

TOPICS

乾燥環境下の地衣類が示す過剰光エネルギーの  
超高速散逸機構の発見

名古屋大学大学院理学研究科  
物質理学専攻 (物理系)

小村理行

1. 地衣類の光合成と乾燥耐性

1. 1 地衣類

地衣類は、菌類と藻類 (緑藻、シアノバクテリア) が共生し光合成によって生育する生物群の総称で、いわゆるコケ植物とは異なる。宿主である菌類は共生藻類が光合成で生産する糖を利用して生長し、藻類は菌類の提供する安定した環境で光合成を行うといわれている。地衣類の生息範囲は極地、高山、砂漠など、通常の生物にとって生存が困難な地域から市街地までと極めて広く、どこにでもいる馴染みの深い生物でもある。2 万種ともいわれる種が存在し、多様な形態をもつ。土壌、岩、木幹に固着し、1 年に数ミリから数センチという遅い速度で生長する。高等植物のような明確な器官分化はないが、子器や頭状体、偽根といった特徴的な形状を形成する種も多い。

地衣類の共生藻としては、緑藻では *Trebouxia*、*Coccomyxa*、*Stichococcus*、*Trentepohlia* など、シアノバクテリアでは *Nostoc* が知られている<sup>1)</sup>。菌体に共生する藻類の種類は基本的には一対一で対応すると言われているが、不明な点も多い。また、緑藻とシアノバクテリアがひとつの菌体に共生した地衣類も存在する。地衣類としての学名は菌体に対して付けられたものである。

1. 2 蛍光測定による乾燥ストレス応答の研究

多くの地衣類は他の光合成生物が生存困難な低温、高温乾燥環境下でも長期間の生存が可能で、高い耐凍、耐高温乾燥性をもつ。また、水分保持機構をもたないにも関わらず、短期間の乾燥、湿潤の繰り返しにも迅速に適応する<sup>2)</sup>。通常シアノバクテリアや藻類、植物は乾燥や凍結等により細胞内の水分含量が低下した状態で光を受けると、処理能力を超過した光エネルギー

(励起エネルギー) が光化学系 I、II に致命的な光阻害をもたらすことが知られている<sup>3-7)</sup>。しかし、乾燥環境下で地衣体に一定時間強光を照射しても光阻害は起こらず、その後の吸水により速やかに光合成機能を回復させる<sup>8-10)</sup>。このことから、地衣類は過剰な光エネルギーを無害化して光阻害を防ぐ独自の機構を発達させていると考えられてきた<sup>11)</sup>。

光合成系における光化学活性や励起エネルギー移動過程等を調べるには、クロロフィル蛍光の測定が有効である。乾燥地衣体では光化学系 II の定常蛍光強度が著しく低下し、強光照射による電子受容体キノン  $Q_A$  の還元も観測されない<sup>8, 9)</sup>。地衣体が水分を吸収すると、光化学系 II 蛍光が速やかに増加し、 $Q_A$  還元も再開する<sup>8, 12)</sup>。乾燥状態では光化学系 II の電子伝達系は停止し、かつ蛍光収率の低い状態にあり、吸水と同時に活性が回復してくると推測される。一方、光化学系 I は乾燥環境下でも電子伝達系の一部が機能していることが確かめられている<sup>12)</sup>。

乾燥環境下の地衣類で観測される光化学系 II に特異的な蛍光強度の低下は、光化学系 II のクロロフィルが吸収した光エネルギーが、最終的に熱エネルギーとして散逸していることを示唆している。過剰な光エネルギーを無害な熱に変換して光阻害を防ぐ機構が乾燥環境下の地衣類で発現していると推測し、その性質と発現メカニズムを明らかにするために、乾燥地衣体のピコ秒時間分解蛍光測定を行った。

2. ピコ秒時間分解蛍光測定法による超高速蛍光消光過程の発見

2. 1 極低温での乾燥・吸水地衣体の蛍光減衰過程の比較

ピコ秒時間分解蛍光測定は、短い時間幅のパルスレ

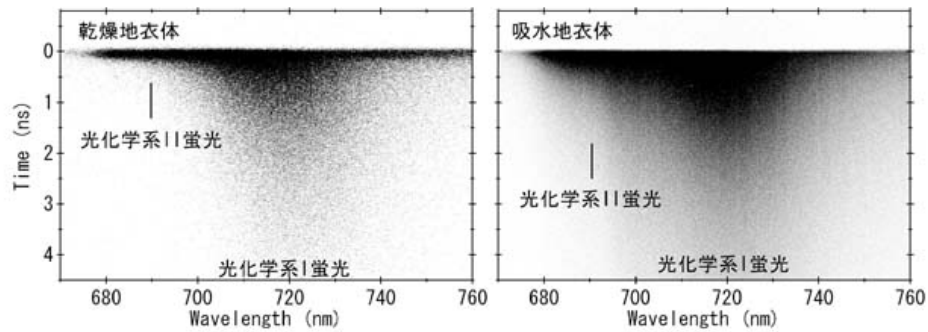


図1 乾燥地衣体 (左) と吸水地衣体 (右) の 77 K でのピコ秒時間分解蛍光測定  
横軸は波長 (nm)、縦軸は時間 (ns)。ゼロ時間でパルスレーザー (時間幅 150 fs) を照射した。励起波長は 440 nm。蛍光強度を色の濃淡で表している。

レーザーで励起したクロロフィル等の蛍光寿命を観測することで、光化学系内の励起エネルギー移動や初期電荷分離過程を調べる測定手法である。緑藻を共生藻とする地衣類メラノクラムカデゴケを対象に、Ti:Sapphireレーザーとストリークカメラによるピコ秒時間分解蛍光の多波長同時測定を行い、乾燥地衣体と吸水地衣体の光化学系IIの 77 Kでの励起エネルギー移動過程を比較した。その結果、乾燥地衣体では光化学系IIの蛍光が高速で消光されていることを発見した (図1)。これは、光化学系IIの励起状態が極めて短時間のうちに緩和されていることを示唆する。励起エネルギーを短時間で消去し、熱として散逸させる機構が乾燥地衣体に発現していることを示す、初めての直接的な証拠と考えられる。光化学系II蛍光の消光現象は高等植物でも観測されているが<sup>13, 14)</sup>、これほど高速な蛍光消光過程はこれまで報告がない。各波長での蛍光減衰曲線を定量的に解析し<sup>15)</sup>、77 Kでは光化学系II内の励起エネルギーは 40 ピコ秒 (1 ピコ秒は  $10^{-12}$ 秒) 程度で消光されていることを明らかにした。これは、地衣類が既知の機構 (キサントフィルサイクル) よりも遥かに強力な励起エネルギーの散逸機構を乾燥下で発現することを示唆する。乾燥地衣体で観測された光化学系IIの蛍光強度の大幅な低下は、この超高速蛍光消光過程 (=熱への散逸過程) によるものであると結論した。光化学系Iの蛍光減衰過程に大きな変化はなかった。

77 Kで観測された超高速蛍光消光現象についてより詳細に調べるため、さらに低温の 4 Kで測定を行った。4 Kでは光化学系内を移動する励起エネルギー移動がさらに遅延し観測が容易になる。4 Kでの測定から、光

化学系IIの周辺アンテナ (LHC II) からコアアンテナ (CP43, CP47) に流入した励起エネルギーがコアアンテナ内で消光していることを示唆する結果を得た (図2A)。キサントフィルサイクルによる光エネルギーの

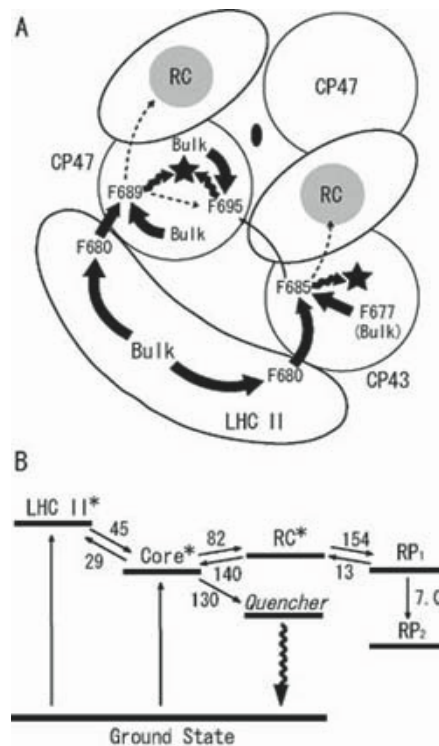


図2 乾燥地衣体の光化学系 II で推定された励起エネルギー移動と蛍光消光過程のモデル  
(A) 光化学系 II の各タンパク質サブユニットを移動する励起エネルギーと蛍光消光の経路の模式図。星印は蛍光を消光する分子 (Quencher) の推定位置。  
(B) シミュレーションで見積もった各状態間の遷移速度。LHC II\*、Core\*、RC\*は各タンパク質サブユニットの励起状態を表す。CP43、CP47の各励起状態をCore\*とみなした。RP<sub>1</sub>、RP<sub>2</sub>はそれぞれ初期、二次電荷分離状態を表す。数字は求められた遷移速度 ( $\text{ns}^{-1}$ )。

散逸過程はLHC IIで起こるとされている<sup>16,17)</sup>。従って、コアアンテナ内で消光が起こるとい推測から、既知の光エネルギーの散逸機構とは全く異なるメカニズムの蛍光消光過程が示唆される。

### 2. 2 室温での光エネルギー散逸速度の算出

極低温でのピコ秒時間分解蛍光測定により、乾燥地衣体の光化学系IIに特異的に起こる超高速の蛍光消光過程を発見し、その性質が既知の機構と大きく異なることが明らかになった。この地衣類独自の光エネルギー散逸機構が生理温度において光障害の防御にどの程度有効であるかを見積もるため、光化学系IIの室温でのピコ秒時間分解蛍光測定を行った。各波長での蛍光減衰曲線の解析から、室温では光化学系IIの蛍光が6ピコ秒と36ピコ秒の2つの時定数で消光していることがわかった。この蛍光消光過程を再現しうるモデルを、ハウレンソウの光化学系II蛍光の蛍光消光過程を元に構築し<sup>18)</sup>、シミュレーションを行った。その結果、励起エネルギーはコアアンテナ内で8ピコ秒以内に消光されていると見積もられた(図2B)。これは、高等植物のキサントフィルサイクルにおける光エネルギーの散逸過程と比較して約20倍も速い<sup>17)</sup>。光エネルギーの90%以上が最終的に熱として散逸することになり、地衣類のもつ光エネルギー散逸機構が乾燥環境下で光障害を防御する機構として有効に機能していることを示唆している。

### 2. 3 吸水による光合成機能の回復と熱散逸機構の解消

地衣類は吸水により速やかに光合成活性を回復させる。吸水による光化学系IIの電子伝達系の回復過程と蛍光強度変化を、パルス変調蛍光測定(PAM)と77K定常蛍光スペクトル変化で観測した(図3)。PAMはパルスの強光照射で起こる電子受容体キノンQ<sub>A</sub>の一時的な還元による蛍光強度の変化を検出し、光化学系IIの電子伝達活性を見積もることができる。乾燥地衣体の光化学系IIの電子伝達反応は吸水後30秒以内に再開し、光化学系IIの蛍光増加も観測された。吸水後に光エネルギー散逸機構が速やかに解消し電子伝達反応が再開していることがうかがえる。地衣類の光合成系が迅速に環境変化に対応していることを示唆している。

### 2. 4 異なる過剰光エネルギー散逸機構をもつ地衣類

メラנקラムカデゴケと同様に、緑藻を共生藻とするテリハヨロイゴケも乾燥時に光化学系IIの蛍光強度の減少を示す(図4A)。しかし、ピコ秒時間分解蛍光測定の結果、光化学系IIの高速蛍光消光過程は観測されなかった(図4C)。これは超高速の光エネルギー散逸機構を持たない種も存在することを示している。テリハヨロイゴケで観測された光化学系II蛍光の減少は、周辺アンテナであるLHC IIが光化学系IIのコア複合体から脱離し、光化学系IIのアンテナサイズが縮小した結果ではないかと考えられる<sup>19)</sup>。アンテナサイズを小さくすることで、光化学系IIへの過剰な光エネルギーの流入を抑制していると推測される。一方、シアノバクテリアを共生藻とするモミジツメゴケで同様の測定

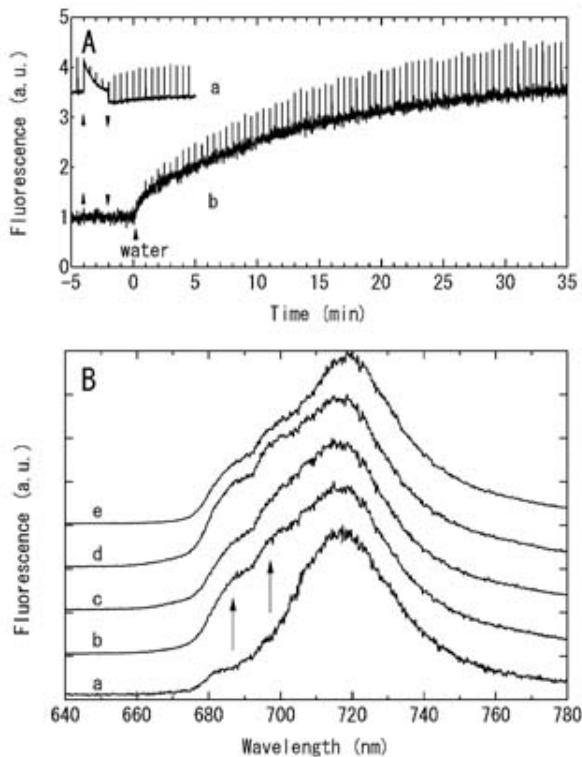


図3 吸水後の地衣体の蛍光の時間変化  
 (A) パルス変調蛍光測定(PAM)。実線 a は吸水後十分に時間の経過した地衣体における PAM の結果。30 秒ごとに 50 μs 間強光を照射した。矢印は定常光をオン/オフした時間を表す。実線 b は乾燥地衣体の吸水後の時間変化。ゼロ時間で水を添加した。  
 (B) 77 K での定常蛍光スペクトルの変化。励起は 440 nm。実線 a は乾燥地衣体の蛍光スペクトル。以下、実線 b、c、d、e はそれぞれ吸水後 30 秒、1 分、10 分、30 分経過後に急速凍結して測定した蛍光スペクトル。矢印は光化学系 II の蛍光バンドを示す。

を行ったところ、光化学系II蛍光の高速消光過程が観測された。また、シアノバクテリアの補助アンテナであるフィコビリンの蛍光も高速に消光された(図4D)。シアノバクテリアの場合、フィコビルンから光化学系IIへの励起エネルギーの流入をも抑制することで光化学系IIの光阻害を二重に防ぐメカニズムが存在すると考えられる。

### 3. これからの展望: 多種の地衣類測定により広がる多様性

乾燥地衣類で発現する強力な光エネルギー散逸機構の存在は、地衣類の耐乾燥性を向上させる要因のひとつであると考えられる。しかし、超高速の光エネルギー散逸機構が全ての地衣類に備わっているわけではないこともわかってきた。現在、地衣類約50種を採取して順次測定を行っており、そのうち2割程度は超高速の光エネルギー散逸機構を示さないことが明らかになりつつある。詳細な解析を進めていくことで、さらに

別のタイプの光阻害防御機構が発見される可能性もある。また、乾燥耐性の高いシアノバクテリアやコケ植物単独でも、乾燥時に光化学系II蛍光の減少を示すものがあることが知られている<sup>20, 21)</sup>。地衣類で発見された超高速な過剰光エネルギーの散逸機構は、地衣類にとどまらず、さらに多くの生物で機能している可能性がある。

一方、超高速光エネルギー散逸機構の物理的なメカニズムの解明はこれからである。30秒程度で光合成活性が回復する事から、基本的には物理的な発現機構であり、これがどのような生体内の構造や性質と関連しているか興味深い。分光測定だけでなく、分子生物学的手法など多角的なアプローチを行って研究を進めたい。光合成の研究対象としてこれまであまり注目されてこなかった地衣類で発見された新しい環境応答機構の発見は、多様な光合成の姿と、生物の無限の可能性を我々に教えてくれる。

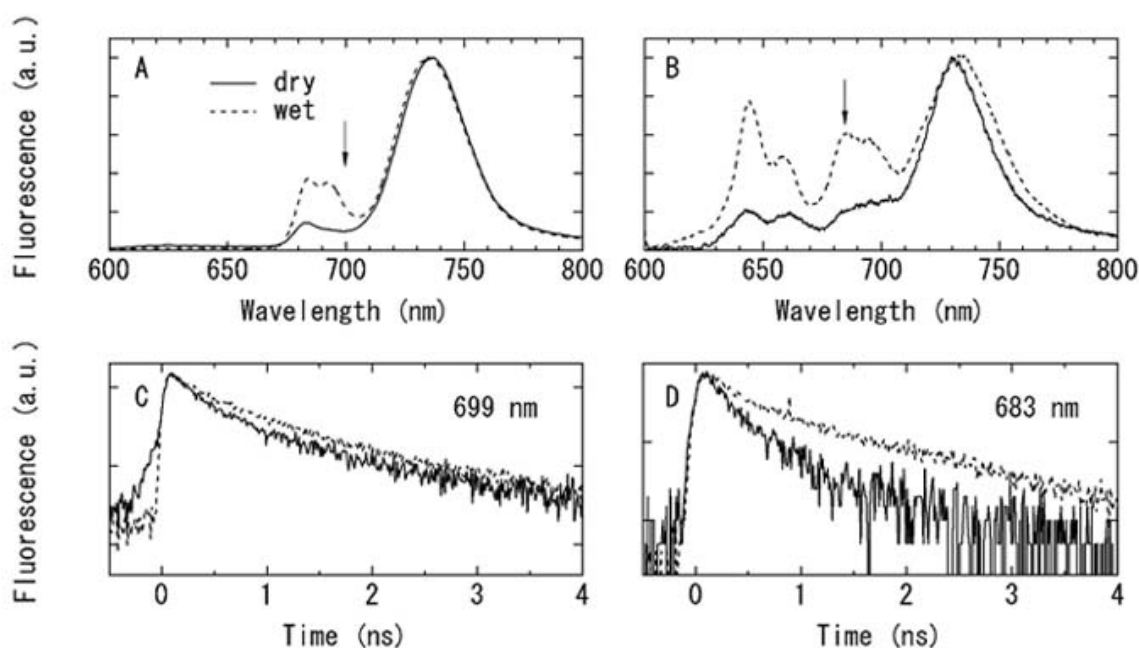


図4 テリハヨロイゴケとモミジツメゴケの定常蛍光およびピコ秒時間分解蛍光測定

- (A) テリハヨロイゴケの乾燥地衣体と吸水地衣体の定常蛍光スペクトルの比較。励起波長は440 nm。矢印はCの減衰曲線の波長を示す。
- (B) モミジツメゴケの乾燥地衣体と吸水地衣体の定常蛍光スペクトルの比較。励起波長は570 nm。矢印はDの減衰曲線の波長を示す。
- (C) テリハヨロイゴケのピコ秒時間分解蛍光測定で得られた699 nmの減衰曲線の比較。励起波長は440 nm。主に光化学系IIの蛍光減衰を表す。
- (D) モミジツメゴケのピコ秒時間分解蛍光測定で得られた683 nmの減衰曲線の比較。励起波長は630 nm。主にフィコビリンの蛍光減衰を表す。

参考文献

1. Palmqvist, K. (2000) *New Phytol.* 148, 11.
2. Barták, M., Gloser, J., and Hájek, J. (2005) *Lichenologist* 37, 433.
3. Barber, J., and Andersson, B. (1992) *Trends Biochem. Sci.* 17, 61.
4. Smirnov, N. (1993) *New Phytol.* 125, 27.
5. Sonoike, K. (1996) *Plant Cell Physiol.* 37, 239.
6. Niyogi, K. K. (1999) *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50, 333.
7. Shuvalov, V., and Heber, U. (2003) *Chem. Phys.* 294, 227.
8. Kopecky, J., Azarkovich, M., Pfündel, E. E., Shuvalov, V. A., and Heber, U. (2005) *Plant Biol.* 7, 156.
9. Heber, U., and Shuvalov, V. A. (2005) *Photosyn. Res.* 84, 85.
10. Heber, U., Bilger, W., and Shuvalov, V. A. (2006) *J. Exp. Bot.* 57, 2993.
11. Heber, U., Lange, O. L., and Shuvalov, V. A. (2006) *J. Exp. Bot.* 57, 1211.
12. Bukhov, N. G., Govindachary, S., Egorova, E. A., and Carpentier, R. (2004) *Planta* 219, 110.
13. Gilmore, A. M., Shinkarev, V. P., Hazlett, T. L., and Govindjee (1998) *Biochemistry* 37, 13582.
14. Richter, M., Goss, R., Wagner, B., and Holzwarth, A. R. (1999) *Biochemistry* 38, 12718.
15. Komura, M., Shibata, Y., and Itoh, S. (2006) *Biochim. Biophys. Acta* 1757, 1657.
16. Holt, N. E., Fleming, G. R., and Niyogi, K. K. (2004) *Biochemistry* 43, 8281.
17. Holt, N. E., Zigmantas, D., Valkunas, L., Li, X. P., Niyogi, K. K., and Fleming, G. R. (2005) *Science* 307, 433.
18. Broess, K., Trinkunas, G., van der Weij-de Wit, C. D., Dekker, J. P., van Hoek, A., and van Amerongen, H. (2006) *Biophys. J.* 91, 3776.
19. Takahashi, H., Iwai, M., Takahashi, Y., and Minagawa, J. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 477.
20. Satoh, K., Hirai, M., Nishio, J., Yamaji, T., Kashino, Y., and Koike, H. (2002) *Plant Cell Physiol.* 43, 170.
21. Ohad, I., Nevo, R., Brumfeld, V., Reich, Z., Tsur, T., Yair, M., and Kaplan, A. (2005) *Photochem. Photobiol. Sci.* 4, 977.