー利用方法の解明を目指した。蛍光分光測定との組み合わせにより、主に~550 psの時定数を持つ消光により光化学系I蛍光領域の定常蛍光強度が~27%減少すること、培養光強度に依存して主要な消光の時定数が変化するものの光化学系II蛍光領域の定常蛍光強度が~43%減少すること、それらの非光化学消光が光照射後30秒以内に最大となることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光合成生物は、急激な光環境変化に対応するために非光化学消光を発達させた。近年、光化学系IIだけでなく光化学系Iにおいても非光化学消光が誘導されることが示された。しかし、光化学系Iにおける非光化学消光の機能や両光化学系における非光化学消光の関係性は不明のままであった。本研究では、光化学系Iにおける非光化学消光の寄与の大きさ、両光化学系における非光化学消光誘導の関係性を明らかにし、光合成における光エネルギー利用法をより明確にした。本研究から得られた知見は過酷な環境に耐え得る光合成生物の創生の足がかりになることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated light energy utilizations of photosystem I and II during regulatory mechanism (non-photochemical quenching) induction. By combining absolute fluorescence intensity measurements and time-resolved fluorescence measurements, we revealed that steady-state fluorescence intensity of photosystem I decreased by ~27% mainly due to the non-photochemical quenching with a ~550 ps lifetime, that of photosystem II dropped by ~43% mainly due to the non-photochemical quenching whose lifetime varies depending on intensity of cultivation light, and maximum non-photochemical quenching in photosystem I and II were induced within 30-s illumination.

研究分野：生物物理学

キーワード：光合成 非光化学消光 エネルギー移動 時間分解蛍光 緑色微細藻

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物や微細藻類といった光合成生物は、2種類の光化学系 (PSI と PSII) とその光増感剤として働く光捕集アンテナを持つ (図1)。それらの光合成装置に含まれる色素の量や種類の違いにより、両光化学系の分光特性が異なる。効率よく光合成を行うためには、両光化学系がバランス良く光励起される必要がある。自然環境では利用可能な光の量や波長が急激に変化するため、両光化学系の光励起バランスが崩れることが起こる。光合成生物は、このような急激に変化する光環境に順応して生き延びるために、光エネルギーを光合成に利用せず熱として散逸する制御機構 (非光化学消光) を発達させてきた。

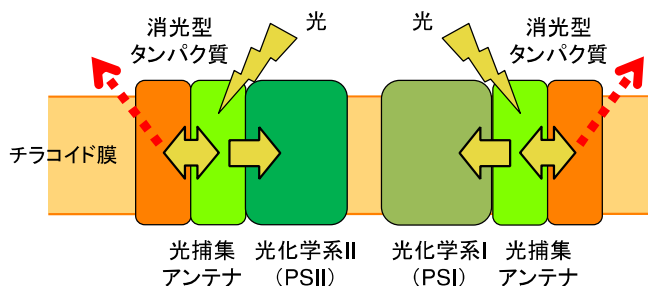


図1. 両光化学系における光捕集とエネルギー移動過程の概略図

非光化学消光の存在は50年以上前に認識され、これまでの様々な研究から消光型タンパク質がPSIIの光捕集アンテナに結合し非光化学消光を誘導する (図1、破線矢印) ことが明らかになった [Peers et al. 2009; Tokutsu and Minagawa, 2013]。一方、近年の生化学的手法の発展により、その消光型タンパク質がPSIにも結合することが示された [Allorent et al. 2013; Bergner et al. 2015]。このように、PSIIにおいてのみ誘導されると考えられていた非光化学消光がPSIにおいても誘導されるという結果が示された。しかし、以前としてPSIにおける非光化学消光の機能、両光化学系における非光化学消光の関係性、は不明のままであった。

2. 研究の目的

両光化学系における非光化学消光を検証し、光合成における光エネルギーの利用法を解明することを最終目的とした。そのために、(1) PSIIに選択的に作用する強度が一定の光 (定常光) と (2) PSIに選択的に作用する強度が周期的に変化する光 (変動光) [Tikkanen et al. 2012] で培養された細胞において、非光化学消光誘導時の両光化学系におけるエネルギー移動過程とその寄与の継時変化を検証した。

3. 研究の方法

本研究では、緑色微細藻クロレラ (*Chlorella variabilis*) 細胞を測定対象とした。(1) 一定強度 (標準光 (ML、 $30 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)、強光 (HL、 $300 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)、弱光 (LL、 $3 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)) で培養された細胞と (2) 強光と弱光に対応する強度を一定の周期 (強光/弱光 = 1秒/10秒 (FL1)、10秒/100秒 (FL2)、1分/10分 (FL3)、10分/100分 (FL4)) で変化させて培養された細胞を用意した。それらの細胞を30分暗順応させた後、光照射 ($500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) により非光化学消光を誘導させる。暗順応時と光照射後一定時間 (30秒、1分30秒、3分、5分) 毎に一部をガラスチューブに素早く移し、光照射しながら液体窒素で瞬間凍結した。各サンプルに関して、絶対蛍光強度スペクトルと時間分解蛍光スペクトルを測定した。さらに、非光化学消光誘導前後の全てのサンプルにおける時間分解蛍光スペクトルを共通の時定数を持つ寄与 (amplitude) が異なる指数関数の和で同時に解析 (グローバル解析) し、絶対蛍光強度スペクトル測定から得られた蛍光量子収率で規格化することで amplitude の絶対変化を評価した。

4. 研究成果

(1) 定常光に対する制御の検証

絶対蛍光強度スペクトルの結果から、ML、HL、LLに対応する光強度の定常光下で培養された細胞全てにおいて、光照射後30秒以内に非光化学消光が最大になることが明らかになった (図2)。さらに、非光化学消光誘導前の暗順応細胞と比較すると、非光化学消光誘導により、PSI 蛍光領域 (705–740 nm) の強度が $\sim 26\%$ 、PSII 蛍光領域 (680–705 nm) の強度が $\sim 42\%$ 減少することが明らかになった (図2)。また、非光化学誘導時の蛍光強度が阻害剤ジチオトレイトール (DDT) の有無で明白に変化しなかったことから、観測された非光化学消光へのキサントフィルサイクルの影響は小さいことが示唆された。時間分解蛍光スペクトルの解析結果から、PSI 蛍光領域において主に時定数 $\sim 550 \text{ ps}$ 以内で蛍光消光が起こり、PSII 蛍

光領域において、ML と LL 培養細胞では主に時定数 ~ 140 ps 以内で蛍光消光が起こることが明らかになったが、HL 培養細胞では主に時定数 ~ 45 ps 以内で光捕集アンテナにおいて速い蛍光消光が起こることが示唆された。

(2) 変動光に対する制御の検証

絶対蛍光強度スペクトルの結果から、4 種類の変動光 (FL 1、FL 2、FL 3、FL 4) 培養細胞全てにおいて、定常光 (ML、HL、LL) 培養細胞と同様に光照射後 30 秒以内に非光化学消光が最大になることが明らかになった (図 2)。さらに、非光化学消光誘導前の暗順応細胞と比較すると、非光化学消光誘導により、PSI 蛍光領域の強度が $\sim 28\%$ 、PSII 蛍光領域の強度が $\sim 43\%$ 減少することが明らかになった (図 2)。時間分解蛍光スペクトルの解析結果から、PSI 蛍光領域において主に時定数 ~ 560 ps 以内で、PSII 蛍光領域において主に時定数 ~ 140 ps 以内で蛍光消光が起こることが明らかになった。

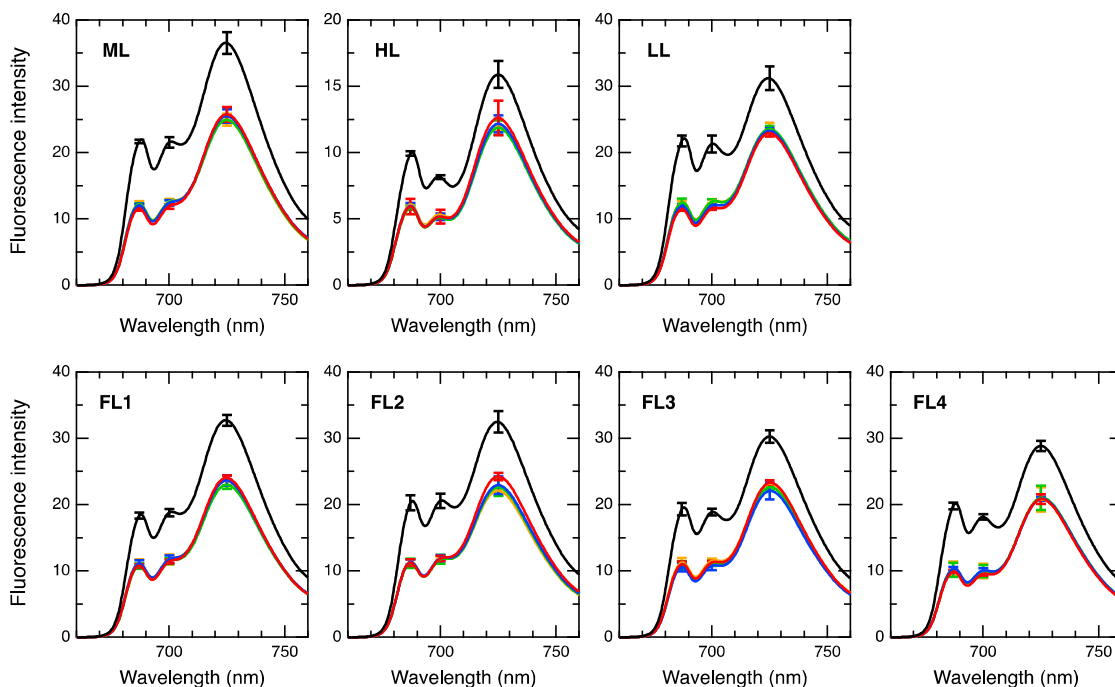


図 2. 異なる光条件で培養されたクロレラ細胞の絶対蛍光強度スペクトル
黒、赤、青、緑、黄色線は、それぞれ暗順応後、光照射後 30 秒後、光照射後 1 分 30 秒後、光照射後 3 分後、光照射後 5 分後の細胞の定常蛍光スペクトルを示す。

以上の結果から、定常光強度や変動光周期に関わらず、光照射後 30 秒以内という短時間で最大となる非光化学消光により、両光化学系における光エネルギー利用が素早く制御されることが示唆された。

< 参考文献 >

G. Peers et al., An ancient light-harvesting protein is critical for the regulation of algal photosynthesis. *Nature* **2009**, *462*, 518–521.

R. Tokutsu and J. Minagawa, Energy-dissipative supercomplex of photosystem II associated with LHCSR3 in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2013**, *110*, 10016–10021.

G. Allorent et al., A dual strategy to cope with high light in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell* **2013**, *25*, 545–557.

S.V. Bergner et al., STATE TRANSITION7-dependent phosphorylation is modulated by changing environmental conditions and its absence triggers remodeling of photosynthetic protein complexes. *Plant Physiol.* **2015**, *168*, 615–634.

M. Tikkanen et al., Regulation of the photosynthetic apparatus under fluctuating growth light. *Phil. Trans. R. Soc. B* **2012**, *367*, 3486–3493.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 植野嘉文、藍川晋平、秋本誠志
2. 発表標題 異なる光強度で培養された緑藻 <i>Chlorella variabilis</i> における光エネルギー調節機構に関する研究
3. 学会等名 光合成セミナー2021：反応中心と色素系の多様性
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 植野嘉文、藍川晋平、秋本誠志
2. 発表標題 異なる変動光条件に順化した緑藻 <i>Chlorella variabilis</i> における非光化学消光に伴う光捕集機能の制御
3. 学会等名 第63回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 植野嘉文、秋本誠志
2. 発表標題 蛍光分光法による微細藻の光エネルギー調節機構に関する研究
3. 学会等名 2020年web光化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 植野嘉文、藍川晋平、秋本誠志
2. 発表標題 異なる光強度に順化した緑色微細藻における非光化学消光に伴う光捕集機能の調節
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------