

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 16 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～ 2011

課題番号：21570041

研究課題名（和文） 強光順化での、葉緑体チラコイド膜プラストキノン酸化システムの分子メカニズム解明

研究課題名（英文） Elucidation of molecular mechanism of plastoquinone oxidation in acclimation to high light stress

研究代表者

三宅 親弘 (MIYAKE CHIKAHIRO)

神戸大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号：80294289

研究成果の概要（和文）：光合成電子伝達活性が、PSI 循環的電子伝達反応(CEF)の活性に与える影響を調べ、PSII の光障害は CEF 活性を活性化することを見出した。PSII 光障害は、プラストキノンの酸化をもたらし、CEF が機能するための電子伝達系の酸化還元レベルを酸化側へ増大させた。このことが CEF 誘導に至ったと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We researched the effect of photoinhibition of PSII on the activity of cyclic electron flow around PSI (CEF), and found that the inactivation of PSII activated CEF. Photoinhibition of PSII oxidized plastoquinone pool, which would be required for the expression of CEF activity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：植物分子生物・生理学

キーワード：植物・タンパク質・遺伝子・ストレス

1. 研究開始当初の背景

光化学系 I (PSI) 循環的電子伝達反応(CEF)は、光合成とともに機能している。高等植物生葉における CEF の活性は、光合成電子伝達反応において電子受容体である NADP⁺の再生反応が電子伝達反応速度を律速する条件下、発現する。一般に、生葉に照射される光強度の増大に伴い、葉緑体チラコイド膜光合成リニ

ア一電子伝達反応(LEF)の速度は増大し、その速度はやがて光飽和する。このとき、LEF が光飽和する一方で、光化学系 I の電子伝達活性が光飽和せず、光強度の増大とともに増加していく。この結果は、LEF の光飽和、つまり NADP⁺の再生効率の低下が CEF を誘導していることを示す。また、葉内 CO₂ 分圧の低

下は、PSI の量子収率の低下の程度よりも大きく、PSII の量子収率の低下を引き起こす。この結果は、低 CO₂ 分圧下、CEF 活性が発現していることを示す。

CEF の機能発現においては、フェレドキシンが重要な役割を担う。その電子伝達反応では、光化学系 I で光還元されたフェレドキシンが、CEF のメディエーターを介して、葉緑体チラコイド膜光合成電子伝達系での電子伝達体プラストキノン(PQ)へ電子を与える。光合成電子伝達反応において電子受容体である NADP⁺の再生反応が電子伝達反応速度を律速する条件下、還元型のフェレドキシンが蓄積する。その結果、CEF 活性が増大する。また、葉緑体にフェレドキシンが過剰に蓄積した葉緑体形質転換タバコの生葉は、野生型に比べて大きな CEF 活性を示す。この事実もまた、還元型フェレドキシンによる CEF 活性誘導の仮説を支持する。

現在、CEF のメディエーターの候補として、ferredoxin-quinone oxidoreductase (FQR)あるいは NADH dehydrogenase (NDH)が提唱されている。この電子伝達反応により、電子がシトクロム *b6/f* 複合体、プラストシアニンを経由して、光化学系 I の周囲をターン・オーバーする。このターン・オーバーは、チラコイド膜のストロマ側からルーメン側へのプロトンの取り込みを促進し、チラコイド膜を介したプロトン勾配(ΔpH)形成をもたらす。

生葉で観測される CEF の生理機能として、チラコイド膜 ΔpH 形成の誘導による ATP 生産および PSII での過剰な光エネルギーの熱散逸システム(HDP)の活性化が提唱されている。CEF により促進される ATP 生産は、光合成でのカルビン回路における ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP)再生に寄与することが期待される。C3-plants において、LEF での Q-cycle により駆動される ΔpH 形成のみ

では、光合成系を駆動させるための ATP 供給を満たすことはできない。光合成における ATP の要求度は、葉内 CO₂ 分圧が低下するほど大きくなることが予測される。上述したように、CEF-PSI の活性は葉内 CO₂ 分圧の低下とともに増大する。この事実は、CEF-PSI の提唱された役割を支持する。CEF-PSI による ATP 供給のその役割は、野生型において既に飽和していると考えられる。なぜなら、フェレドキシンが葉緑体に過剰発現されたタバコにおいて、光合成の促進は認められなかったから。

高等植物は、生育環境に応答して CEF 活性を調節する。弱光生育タバコと比べて、強光生育タバコ生葉は、大きな CEF 活性を示した。両者での CEF 活性の差は、低い葉内 CO₂ 分圧下さらに大きくなった。また、強光生育タバコは、弱光生育タバコと比べて大きな HDP の活性を示した。これは、強光生育条件下、タバコ生葉は過剰な光エネルギーによる光障害を抑制するために、大きな CEF 活性を要求することを示唆する。その結果、増大した CEF 活性は、HDP システムの誘導に大きく貢献する。CEF 活性の増大は、植物が乾燥ストレス条件下でも観測される。乾燥条件下では、気孔が閉鎖し、葉内 CO₂ 分圧が低下する。

2. 研究の目的

上述したように、CEF により形成されるチラコイド膜 ΔpH は光合成において重要な働きをしている。本研究では、我々は、チラコイド膜 ΔpH 形成においてメインに機能する LEF の活性が CEF の活性に与える影響を調べた。植物生葉が光障害を被ると、LEF の活性は低下する。このようなとき、葉緑体内代謝、特に光合成、を維持するためにチラコイド膜 ΔpH 形成の機能をもつ CEF の要求度は増大すると予想される。我々は、光障害による LEF

の活性の低下の程度は、PSI での電子伝達活性の低下の程度よりも大きいことを見出した。つまり、PSII の光障害は、CEF 活性を増大させた。

3. 研究の方法

葉緑体クロロフィル蛍光を用いた光合成電子伝達反応解析は Schreiber らの方法を用いた (Schreiber, Schliwa & Bilger 1986 Photosynth Res 10: 51-62)。

4. 研究成果

イネ生葉での光障害

葉緑体チラコイド膜光合成リニア電子伝達 (LEF) の活性を低下させるために、我々はイネの生葉を光処理した。ガス組成 0% CO₂、2% O₂ 分圧および葉温 25°C 下、種々の時間、イネの生葉が、光強度 2,000 μmol photons m⁻² s⁻¹ の光 (high light, HL) にさらされた。PSII の光障害の程度は、Fv/Fm の値として評価された。光照射時間の増加とともに、Fv/Fm の値は低下した。光処理 60 分後、Fv/Fm の値は光処理前の値の約 66% へ低下した。

Fv/Fm の低下として観測される PSII の光障害は、LEF の活性低下をもたらすことが期待される。光処理されたリーフディスクの光合成速度の光強度依存性が調べられた。光処理により、光合成での酸素発生速度の低下が認められた。

次に、チラコイド膜光化学系 II (PSII) の相対的な電子伝達活性 [Φ(PSII)xPFD] が光強度に対して調べられた。HL 処理での光強度依存性は、酸素発生速度の光強度依存性と同じであった。つまり、Φ(PSII)xPFD は生葉の酸素発生速度を反映すると考えられる。

これらの結果は、Fv/Fm の低下が光合成の光障害を反映することを示す。HL 処理は、光

合成速度の光強度依存性に対して、2 つの様相の変化をもたらした。40 分間の HL 処理された生葉の弱光領域の光合成速度はコントロールの生葉と比べて低下させた。一方、60 分間の HL 処理は、全光強度の範囲で、生葉の光合成速度をコントロールと比べて低下させた。これらの結果は、HL 処理による Fv/Fm の低下は、最初に光化学系 II の光捕集効率の低下を反映すること、その後にカルビンサイクルでの RuBP 再生効率を低下させることを示す。

PSII 光障害が PSI 電子伝達活性へ与える影響

次に、我々は、PSII 光障害が PSI の活性に与える影響を調べた。PSI の相対的な電子伝達活性 [Φ(PSI)xPFD] が光強度に対して調べられた。コントロール植物の生葉では、光強度の増大とともに、相対的な PSI 電子伝達活性が増大した。PSII の相対的な電子伝達活性と異なり、PSI の活性は光強度の増大に対して飽和しなかった。40 および 60 分間の HL 処理された生葉は、コントロール植物の生葉と比べて、小さな PSI の電子伝達活性を与える傾向を示した。しかしながら、その低下の程度はおよそ 10% であった。

P700⁺ 量の全 P700 量に対する割合の光強度依存性が調べられた。コントロール植物の生葉では、光強度の増大とともにその値は増加した。40 および 60 分間の HL 処理された生葉は、全光強度領域で、この割合が、コントロール生葉の値よりも大きく、P700 が酸化されていた。つまり、PSII の光障害の処理は、PSI の酸化還元レベルを酸化側にシフトさせることを示す。

光障害を被った生葉での PSII と PSI 電子伝達活性の関係

PSII 光障害が PSII 量子収率 (Φ(PSII)) と PSI

量子収率($\Phi(\text{PSI})$)の関係に与える影響が調べられた。 $\Phi(\text{PSI})$ の値は、 $\Phi(\text{PSII})$ の値よりも常に大きかった。また、光強度の増大とともに、 PSI および PSII の量子収率が低下した。そして、 PSII 低下の程度よりも PSI の低下の程度は小さかった。つまり、光強度の増大は、 CEF 活性を誘導していることを示す。これらの結果は、 CEF が機能していることを示している。

さらに、40 および 60 分間の HL 処理された生葉で、 $\Phi(\text{PSII})$ に対する $\Phi(\text{PSI})$ の値が調べられた。両生葉での $\Phi(\text{PSII})$ と $\Phi(\text{PSI})$ の関係は、コントロール植物の生葉での関係と一致した。これらの結果は、 PSII の光障害は、 $\Phi(\text{PSII})$ と $\Phi(\text{PSI})$ の関係を崩壊させないことを示す。つまり、同一の直線上にあるということは、 $\Phi(\text{PSII})$ の低下とともに、 $\Phi(\text{PSI})/\Phi(\text{PSII})$ の値が増大することを意味し、光障害を被った生葉では、 LEF に対する CEF 活性の値が増すことを示す。

我々は、本研究において、 PSII 光障害が $\Phi(\text{PSII})$ と $\Phi(\text{PSI})$ の関係を崩壊させないことを見出した。この事実を理解するためには、 CEF 活性発現モデルを考えなければならない。 CEF では、光化学系 I にて光還元されたフェレドキシン (Fd) が FQR を介してプラストキノンへ電子を与える、あるいは FNR により光還元された NADPH が NDH を介して PQ へ電子を与える。したがって、 CEF の活性は、酸化型の PQ の量および還元型の Fd あるいは NADPH の量に依存する。一般に、 CEF の活性は、生葉に照射される光強度が増大、あるいは葉内 CO_2 分圧が低下すると増大する。これらの状況下では、 PQ が還元され、酸化型の PQ の量は低下している。一方、還元型 Fd あるいは NADPH の量は増大している。したがって、これらの状況下で、 CEF 活性が増大する事実は、 CEF 活性発現にとって、

葉緑体チラコイド膜光合成電子伝達系光化学系 I 還元側のレドックス・レベルにより CEF 活性が制御されていることを示唆する。たとえば、葉緑体にフェレドキシンを過剰発現させたタバコでは、 PQ の酸化還元レベルは野生型と同じであるにもかかわらず、 CEF 活性は増大した。この事実も、上記のアイデアを指示する。

つぎに、 PSII が光障害を被った生葉での CEF 活性の維持を考察する。光障害を被った生葉では、 LEF の活性は低下していた。そして、光合成電子伝達系は酸化されていた。これらの結果は、光障害により LEF 活性低下は、 PQ の酸化をもたらすことを示唆する。したがって、光障害生葉での CEF 活性維持は、酸化型 PQ の量の増大によるものであろう。

PQ 酸化は、光化学系 II のさらなる光障害緩和に大きく貢献するであろう。 PSII の光障害緩和において、 PQ の酸化還元レベルが酸化側にシフトすることは、重要である。強光、乾燥、低温などのストレス環境下、光合成活性、 CO_2 固定能力、の低下は、光合成電子伝達系での電子の蓄積を引き起こす。その結果として、 PQ の還元レベルが増大し、光化学系 II 反応中心クロロフィル P680 の電荷分離が抑制され、光化学系 II で活性酸素である一重項酸素の生成が促進される。この一重項酸素は、 PSII 反応中心あるいは複合体タンパク質、膜脂質を酸化分解し、 PSII の機能を破壊する。このような状況は、 LEF の促進あるいは Fv/Fm の低下により解除される。葉緑体チラコイド膜において、電子受容体の濃度を制御することにより LEF 活性を促進させると、 PSII の光障害は抑制される。また、強光順化した植物では、 Fv/Fm が低下する、一方、光合成速度は維持されたままである。この順化植物では、プラストキノンが酸化されており、

非順化植物と比べると、PSIIの光障害に対して耐性を示す。したがって、植物生葉でPSIIが光障害によりFv/Fmを低下させることは、PQを酸化型に維持することにより、致命的なPSII機能損失を避けるための防御機構である。これは、PQ酸化システム(POS)の一つのメカニズムであり、その生理的役割である。そして、残存のLEFの活性と共に、維持されているCEF活性は、光障害を受けた生葉において葉緑体内代謝でのATP供給に貢献している。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計1件)

①Kubo, Masumura, Saito, Fukayama, Suzuki, Sugimoto, Makino, Amako, Miyake (2011) Cyclic electron flow around PSI functions in the photoinhibited rice leaves. Soil Sci Plant Nutri, 57: 105-113.

[その他]

<http://cmiyake.yukimizake.net/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三宅 親弘 (MIYAKE CHIKAHIRO)

神戸大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号：80294289