# 光合成研究

## 第 34 巻 第 1 号 (通巻 98 号) 2024 年 4 月 Vol. 34 NO. 1 April 2024

JOURNAL OF THE JAPANESE SOCIETY OF PHOTOSYNTHESIS RESEARCH

解説 葉緑体定位運動研究の歴史と今後の研究課題 杉山 太一(東京大)	
研究紹介 ブラシノステロイドと光に制御される新規因子 BPG4 による葉緑体恒常性維持機	
立花 諒 他(京都大)	
研究紹介 エチオプラスト内膜系における酸性脂質の役割 吉原 晶子 他(大阪公立大)	
解説特集 「多様な時間スケールから見る光合成生物」	38
<b>序文</b> 藤田 祐一、山本 治樹(名古屋大)	39
解説 単一分子分光を用いた揺らぎ解析手法で探る光合成光反応系の動的な挙動	
近藤 徹(自然科学研究機構	) 40
解説 緊縮応答による時間スケールの葉緑体代謝・植物の生長制御	
根本 岳忠、増田 真二(東京工業大	) 54
解説 宇宙生物学的視点から捉える光合成生物と地球の共進化 松尾 太郎 他(名古屋大)	
<b>表紙の紹介</b> 光合成水分解・酸素発生反応の機構を映画のコマ送りのように見る	
次に対している。 沈 建仁、菅 倫寛 (岡山大)	75
報告記事 若手の会特別企画:若手研究者のキャリアパスレポート!	75
	76
西村健司(関西学院大)	76
報告記事 Taiwan-Japan Joint Seminar on Photosynthesis Research 2023 開催報告	
今泉 滉 (京都大)	79
報告記事 Taiwan-Japan Joint Seminar on Photosynthesis Research 2023 に参加して	
小川由(岡山大)	81
報告記事 光合成学会 若手の会 第28回セミナー開催報告 吉原 晶子 (大阪公立大)	82
報告記事 光合成学会 若手の会 第28回セミナーに参加して 立花 諒 (京都大)	83
集会案内 第14回日本光合成学会年会と第2回アジア・オセアニア国際光合成会議の合同開	催
広瀬 侑(豊橋技術科学大)	84
集会案内 第31回光合成セミナー2024: 反応中心と色素系の多様性 大岡 宏造(大阪大)	85
集会案内 第12回光合成および水素エネルギー国際会議 鞆 達也(東京理科大)	86
事務局からのお知らせ	87
日本光合成学会会員入会申込書	88
日本光合成学会会則	89
「光合成研究」投稿規定	91
7 = 7 77 7 7 7 7 E - 1	_
幹事会名簿 短集後記、記事尊集	92
編集後記・記事募集	94
「光合成研究」編集委員・日本光合成学会 2024 年度役員	95
替助法人会員広告	

### 解説

## 葉緑体定位運動研究の歴史と今後の研究課題

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻植物生態学 (現·東京工業大学·科学技術創成研究院·化学生命科学研究所) 杉山 太一

現在では多くのオルガネラが、細胞骨格による細胞の能動的な作用によってその配置を変化させること(定位運動)が知られており、これらの定位運動は各オルガネラの生理機能の達成に寄与すると考えられる。植物細胞がもつ葉緑体は一般に光エネルギーを利用した物質代謝と炭酸同化すなわち光合成を担う。その定位運動は一次植物に限らず二次植物をも含む広い生物種で、機能的観点から統一的な原理に基づく考察が可能な現象として研究者の興味を集めてきた。まずこれまでの葉緑体定位運動の研究について古典的な研究を紹介し用語の整理をしたのち、その後の葉緑体定位運動の研究の経緯をたどり、最後に今後の葉緑体定位運動の研究に残されているいくつかの重要な課題を指摘する。

#### ■葉緑体定位運動研究のはじめ ― 用語の整理

葉緑体の光照射依存的定位運動は、Böhm (1856) が記述したのが最初である1。この論文は葉緑素 が膜に覆われた顆粒の中に存在することを主張 したもので、葉緑体の存在が認識され始めた当初 からその定位運動は注目されていたといえよう。 この観察は誘導型 CAM 植物である Sedum (ベン ケイソウ科)でおこなわれ、暗所で細胞表面の原 形質に均等に配置していた葉緑体が、光照射によ り凝集したという。Böhm はこの光応答の作用ス ペクトルを調べようとしたがうまくいかなかっ たらしい。Sedum の葉緑体は以下に述べるような 光集合/逃避反応2のほか、長時間の光照射、また は ABA 処理により CAM 植物に特徴的な凝集 clumping を示す ³ ことも知られており、Böhm が いずれの定位運動を観察したのかは図もないた め明らかではない。

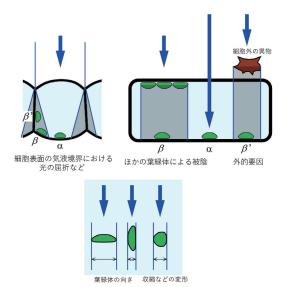
陸上植物の顆粒状葉緑体の一般的な光定位運動である集合/逃避反応の最初の報告は、Borodin (1868) <sup>4</sup>や Frank (1871, 1872) <sup>5,6</sup> (光集合反応)、Stahl (1880) <sup>7</sup>、Moore (1888) <sup>8</sup> (光逃避反応)である。これらの研究では、細胞間隙による光の乱

反射を無視して、光照射方向に垂直な細胞表面に ある葉緑体はより受光しやすく、平行な細胞表面 では受光しにくいという、単純化したモデルに よって葉緑体の位置が考察された(図1)。実際、 単純な同化組織を持つ植物では、組織の扁平な面 に垂直な方向から光照射するとき、組織外に露出 した細胞表面(上面位: Epistrophe)と、隣接細胞 のある細胞表面(隣接壁位: Apostrophe)という 解剖学的な位置の区別が、受光しやすさに対応す る。そこで光集合反応は上面位、暗期や光逃避反 応では隣接壁位に葉緑体が配置されると記述さ れた <sup>6,8</sup>。 一方で Haberlandt (1886) <sup>9</sup> は柵状組織や 海綿状組織など複雑な組織では、光照射方向に関 わらず葉緑体が上面位をとることを指摘した。 Stahl (1880) はヒザオリのリボン状の葉緑体の光 照射方向依存的な回転運動も報告した<sup>7</sup>。この扁 平な葉緑体はフィルターで遮光した太陽光では 照射方向と垂直に配向(平面姿勢: Flächenstellung) して受光量が増え、一方で直達太陽光など強い光 には照射方向と平行に配向 (側面姿勢: Profilstellung) して受光量が減る。Stahl はこの観 察を顆粒状の葉緑体にも一般化して、光定位運動

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: sugiyama.t.as@m.titech.ac.jp

における葉緑体の受光量と光照射方向の重要性を示した(図 1)。またヒンジモの 2 細胞層の組織において光逃避反応による葉緑体定位を、暗所位 Dunkelstellung である隣接壁位と明確に区別した 7。葉緑体定位運動を引き起こす要因として光が注目を集めたが、低温 <sup>2,10,11</sup>、葉緑体のデンプン顆粒の蓄積 <sup>2,12</sup> や組織の傷害 6 などの効果も観察された。Frank(1872)はカナダモやセキショウモにおいて強光照射や高温条件、組織の傷害が活発な原形質流動を誘起し、これによって葉緑体が運ばれる現象 Rotation についても記載している 6。

これらの研究をうけて Senn (1908) <sup>2</sup> の葉緑体 定位運動の詳細なモノグラフがドイツ語で著された。Senn は植物の組織形態を、糸状細胞 (フシナシミドロ型)、レンズ状細胞 (ヒカリモ型)、球形の単細胞 (Eremosphaera 型)、細胞層状の組織 (ヒョウタンゴケ型)、柵状組織、海綿状組織 (基本組織)の6タイプと、また特異な葉緑体の形態からヒザオリを1タイプとして分類しそれぞれ個別の葉緑体配置を形態的に類型化した。また環境刺激として光波長と強度、温度、化学物質、



葉緑体の射影面積の増減

#### 図 1. 葉緑体の受光量に影響する要因

相対的にαの位置はβ,β'の位置より光強度が大きい。光集合/逃避反応はこのような光強度の差にしたがって葉緑体が移動すると考えられている。受光量は葉緑体の占める領域の照射光に垂直な面への射影面積によっても変化する。受光量=光量子密度×射影面積である。

重力、葉緑体のデンプンの蓄積などの効果につい て、Senn 自身の観察も加えてまとめた。多くの植 物で光定位運動の有効刺激が青色光(ときに赤色 光も)であるらしいこと、低温によって光逃避反 応の起きる光量の閾値が下がること、CO2によっ て葉緑体の走化的運動<sup>†a</sup> が起きるらしいことを 新しく報告した。一般的な顆粒状の葉緑体は細胞 内の光強度の違いに応じて定位していて、Stahl の光照射方向への応答だというヒザオリの葉緑 体定位は例外的なのだと考察した。また当時、 Frank (1872) などが観察した活発な原形質流動を 示す細胞の移流運動による葉緑体定位運動が注 目を集めていたが、これに対して Senn は一般的 な葉緑体運動 normal Verlagerung の移動方向が周 囲の原形質流動の方向と必ずしも一致しないこ とを観察し、葉緑体の能動的な作用による定位運 動の可能性を提示した(図2)。Senn は自身が観 察した多様な組織の定位運動を表現するため多 数の新造語を使用した 2。とくにそれまで Apostrophe と表現されていた光逃避反応による 葉緑体配置を細胞内の光強度分布を考慮した側 面位 Parastrophe として新しく区別した。さいわ いなことに片岡 13 によって日本語の対訳が出版 されており、ここではその対訳といくつかの重要 な用語を模式図とともに示す(図3) \*b。

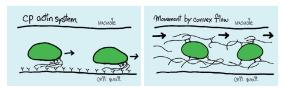
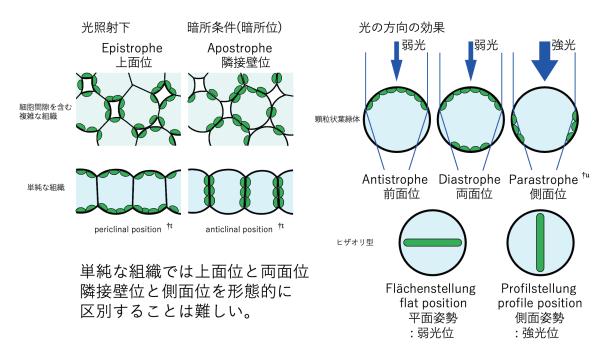


図 2. 葉緑体定位運動の運動の様式

左図:一般的な運動 Normal Verlagerung。原形質流動が活発でない植物も含め一般的に原形質流動に非依存な葉緑体のゆっくりとした移動が観察される。このような運動は cp-アクチンなどにより引き起こされると考えられる。

右図:原形質流動による移流運動。原形質流動 が活発な植物では葉緑体が周囲の流体である 原形質の運動により移流運動を示す。



#### 図 3. Senn による葉緑体配置を示す用語

図で示した以外に、周辺位: Peristrophe、焦点位: Escharostrophe、周核位: Systrophe が区別される。

Senn ののち葉緑体定位運動の研究はしばらく 停滞した<sup>†y</sup>が、1950 年代以降は Jagiellońskiego 大 学の Zurzcki、Gabryś ら、Erlangen 大学の Haupt、 Seitz ら、Marburg 大学の Schönbohm、また大阪大 学の永井、高木ら、東京都立大学の和田らによっ て研究が進められ、2000 年代以降には遺伝学の 発展に伴って和田、末次(現・東京大学)、児玉 (現・宇都宮大学)らにより多くの葉緑体定位運 動関連遺伝子も同定されてきた。

### 定位運動という用語について

日本語の(葉緑体の)定位運動という用語は、 顆粒状の葉緑体だけでなく、リボン状の葉緑体な どの運動、原形質流動による Rotation のような移 流運動(dinesis/advective movement)も含めた現 象を指す。Senn(1908)はこれに Lageveränderung (造語、直訳では position alteration / repositioning となろう)を当て、顆粒状の葉緑体の運動に Verlagerung(translocation / relocation)、リボン状 の葉緑体の回転運動には Orientierung (orientation) をもちいた<sup>2</sup>。それぞれ英訳されて研究者によっ ては使い分けているが、表現を統一すべきだとい う意見もある。取り敢えず総括すると、まず最も 簡単なのは movement で Moore (1880) 8 などから 使われている。これは動きそのものに重点を置いた表現で、最終的な葉緑体配置の機能についてまで議論するときに使いづらい。葉緑体配置も考慮にいれた用語として Zurzycki らは、顆粒状とリボン状の葉緑体ともに rearrangement、顆粒状の葉緑体のみに redistribution / translocation を使っている。 Haupt (1990) は rearrangement が顆粒状の葉緑体であることを含意するようだとして、リボン状の葉緑体の回転運動を併せて言及するときはre-orientation movement \*c を使うことを提唱した14。この意見をうけ 2000 年頃には reorientation に表現を統一する風潮があった。英語の relocationを葉緑体定位運動の研究でもちいたのは和田ら15 が最初のようで、顆粒状の葉緑体の運動に使われている。

筆者は必ずしも表現を統一しなくてもよいという意見で、単語の意味を考慮すると顆粒状とリボン状の両方の葉緑体の定位運動に言及するときは reorientation より rearrangement を使うのが適切だろうと考えている。

## ■葉緑体定位運動研究の動向光定位運動の責任光受容体

光定位運動は、光刺激の受容、シグナルの伝達、 駆動力の発生という3ステップに切り分けるこ とができる16。最初のステップで働く光受容体は、 一般に光を吸収する性質を持ち、何らかの色素で ある。そこで、この色素を分光学的に特定するた め、光刺激の作用スペクトルを決定することが研 究課題となった。光定位運動について最初に定量 的な光量子効率を示した作用スペクトルは、 Voerkel (1934) がヒョウタンゴケの葉で青(と緑) 色光が光集合/逃避反応、また紫外線が逃避反応 に有効であることを示したものであろう <sup>17,†d</sup>。 Zurzycka (1951) <sup>18</sup> と Zurzycki (1962) <sup>19</sup>がヒンジ モ葉肉細胞、Schönbohm (1963) が強光によるヒ ザオリの側面姿勢 <sup>20</sup>、Mayer (1964) がイワヒバ 属 Selaginella の葉表皮細胞 21 においてそれぞれ 作用スペクトルを報告し、多くの植物の光定位運 動は近紫外光から青色光が有効刺激であること が明らかになってきた。そして作用スペクトルの 形状、フラビン発色団のクエンチャーである KI やアジ化ナトリウムによる阻害効果<sup>22,23,†e</sup>などか ら、フラビン発色団を持つ光受容体 PB-NUV の関与 が予想された。一方で、ヒザオリの弱光による平 面姿勢は赤色光でも誘導され、近赤外光の照射に より誘導が打ち消されること(赤・近赤外光可逆 性)から、フィトクロムが責任光受容体であると 予想された<sup>24, †f</sup>。

シロイヌナズナの葉緑体定位運動は Trojan & Gabryś (1996) による栽培光条件と光集合/逃避反 応の切り替えの研究が最初の報告で、青色光依存 性と赤色光非依存性がしめされた<sup>25,†z</sup>。シロイヌ ナズナの PB-NUV 遺伝子は HY4 (クリプトクロム 1) <sup>26</sup> と NPHI (フォトトロピン1) <sup>27</sup> が報告さ れていた。葉の光透過率変化を利用した変異体ス クリーニングにより、NPH1 のパラログである NPL1 (フォトトロピン2) が強光逃避の責任遺伝 子として同定された <sup>28,29</sup>。続いて *NPLI* と *NPHI* の二重変異体の逆遺伝学的解析により光集合反 応の光受容体としてフォトトロピン1、2が冗長 的に働くことがしめされた30。多くの植物でフォ トトロピン遺伝子は重複するが、シロイヌナズナ のフォトトロピン1、2と相同な遺伝子重複は種 子植物に限られるようだ 31。フォトトロピンは、

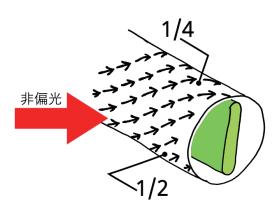
N末端側にLOVドメインを2つ持ち、そのドメ イン内のシステイン残基にフラビンモノヌクレ オチド FMN が光依存的に一過的に共有結合する フラビンタンパク質である。C 末端に光依存的に 活性化するセリン/スレオニンキナーゼドメイン を持ち<sup>32</sup>、このキナーゼ活性が光集合 <sup>33</sup>/逃避 <sup>34</sup> 反 応ともに必要である。フォトトロピン1の脱リン 酸化標的として知られ、光屈性や葉の扁平化に関 わる NPH3/RPT2-like ファミリー<sup>35</sup>の逆遺伝学的 解析から、葉緑体光集合反応の必要因子として NCH1/RPT2 が同定された <sup>36, †g</sup>。RPT2 はフォトト ロピン 1 の自己リン酸化による活性化を阻害す る一方、フォトトロピン2の自己リン酸化には影 響しない 37。光逃避反応に関わるフォトトロピン の標的は未知である。蛍光標識したフォトトロピ ン1、2の細胞内局在の差は明瞭ではないが、細 胞画分ではフォトトロピン 2 の方がフォトトロ ピン1に比べ葉緑体画分に多く含まれ、葉緑体表 面への結合性が強いと考えられる38。シロイヌナ ズナの紫外線光受容体である UBR839 は紫外線依 存的な葉緑体定位運動に寄与せず、フォトトロピ ン1、2が関与する40。

一般的な葉緑体の光定位運動の有効刺激は青 色光だが、ヒザオリの弱光位は赤色光が有効で、 それ以外の植物の光定位運動でもしばしば赤色 光の効果が報告されてきた。ヒンジモ19やシロイ ヌナズナ 41 は赤色光により原形質の流動性が高 まり (photokinesis)、とくにシロイヌナズナにお いて細胞の一部への青色光の照射(スポット光) による光定位運動では、細胞全体への赤色光同時 照射が必要である41。セキショウモの表皮42やホ ウライシダの前葉体 <sup>43</sup>、弱赤色光下で栽培したヒ メツリガネゴケ 44,45 などは、赤色光依存的な葉緑 体の定位運動を示し、ヒメツリガネゴケは赤色光 による定位運動における偏光の作用二色性が報 告されている。オオセキショウモの赤色光依存的 定位運動は DCMU 感受性で同時に赤・近赤外光 可逆性を示し、光合成依存かつフィトクロム依存 であると考えられている46-48。ホウライシダでは 赤色光依存定位運動の変異体から、フィトクロム とフォトトロピンのキメラタンパク質であるネ オクロム (PHY3/NEO) が責任的な光受容体とし

て同定された 49。ネオクロム相同遺伝子はウラボシ目に分布し 49、同様のキメラ光受容体はヒザオリ 50、ツノゴケ類 31. th からも発見された。一方ヒメツリガネゴケではこのようなキメラタンパク質が発見されず、逆遺伝学的に赤色光依存の光定位運動にフィトクロムが関わることがしめされ51、フォトトロピンとの直接相互作用も必要なことが明らかとなってきた52。

Haupt はヒザオリのリボン状の葉緑体の定位 運動について、顆粒状の葉緑体の定位運動と統一 的に理解するために、葉緑体の受光量という機能 的な観点に基づいて、弱光位/応答(low intensity arrangement / low fluence rate response)と強光位/ 応答(high intensity arrangement / high fluence rate response)という概念を提案した 53,54。これら定位 運動は分子メカニズムの側面からの一般化は難 しいようだが、ともあれ Haupt らはヒザオリの葉 緑体回転運動の偏光の作用(作用二色性 dichroism)の観察から、その光受容のメカニズム を推定した。ヒザオリの細胞では光受容体分子が 細胞表面に結合し規則的に配向することで作用 二色性を生じる。この作用二色性により、光受容 体は単純に細胞内の光強度の差に応じて不均一 に活性化するのではなく、光照射方向に応じても不均一に活性化する。そのため葉緑体は光照射方向依存的に回転すると推定された(図 4)53。 ヒザオリの細胞が水中にあるとき細胞表面で気液境界による光屈折が起きず、細胞内の光強度はかなり均一なので、光強度でなく光照射方向を感知するメカニズムは合理的である14。しかし光定位運動における作用二色性は水生の植物に限らず、多くの陸生の陸上植物でも観察される(図 5)21,55,1 tw。

フィトクロムは発色団としてフィトクロモビリンを持つ光受容体で、一般的に赤色光吸収型 Prと 遠赤色光吸収型 Pfe とが相互に変換して赤・近赤外光可逆的な活性を示す 56, ff。ネオクロムはフォトトロピンの N 末端にフィトクロムの光受容ドメインが連結したキメラタンパク質であり、赤・近赤外光可逆性と弱い青・近赤外光可逆性の活性を示す 32,57。フィトクロムは細胞質中に遊離していると考えられ、葉緑体定位運動の赤色光応答が作用二色性を持つことは疑問に思われていたが、細胞膜局在性のあるフォトトロピンと相互作用



#### 図 4. ヒザオリの光照射方向の感知

矢印(→)のように光受容体が配向し作用二色性にしたがって活性化する。赤色光で光受容体が活性化した位置から逃げるように葉緑体の縁が係留され、扁平な葉緑体は照射光と垂直に定位する。数字は同光強度の直線偏光の振動面と光受容体の最大光吸収軸が一致したときの活性化を1とした相対値。文献 53 を参考に作成。

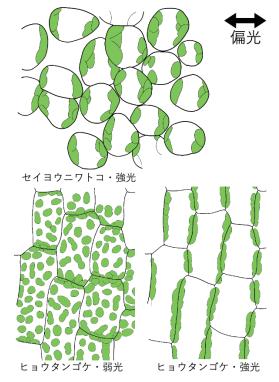


図 5. **陸上植物の偏光作用二色性** 文献 55 を参考に作成。

したり、キメラタンパク質となることで細胞膜局 在が可能になるものと推察された 58。ホウライシ ダのネオクロムは、フォトトロピンの膜局在に必 要なプロリン残基 59 を保存していないが、GFP 標 識タンパク質をシロイヌナズナで発現すると、細 胞膜への局在もみられる 60。

#### 光定位運動の細胞内シグナル

葉緑体光定位運動のシグナル伝達と運動の駆動 力の発生メカニズムは複雑な過程であり、多くの 研究があるもののいまだ不明な点が多い。重要な 知見として、光集合反応を引き起こすシグナルは 遠隔的に作用する 21,61。これは顕微鏡下でサブ細 胞サイズ領域にスポット光を照射する実験に よって明らかとなり、葉緑体自体が光照射されな くても光集合反応が起きる<sup>†v</sup>。すなわち葉緑体は 純粋に細胞質の作用に依って移動できる。この遠 隔性の集合反応シグナルは 0.5~2.5 μm・min<sup>-1</sup> の 速さで伝播し(ホウライシダ<sup>62</sup>、シロイヌナズナ 62、ゼニゴケ 63) 、伝播速度に温度依存性がある 64。一方、光逃避反応はスポット光照射領域内で のみ観察され、外に出た葉緑体は停止する61。 フォトトロピン誘導性の細胞内シグナルとして Ca<sup>2+</sup>シグナルは重要で、葉緑体定位運動への関与 (総説として Banaś et al. (2012)65) も検証されて いる。薬理学的解析によりヒンジモの光定位運動 は、細胞膜 Ca<sup>2+</sup>チャネルのブロッカーである La<sup>3+</sup> に非感受性、小胞体からの Ca<sup>2+</sup>放出の阻害剤であ るカフェインや Thapsigargin に感受性、またカル モジュリン阻害剤の trifluoperazine に感受性であ ることなどが報告されている 66,67。 ホウライシダ やヒメツリガネゴケの光定位運動は La<sup>3+</sup>非感受 性だが、接触刺激の反応は La<sup>3+</sup>感受性であること が知られている 68-70。Ca<sup>2+</sup>シグナルは光定位運動 に関与するようだが、一般的細胞内 Ca<sup>2+</sup>波の伝播 が数~数十μm·s-1オーダーなので、Ca<sup>2+</sup>シグナル が光集合反応の遠隔性シグナルの実体である可 能性は否定的に考えられている 71。

葉緑体の光定位運動にはフォトトロピンのキナーゼ活性が必要なことから、リン酸化シグナルの関与も考えられる。リン酸化シグナルの重要なシグナル因子であるホスホイノシチド PIPs に関

して、ヒンジモ 72 やシロイヌナズナ 73 の光定位 運動は、PIPs 合成に関わるホスファチジルイノシ トールキナーゼ PIPK の阻害剤 Wortmannin に感 受性がある。シロイヌナズナのフォトトロピン変 異体での薬理学的実験から、フォトトロピン2依 存的な光定位運動は、ホスホリパーゼ C の阻害 剤 U73122 と、PI(4,5)P2に結合してシグナル伝達 を阻害する neomycin に感受性であるため、おも に PI(4,5)P<sub>2</sub> を経由する PI(4)P シグナルに依存す ると考えられる。一方、フォトトロピン1依存的 な光定位運動は neomycin 非感受性で、U73122 の 感受性も低いことから、おもに PI(3)P シグナル に依存すると考えられている(図9)<sup>73</sup>。PIPsの 機能分化の生理学的な意義については明らかで はないが、葉緑体膜で PI(4)P が優占し <sup>74</sup>、また フォトトロピン2の葉緑体結合性が強い 38 こと と、フォトトロピン2の作用が主に PI(4)P に依 存することの間に対応関係があるようでもある。 PIPs シグナルは細胞性粘菌や動物の培養細胞で、 リン酸化カスケードによる正のフィードバック 制御により細胞膜内濃度勾配を作り、アメーバ運 動における仮足の形成などに細胞内の位置情報 シグナルとして関わる 75。PIPs が定位運動に関わ るタンパク質の足場として必要なのか、光刺激依 存的な位置情報を担うのか未知であるが、光集合 反応において PIPs の濃度勾配が遠隔性のシグナ ルの分子実体である可能性もあるだろう。

### 運動の駆動メカニズムと関連遺伝子

当初、葉緑体定位運動の駆動力は生物物理学的な考察により、カナダモの場合のような明らかに原形質流動による移流運動でなくても、局所的な原形質流動と、原形質表層部への葉緑体の固着度viscosityの変化によって説明できるのではないかと考えられていた76。ここでいう固着度というのは遠心力をかけたときに葉緑体が遠心端に落ちる程度を表した指標であり一般的な粘性とは異なる(図 6)。Virgin (1951)はオオカナダモを暗所から明所にうつすと、葉緑体の固着度は光定位運動に先行して、暗所や弱光では小さく、中強度光で大きく、強光で小さくなることを報告し、中強度光での固着度が大きくなることは光集合

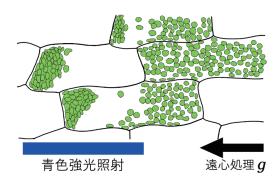


図 6. オオカナダモの固着度の観察の例

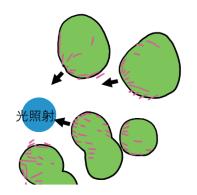
図左半分に青色強光を照射した後遠心処理すると照射領域の葉緑体のみ遠心端に落下する。文献76を参考に作成。

反応に対応すると考えられた 76。Zurzycki (1960) はヒンジモの葉緑体が移動するとき一過的に固着度が減少する現象を発見した 77.†i。 Sakai & Takagi (2005) によればオオセキショウモの青色光による強光逃避では、葉緑体の固着度は上面位で30分にわたって減少し続けるのに対し、側面位では一過的に減少したあと再び増加する。この固着度の傾向は各種阻害剤によって変化したが、固着度と葉緑体定位運動の間に関連が見出されなかった 78。このことから葉緑体の固着度の変化は定位運動に必要な可能性があるが、十分条件ではないといえる。

一方で、陸上植物では細胞骨格重合阻害剤をも ちいた細胞生理学的研究により、葉緑体定位運動 はアクチン繊維に依存することが知られていた 70,79,80,†j。 そこで定位運動発生時のアクチン繊維の 構造に興味が持たれた。アクチン結合タンパク質 にGFP標識を導入したシロイヌナズナで、スポッ ト光照射による光定位運動時のアクチン繊維の 観察がおこなわれた。光定位運動をしめさない変 異体 chup1 (chloroplast unusual positioning 1) と比 較して、野生型植物のみで葉緑体表面に結合した 短いアクチン繊維の束 chloroplast-actin filaments (cp-アクチン)が、光集合/逃避反応ともに進行 方向前方に偏った配置をすることが発見された (図 7) 81。同変異体の責任遺伝子がコードする CHUP1 タンパク質は in vitro でアクチン繊維の重 合核になるらしい 82,83。葉緑体の進行前後方向の cp-アクチン標識の蛍光強度の差が移動速度の増 減に対応関係があり 84,tk、繊維の方向ベクトルの

和が移動方向ベクトルにおよそ対応する 85。この ことから、cp-アクチンの関わる分子装置がおも に葉緑体定位運動の駆動力を発生していると考 えられる。Senn が提示した葉緑体が能動的に動 くのかという疑問は、葉緑体定位運動はカナダモ などで観察される Rotation のような移流運動な のかという疑問に端を発したものであった。その 意味で cp - アクチンの関わる運動装置の発見に よって、葉緑体定位運動が単なる移流運動に限ら ないことが明らかになったといえる<sup>†</sup>。cp-アクチ ンはシロイヌナズナのほかタバコ 86、ホウライシ ダ<sup>87</sup>、ヒメツリガネゴケ<sup>88</sup>で観察されている。機 能欠損型ミオシンを発現するネガティブドミナ ントな遺伝子組換えシロイヌナズナの観察によ り、葉緑体定位運動ではモーター分子としてミオ シンが関与しないことが示唆されている8%。この ことから cp-アクチンの関わる分子装置は、ミオ シンに依存しない何らかの運動駆動力を発生す るメカニズムを構成していると期待される。

葉緑体の光定位運動では葉の光透過率変化を利用した遺伝学的スクリーニングにより、多数の機能欠損/低下型の変異体が単離されている。これらの変異体の責任遺伝子は機能未知のものが多く、現在も解析が進められている。これらの遺伝子について内容が各論的で多岐にわたるため本稿では割愛することとし、総説として末次&和田(2013)58、Suetsugu, Higa & Wada(2017)90を参考にされたい。とくに最近、これらの遺伝子の中でシグナル伝達分子であることが予想されていた PLASMID MOVEMENT IMPAIREDI(PMII)91が、青色強光をスポット照射する実験でフォトト



**図 7.** ホウライシダ前葉体の cp-アクチン 文献 87 を参考に作成

ロピン (おもにフォトトロピン 2) 依存的に光照射領域からなくなることが報告された 86。このとき PMI1 は分解などの作用を受けず拡散的な作用に依って細胞内を移動したということ tm、この移動はアクチン繊維の重合阻害の影響を受けないこと、また光逃避反応に先立って移動することが明らかとなった 86。これまで光集合反応において拡散性の因子の存在が想定されてきたが、光逃避反応について先に拡散性の因子が見つかったといえる。

#### 葉緑体の CO2 定位運動と C4 植物の凝集的運動

ここまで葉緑体の光定位運動について詳しく解説してきた。本節は光以外の光合成活性の重要な決定因子として CO2 の影響について述べる。葉緑体定位運動に対する CO2 の影響として、Senn (1908) はヒョウタンゴケの CO2 走化的定位運動を発見したほか、高濃度 (20%v/v) の CO2が麻酔的に作用すること、数日間 CO2 除去して栽培した植物の暗所位が異常になることを報告した。一方で CO2 の関与が期待されていた柵状組織の葉緑体の上面位では CO2 除去の効果をみとめることはできなかった 2。Mosebach (1958) によればヒザオリの葉緑体の平面姿勢と側面姿勢を示す光強度の閾値は、普通培地よりも炭酸除去した培地中で高くなる 22。炭酸除去条件で葉緑体の受光量がかえって大きくなるような定位運動

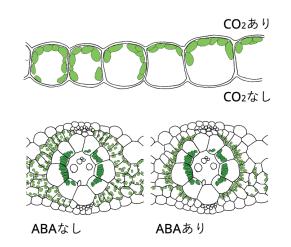


図 8. ヒメツリガネゴケの CO<sub>2</sub> 定位運動 (上) とシコクビエの ABA による凝集的運動 (下) 文献 94,96 を参考に作成

なので、機能的な意味はよくわからない。Walczac & Gabryś(1980)はハカタカラクサの葉をもちいて、強光による光透過率の増加が CO2 により抑制されることを報告したが、顕微鏡観察による葉緑体定位運動は報告しなかった 93. fm。Sugiyama & Terashima(2023)はヒメツリガネゴケの葉をもちいて、Senn(1908)の実験系を改良し葉緑体の CO2 走化的定位運動を観察した(図8上)。青色光照射下では CO2 走化的運動が DCMU 非感受性なのに対し、赤色光照射下では CO2 走化的運動は DCMU 感受性であった。また白色光条件で栽培したヒメツリガネゴケの葉も CO2 依存的に赤色光依存的な定位運動を示した 94。関与する要因(光、CO2、光合成活性)間の依存関係に、気孔開閉応答との類似性が認められ興味深い。

C4植物においては、とくに維管束鞘細胞の葉緑 体が C4 光合成のサブタイプや系統によって特徴 的な求心/遠心的な葉緑体配置を示す 95。維管束 鞘細胞の葉緑体が環境応答性をしめさず特定の 配置を取るのに対し、葉肉細胞の葉緑体は強光や 光照射下での塩、乾燥、ABA 刺激によって維管 東鞘細胞側への求心的な葉緑体定位運動 aggregative movement (凝集的運動)を示す (図 8 下) 96,97。この定位運動はシコクビエにおいて青 色光依存的に CO<sub>2</sub> 除去によっても誘導されるこ とが最近報告された 98。 凝集的運動における葉緑 体定位運動の位置シグナルは不明だが、ストレス 環境下では維管束鞘からの CO<sub>2</sub> の漏れが相対的 に増大すると考えられる9ので、この定位運動は CO<sub>2</sub>の再捕捉に寄与すると期待される。C<sub>4</sub>光合成 についての CO2 の 3 次元拡散モデルによるシ ミュレーションでは、凝集的運動が強光条件での 光合成に寄与することがしめされている 100。

#### 光合成と葉緑体定位運動の関係

葉緑体定位運動研究の当初から、とくに光定位 運動は光合成の効率化に寄与するものと仮定し て研究が進められてきているが、この仮定は定性 的な議論にとどまらずきちんと実証、定量的に評 価されるべきものである。Zurzycki(1955)<sup>101</sup> は 比較的単純な組織の植物でキャピラリーをもち いたガス交換測定をおこない、光集合反応によっ

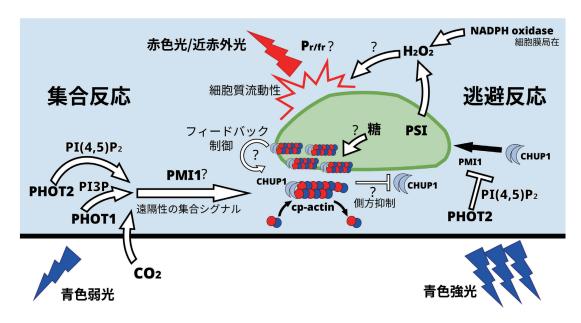
て葉緑体の位置が変化するとき光合成速度が増 加すること、光定位運動をしめさないアオミドロ では同様の光条件の変化に依って光合成速度が 変化しないことを示した。また光合成の飽和光条 件で弱光位から強光位に変化するとき光合成速 度は変化しなかった。これらのことから光集合反 応は光合成活性の増大に寄与すると結論された 101, †0。光逃避反応が葉緑体を光傷害から保護する ことはシロイヌナズナの葉緑体定位運動変異体 をもちいて確かめられた 102,103。 細胞間隙を含む 多層の複雑な葉では光定位運動が葉内の光強度 分布を変化させるために、一概に光集合/逃避反 応による葉全体の光合成活性の増減への効果を 予想するのは難しい 104 が、シロイヌナズナでは 葉緑体の光集合反応のみ示す変異体の成長量が 特定の栽培条件で大きくなることも報告されて いる105。

葉緑体が細胞間隙に面した細胞表面に配置する上面位は CO2 コンダクタンスの増大に寄与する。 CO2 の拡散は細胞内と比べてと空気中で速い (水中と空気中でおよそ 10<sup>4</sup>倍の差がある) から、明条件下の光合成組織中では CO2 はおもに細胞間隙を移動し、細胞間隙に面した位置の葉緑体は CO2 が供給されやすい 106。葉緑体が上面位にある度合いの定量化には、細胞間隙に面する部分の葉緑体の面積の積算を単位葉面積あたりで表した Sc がもちいられ 107、いろいろな Sc を示すシロイヌナズナの葉緑体定位運動変異体の比較によれば、CO2 の葉肉コンダクタンスは Sc に比例する 108。

野外植物の光定位運動は、Williams et al. (2003) の葉の光透過率を経時的に計測した報告がある。 朝夕の時間帯は葉の光透過率が低下し(弱光応答)、昼の Sunfleck が起きる時間帯には 1 回 Sunfleck を経験するとその後で光透過率が増加 (強光応答)したまましばらく維持される挙動や、また午後は強光逃避優勢な傾向を示す植物が多い \*\*、観察された植物の中でキクイモは夜間に光透過率が上がっていき翌朝をむかえるが、これが強光適応的なのか何らかのアーティファクトなのか不明である 109。多くの植物は暗期に特徴的な葉緑体の配置 (暗所位)を示すので、キクイモ

の暗所位は検討を要する。一般に陽生植物は陰生植物に比べ定位運動による光透過率の変化が小さい <sup>110</sup>。これは陽生植物では柵状組織が発達して葉面積あたりの葉緑体が増える <sup>111</sup> とともに、細胞面積あたりの葉緑体密度も高く移動する余地がないためと考えられる <sup>112</sup>。植物種や生育環境によって葉緑体定位運動の光合成への寄与も異なるだろうから、今後そうした多様性に着目した定位運動の機能解析が期待される。

葉緑体定位運動が光合成に与える影響に対して、 逆に光合成活性が葉緑体定位運動に与える フィードバック的な影響もまた興味深い研究課 題である。ヒザオリの定位運動の駆動力となる ATP の由来が薬理学的に検証され、弱光位への 移動は短時間の光照射時には酸化的リン酸化反 応 113、長時間の光照射では光リン酸化反応、また 強光位への移動では光リン酸化反応により供給 された ATP が駆動力になると考えられている 114。 オオセキショウモの赤色光依存的な上面位は DCMU 感受性があり、光合成依存だと考えられ ている46。ホウライシダのネオクロム欠損変異体 も DCMU 感受性の赤色光依存的な上面位を示す が、この定位運動はかなり遅い。この変異体はス クロースやグルコース依存的な遅い上面位も示 す 115 が、すでに糖が十分にある状態で上面位を 示す意味はよくわかっていない。シロイヌナズナ では 1~2 日間のスクロースやグルコース処理に より青色光による集合/逃避反応の反応性がとも に低下する 116、これはデンプン粒が蓄積すると 葉緑体の定位運動は起きにくくなる2ことを観察 したものと推察される<sup>†p</sup>。また H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 処理により 光集合/逃避反応の応答がともに速くなり、光逃 避反応をより増強する 117。これは細胞質の流動 性を高める効果に起因するようであり、機能的に は急な環境ストレスに対し葉緑体を光傷害から 保護する役割があるかもしれない(図9)。緑色 光が光逃避反応を抑制することも報告されてお り、キサントフィルサイクルの関与が推察されて いる 118。ヒンジモにおいてもキサントフィルサ イクルの関与が薬理学的に示唆されたことがあ る 119 が、今後さらなる検証を要するだろう。葉 緑体定位運動が光合成活性の影響を受けるとき



### 図9. まとめ

に、それが運動駆動力の ATP 供給源として重要なのか、制御シグナルとして重要なのかという点に注意して解釈する必要がある。定位運動が光合成依存的な制御を受けるとして、その制御が再帰的に光合成の効率化に寄与することを示した例はまだない。

葉緑体定位運動と光合成研究に関連して、実験手法の技術的な問題を一つ指摘する。葉緑体定位運動はクロロフィル蛍光測定による光合成評価に影響する 120。これは葉緑体の配置が変わると自己被陰等によってクロロフィル蛍光の量子収率が変化するのが原因で、集合/逃避反応ではPAM法のFm'を過大/過小に評価してしまう。解決法としては照射光に光定位運動の誘導性がない波長の光(一般的には赤色光)を使うこと、測定光や検出蛍光に組織透過性のよい波長の光を使うこと、補正式の利用などがある 121。

### ■今後の葉緑体定位運動研究の展望

近年、葉緑体定位運動の研究は、光や CO2 以外の環境刺激として低温条件 <sup>11</sup>、病害応答 <sup>122</sup>、季節変化 <sup>123</sup>、藻類の概日運動 <sup>124,125</sup>、オルガネラ間の相互作用 <sup>126</sup> についても進んでおり、各論文を参照されたい。葉緑体定位運動は幾何/力学的に複雑で、一般的には遺伝子の発現変動を伴わず因果関係の遺伝学的な推定も難しいため、今後の研究

課題も多い。本稿では葉緑体定位運動の研究内容だけでなく経緯も紹介し、そこに通底する問題意識までも読者と共有できたと期待する。最後に重要性が高い未解決な課題を挙げ結びとする。

#### 光集合反応における拡散性シグナルの同定

光集合反応では遠隔的なシグナルの存在が仮定されている。今のところ、この分子的実体は未知であり光定位運動研究の大きな課題となっている。シグナルの伝播速度から、膜電位変化や Ca²+シグナルではないと考えられている <sup>71</sup>。 PMI1 は拡散性のシグナルであることが期待されているが、いまのところ逃避反応において拡散性の因子として働くことのみが明らかとなっている <sup>86</sup>。光照射による広範なアクチン繊維の再編成や、PIPsの濃度勾配なども遠隔性の因子の候補かもしれない。

### 葉緑体定位運動における運動機構の解明

cp-アクチンの関わる分子装置は、ミオシンが関与しないとすれば、既知のモータータンパク質を含まないと考えられる。このため駆動力を生み出す分子動力学的なメカニズムが重要な研究課題となる。構成分子の幾何学的な配置、モーター活性を担う部位の特定と、駆動力発生の分子シミュレーションが課題である。定性的には CHUP1 タ

ンパク質を核として cp-アクチンが形成されるときに押し出す力が駆動力であるというモデルが提唱されている 85。ここで問題になっているのが、この分子装置が観察時の化学固定等に対し不安定な構造らしいということである 85。観察法の改良案として、クライオ電子顕微鏡や凍結割断法の利用、分子生物学的には光アフィニティラベルによる構造の安定化などが考えられる。運動機構の解明に加えて定位運動と原形質の流動性の関係性も結論をみていない課題である。

## 光集合反応と逃避反応の応答の切り替え

### — 偏差的に cp - アクチンが形成される仕組み

葉緑体の光定位運動は、集合/逃避反応という 2 相的な応答を示す<sup>†q</sup>。これまでに集合反応でのみ表現型を示す変異体 *jac 1*<sup>127</sup> や *rpt2nch1*<sup>36</sup> もあるが、2 相性との関連は未知である<sup>†r</sup>。定位運動の進行方向は cp-アクチンの偏差的な形成により決定されるようなので、この制御の逆転が 2 相的な応答を引き起こしているはずである。細胞性粘菌などの化学走性では、フィードバック制御による自己組織化によって偏差的に細胞骨格が形成される。 cp-アクチンでも同様のフィードバック制御が類推でき(図 9)、2 相的応答の原理はこの制御系の解明によって理解が進むと期待される。強光照射開始時に逃避反応が始まる前の、光照射領域での一過的 cp-アクチンの消失 <sup>81</sup> は cp-アクチンの自己組織化と関係があるかもしれない。

#### 暗所位の分子機構と生態学的意義の解明

多くの植物は暗期に特徴的な葉緑体配置(暗所位)を示し、それは隣接壁位が多い。シロイヌナズナ<sup>127</sup>、ホウライシダ<sup>128</sup>、ゼニゴケ<sup>129</sup>の暗所位はフォトトロピンが関与するが、詳しい分子機構は不明で進化的相同性も議論の必要がある。暗所位の機能として細胞間の物質輸送(転流?)<sup>9</sup> や、明期開始直後の光防御への寄与が考えられるが、議論した論文も少なく、実証的研究が待たれる。

#### 陸上植物における偏光作用二色性の意義

Haupt は水生植物における作用二色性の生理的 意義を示唆したが <sup>14</sup>、作用二色性は陸生の植物で も広く観察されている(図 5) 55。一見、水中に 比べ陸上では作用二色性は必要ないようにも推 察される。複雑な組織での上面位や柵状組織で前 面位を占める葉緑体が少ないことなどに関連す ると想像されるが検討を要する \*w。

#### 光源が太陽光や林床光の場合の定位運動の挙動

近年、葉緑体定位運動の研究は多くの場合、単色光源をもちいて進められているが、野外植物の定位運動の挙動が、単色光の実験結果の組み合わせによって説明できるのかあまり議論されていない。色々なスペクトルの光源のデータが充実することで、進化生態学的な評価が可能となるだろう。

#### 葉緑体集団としての簡易な定式化と評価

定位運動の動態は、個々の葉緑体の移動速度などが報告されているが、実際は葉緑体集団の性質 (葉緑体密度など)も運動を制約する要因となる 112,130。顕微鏡観察では、葉緑体同士の運動の制約によるだろうと考えられる動き始めのタイムラグなどがよくみられる。Schramme et al. (2023)はオオカナダモの葉で、集団としての葉緑体運動を統計力学的に解析し、このようなタイムラグなどをよく説明している 131。 同論文内で提示された統計モデルは、解剖学的観察から葉緑体定位運動の有無や速さを推定するモデルとして今後の研究に適用可能\*で、野外植物の葉緑体定位運動の評価・解釈が進むと期待できる。

#### 注釈

†a:誘引されるものが細胞ではないので "走化性 chemotaxis" を使えない。この区別のため "走化的 chemotactic" 運動と呼んでいる。Haupt<sup>53</sup> は directional(有方向的な)運動を含意するとして tactic movement の使用にも否定的だが、現在では cp-アクチンが発見されていることもあり、tactic movement は使用してもよいだろうと考えられる。

†b: ここまで挙げた内容は多くがドイツ語で書かれた文献によるため敷居が高いが、最近は Google 翻訳などでかなりよく翻訳できるようになっているので、一度、ドイツ語の原文も当たってみられることをおすすめしたい。PDF文章は余計な改行を多数含むので、適当なテキストエディタで改行を

スペースに一括置換した後で機械翻訳にかけるとうまく翻訳される。古い雑誌のPDFは版元からではなく、博物館などの資料電子化プロジェクトなどで公開されている場合も多い。

†c: Haupt はヒザオリの葉緑体に適した用語として提案し、 用語統一の要請から顆粒状の葉緑体の定位運動についても reorientation をもちいた(Haupt は cp-アクチンの発見以前は 顆粒状、リボン状とも原形質流動等の統一的なメカニズムで 定位運動を説明できると考えていたので、積極的に用語統一 しようとした。)。結局、reorientation はニュアンスとしては 顆粒状の葉緑体の移動を表すのにはあまりそぐわないよう で、Haupt 自身も場面によって rearrangement、redistribution と 使い分けている。

†d: 詳細な作用スペクトルはのちに Zurzycki (1967)<sup>132</sup> が報告した。

†e: 筆者の所感では KI の阻害効果はあまり強くない。アジ 化ナトリウムの阻害効果は強いがフォトトロピン (後述) の フラビン色素に作用した効果ではない可能性が高い。

†f: どちらかというと赤・近赤外光可逆性がある反応の光受容体を、フィトクロムと呼んだということのようだ。

†g:シロイヌナズナでは 2 遺伝子のパラログが冗長に働くがゼニゴケではカノニカルな1遺伝子を持つ%。

†h: Li et al. (2014)<sup>31</sup> にあるようにツノゴケ類では光依存的に葉緑体が収縮するという。筆者もモデル植物の Anthoceros agrestis Oxford strain やアナナシツノゴケで観察したところ、光依存的に葉緑体のストロミュール状の構造が収縮したりするが、細胞内配置は変化しないようだ。ところで最近ツノゴケの葉緑体数が少ないのは葉緑体分裂装置の遺伝子の喪失による、二次的な形質らしいことがゲノム解析から指摘された <sup>133</sup>。

†i:遠心処理による固着度とは別に、顕微鏡観察による画像解析で、原形質や葉緑体の移動度や流動性の変化が報告されている。オオセキショウモでは赤色光照射により一過的な移動度の上昇 <sup>41</sup> が知られており、遠心処理で解析した固着度との対応関係があるかもしれない。

†j: 色々な種類があるが Wash-out 実験が可能なことは重要なポイントで、微小管重合阻害剤ではオリザリンやプロピザミド、アクチン繊維重合阻害剤ではラトルンクリンBやサイトカラシンDなどが生理活性を回復しやすい。責任的な細胞骨格の例外としてヒメツリガネゴケの葉緑体定位運動はアクチン繊維と微小管の両方に依存し、とくに赤色光依存の光

定位運動と接触刺激による集合反応は微小管のみに依存する。このときアクチン繊維依存の運動よりも微小管依存の運動のほうが速い <sup>70</sup>。最近ではシロイヌナズナの強光逃避反応の速度はオリザリン感受性があり微小管が関与するという報告がある <sup>134</sup>。

†k:前後方向のcp-アクチンの量比ratioが速度に相関すると 書かれている<sup>84</sup>が、cp-アクチンのベクトル和によって移動方 向が決定されるらしい<sup>85</sup>ことを鑑みると、比ではなく差が適 当だと推察される。

†1:一方、*chup1* 変異体の葉緑体は原形質流動によるはげしい移流運動を示す。

†m: いわゆる拡散というより、光照射に依って液胞 - 細胞膜間の原形質の厚さが薄くなったことにより、そこに含まれている PMII シグナルの検出される位置も移動した、というような印象を受けた。

†n:筆者はツユクサ科の植物の単離細胞が実際に CO<sub>2</sub> 依存的に葉緑体の運動を示すことを観察している。本誌前号(第33巻第2号)の裏表紙写真も参照されたい。

†o: この結論は種間比較によるので慎重に解釈する必要がある。

†p: Banaś & Gabryś はこれを糖シグナリングに関連させて 考察した <sup>116</sup>が、実際にシロイヌナズナの葉を含糖培地におい ておくと、葉緑体にデンプン粒が蓄積して葉緑体の形状も変 化したりするので、幾何/力学的な性質の変化が原因かもしれ ない

†q: フォトトロピン1は集合反応のみを誘導するので2相の光受容体は同じではないが、応答の2相性において光受容体の分化は必ずしも本質的問題ではない。フォトトロピン2のみに注目すると集合/逃避反応の両方を誘導すること、フォトトロピン1もごく強光で一過的に逃避反応を誘導することと135、基部陸上植物であるゼニゴケはフォトトロピンを1遺伝子しか持たないこと90などに注意するべきである。

†r:変異体から2相性を研究するなら、片方の相の欠損ではなく、集合/逃避反応の転換する光強度が変化する変異体などを取得したい。

†s: 具体的には平均葉緑体中心間距離を、Schramme *et al.* (2023) 内のモデル式[2]中の変数  $\sigma$  に充てることで適用できる

†t:単純な組織では Epistrophe の位置と periclinal position、 Apostrophe の位置と anticlinal position が対応する。一方、多 細胞層で細胞間隙を含む組織では対応せず、一般性はない。 †u: Moore (1888) は光逃避による側面位のことを positive apostrophe、暗所位による隣接壁位を negative apostrophe と呼んだ <sup>8</sup>。

†v: 光集合反応のシグナル伝達では他に、シグナルの残存 効果も重要な特性で、光照射後に暗所に移してもしばらく、 葉緑体が光集合反応様の運動を示す。この光刺激の残存効果 についてはヒョウタンゴケで Senn (1908) が記載した<sup>2</sup>。一方、いわゆる集合反応ではないが、ヒザオリの弱光位における残存効果は Moore (1888) が既に観察していた<sup>8</sup>。

†w: Senn (1908) 以降、一般的に光定位運動は細胞内の光強度差依存性によって (photometrische) 説明できる  $^2$  と考えられてきたが、案外、光の向きが重要なのかもしれない。

†x:これらの傾向は集合反応が遅いことが原因のようである <sup>109</sup>。午後に透過率が高い傾向は気孔の昼寝現象を連想させるようでもある。

†y:研究者の興味が原形質の運動へ移ったのが原因のよう
だ

†z:光集合/逃避反応の光強度の閾値、弱光下での栽培により強光による光逃避反応を示しやすくなること、栽培光条件により暗所位の葉緑体配置が変化することなどを報告した<sup>25</sup>。

Received Mar 7, 2024; Accepted Apr 15, 2024; Published Apr 31, 2024.

#### 参考文献

- Böhm J. A., Beiträge zur näheren Kenntnis des Chlorophylls. Sitzungsber. Akad. Wiss. Math.-Naturwiss. Kl., 22, 479–512 (1856)
- Senn, G., Die Gestalts-und Lageveränderung der Pflanzen-Chromatophoren. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig (1908).
- 3. Kondo, A., Kaikawa, J., Funaguma, T., & Ueno, O., Clumping and dispersal of chloroplasts in succulent plants. *Planta*, **219**, 500-506 (2004).
- 4. Borodin, J. P., Über die Wirkung des Lichtes auf einige höhere Kryptogamen. *Bull. Acad. Imp. Sci. Saint-Pétersbourg*, **12**, 432-448 (1868).
- 5. Frank, A. B., Über Lichtwärts sich bewegende Chlorophyllkörner. *Bot. Ztg.*, **29**, 209 -215 (1871).
- Frank, A. B., Über die Veränderung der Lage der Chlorophyllkörner und des Protoplasmas in der

- Zelle und deren innere und äußere Ursachen. *Jb.* wiss. Bot., **8**, 216-303 (1872).
- 7. Stahl, E., Über den Einfluß von Richtung und Starke der Beleuchtung auf einige Bewegungserscheinungen im Pflanzenreiche. *Bot. Ztg.*, Jahrg. **38**, 297-413 (1880).
- 8. Moore, F. S. L. Spencer le Marchant, Studies in vegetable biology. III. The influence of light upon protoplasmic movement, Part I. *Bot. J. Linn. Soc.*, **24**, 200-351, (1888).
- 9. Haberlandt, G., Ueber das Assimilationssystem. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, 4, S.206 -236 (1886).
- Haberlandt, G., Über den Einfluß des Frostes auf die Chlorophyllkörner. Österr. Bot. Z. 26, 249–255 (1876).
- 11. Fujii, Y., *et al.*, Phototropin perceives temperature based on the lifetime of its photoactivated state. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **114**, 9206-9211 (2017).
- Schimper, A. F. W. Ueber die Entwicklung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. *Bot. Ztg.*, 41, 105-162 (1883).
- ゼン, G. 著 片岡博尚 訳, グスタフ・ゼン 葉緑体の変形と定位運動. (東北大学出版会 2015).
- Haupt, W., & Scheuerlein, R., Chloroplast movement. *Plant, Cell Environ.*, 13, 595-614 (1990).
- 15. Sato, Y., Kadota, A., & Wada, M., Mechanically induced avoidance response of chloroplasts in fern protonemal cells. *Plant Physiol.*, **121**, 37-44 (1999).
- 16. Haupt, W., Photomovement in plants and microorganisms: old and new questions. *Acta Bot. Croatica*, **60**, 121-130 (2001).
- 17. Voerkel, S. H., Untersuchungen über die Phototaxis der Chloroplasten. *Z. Wiss. Biol., Abt. E. Planta*, **21**, 156-205 (1934).
- 18. Zurzycka, A., The influence of the wave length of light on the movements of chloroplasts in *Lemna trisulca* L. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **21**, 17-37 (1951).

- 19. Zurzycki, J., The action spectrum for the light depended movements of chloroplasts in *Lemna trisulca* L. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **31**, 489-538 (1962).
- 20. Schönbohm, E., Untersuchungen über die Starklichtbewegung des *Mougeotia*-Chloroplasten. *Z. Bot.*, **51**, 233-276 (1963).
- 21. Mayer, F., Lichtorientierte Chloroplasten-Verlagerungen bei *Selaginella martensii. Z. Bot.*, **52**, 346-381 (1964)
- Seitz, K., Zur Frage der Jodid-Wirkung auf die Starklichtbewegung der Chloroplasten von Vallisneria spiralis ssp. torta. Z. Pflanzenphysiol, 62, 63-69 (1970).
- Schmidt, W., Hart, J., Filner, P., & Poff, K. L., Specific inhibition of phototropism in corn seedlings. *Plant Physiol.*, 60, 736-738 (1977).
- Haupt, W., Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*: I. Mitteilung Über den quantitativen und qualitativen Lichtbedarf der Schwachlichtbewegung. *Planta*, 53, 484-501 (1959).
- Trojan, A., & Gabryś, H., Chloroplast distribution in *Arabidopsis thaliana* (L.) depends on light conditions during growth. *Plant Physiol.*, 111, 419-425 (1996).
- Ahmad, M., & Cashmore, A. R., HY4 gene of A. thaliana encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. Nature, 366, 162-166 (1993).
- Liscum, E., & Briggs, W. R., Mutations in the *NPH1* locus of Arabidopsis disrupt the perception of phototropic stimuli. *Plant Cell*, 7, 473-485 (1995).
- 28. Kagawa, T., *et al.*, *Arabidopsis NPL1*: a phototropin homolog controlling the chloroplast high-light avoidance response. *Science*, **291**, 2138-2141 (2001).
- 29. Jarillo, J. A., *et al.*, Phototropin-related NPL1 controls chloroplast relocation induced by blue light. *Nature*, **410**, 952-954 (2001).
- 30. Sakai, T., *et al.*, Arabidopsis nph1 and npl1: blue light receptors that mediate both phototropism and

- chloroplast relocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **98**, 6969-6974 (2001).
- 31. Li, F. W., *et al.*, Horizontal transfer of an adaptive chimeric photoreceptor from bryophytes to ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **111**, 6672-6677 (2014).
- 32. Christie, J. M., Phototropin blue-light receptors. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **58**, 21-45 (2007).
- 33. Inoue, S. *et al.* Blue light-induced autophosphorylation of phototropin is a primary step for signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. A.* **105**, 5626–31 (2008).
- 34. Inoue, S. *et al.* Functional analyses of the activation loop of phototropin2 in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **156**, 117–28 (2011).
- 35. Pedmale, U. V., & Liscum, E., Regulation of phototropic signaling in *Arabidopsis* via phosphorylation state changes in the phototropin 1-interacting protein NPH3. *J. Biol. Chem.*, **282**, 19992-20001 (2007).
- 36. Suetsugu, N., *et al.*, RPT2/NCH1 subfamily of NPH3-like proteins is essential for the chloroplast accumulation response in land plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **113**, 10424-10429 (2016).
- Kimura, T., et al., Arabidopsis ROOT PHOTOTROPISM2 is a light-dependent dynamic modulator of phototropin1. Plant Cell, 32, 2004-2019 (2020).
- 38. Kong, S. G. *et al.* Both phototropin 1 and 2 localize on the chloroplast outer membrane with distinct localization activity. *Plant Cell Physiol.* **54**, 80–92 (2013).
- Kliebenstein, D. J., Lim, J. E., Landry, L. G., & Last,
   R. L., Arabidopsis UVR8 regulates ultraviolet-B signal transduction and tolerance and contains sequence similarity to human regulator of chromatin condensation 1. Plant Physiol., 130, 234-243 (2002).
- Hermanowicz, P., Banaś, A. K., Sztatelman, O., Gabryś, H., & Łabuz, J., UV-B induces chloroplast movements in a phototropin-dependent manner. *Front. Plant Sci.*, 10, 1279 (2019).

- 41. Kagawa, T., & Wada, M., Blue light-induced chloroplast relocation in *Arabidopsis thaliana* as analyzed by microbeam irradiation. *Plant Cell Physiol.*, **41**, 84-93 (2000).
- 42. Seitz, K., Eine Analyse der für die lichtabhängigen Bewegungen der Chloroplasten verantwortlichen Photorezeptorsysteme bei *Vallisneria spiralis* ssp. *torta. Z. Pflanzenphysiol.*, **57**, 96-104 (1967).
- 43. Yatsuhashi, H., Kadota, A., & Wada, M., Blue-and red-light action in photoorientation of chloroplasts in *Adiantum* protonemata. *Planta*, **165**, 43-50 (1985).
- 44. 佐藤良勝 & 門田明雄., ヒメツリガネゴケの 葉緑体光定位運動. 植物細胞工学シリーズ (秀潤社), **16**, 156-160, (2001).
- 45. Kadota, A., Sato, Y., & Wada, M., Intracellular chloroplast photorelocation in the moss *Physcomitrella patens* is mediated by phytochrome as well as by a blue-light receptor. *Planta*, **210**, 932-937 (2000).
- 46. Dong, X. J., Takagi, S., & Nagai, R., Regulation of the orientation movement of chloroplasts in epidermal cells of *Vallisneria*: cooperation of phytochrome with photosynthetic pigment under low-fluence-rate light. *Planta*, **197**, 257-263 (1995).
- 47. Dong, X. J., Ryu, J. H., Takagi, S., & Nagai, R., Dynamic changes in the organization of microfilaments associated with the photocontrolled motility of chloroplasts in epidermal cells of *Vallisneria*. *Protoplasma*, 195, 18-24 (1996).
- 48. Dong, X. J., Nagai, R., & Takagi, S., Microfilaments anchor chloroplasts along the outer periclinal wall in *Vallisneria* epidermal cells through cooperation of P<sub>FR</sub> and photosynthesis. *Plant Cell Physiol.*, **39**, 1299-1306 (1998).
- 49. Kawai, H., *et al.*, Responses of ferns to red light are mediated by an unconventional photoreceptor. *Nature*, **421**, 287-290 (2003).
- Suetsugu, N., Mittmann, F., Wagner, G., Hughes, J.,
   Wada, M., A chimeric photoreceptor gene,
   NEOCHROME, has arisen twice during plant

- evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **102**, 13705-13709 (2005).
- Kasahara, M., Kagawa, T., Sato, Y., Kiyosue, T., & Wada, M., Phototropins mediate blue and red lightinduced chloroplast movements in *Physcomitrella* patens. Plant Physiol., 135, 1388-1397 (2004).
- 52. Jaedicke, K., Lichtenthäler, A. L., Meyberg, R., Zeidler, M., & Hughes, J., A phytochrome– phototropin light signaling complex at the plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 109, 12231-12236 (2012).
- 53. Haupt, W., Role of light in chloroplast movement. *BioScience*, **23**, 289-296 (1973).
- 54. Wada, M., Grolig, F., & Haupt, W., New trends in photobiology: Light-oriented chloroplast positioning. Contribution to progress in photobiology. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 17, 3-25 (1993).
- Zurzycki, J., & Lelatko, Z., Action dichroism in the chloroplasts rearrangements in various plant species. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 38, 493-506 (1969).
- 56. Furuya, M., Phytochromes: their molecular species, gene families, and functions. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **44**, 617-645 (1993).
- 57. Kanegae, T., & Kimura, I., A phytochrome/phototropin chimeric photoreceptor of fern functions as a blue/far-red light-dependent photoreceptor for phototropism in Arabidopsis. *Plant J.*, **83**(3), 480-488 (2015).
- 58. 末次憲之 & 和田正三, 陸上植物の光応答戦略—陸上植物における葉緑体の運動メカニズムの新機軸—. 植物科学の最前線, 4(A), 45-60 (2013).
- Hirano, S., et al., The localization of phototropin to the plasma membrane defines a cold-sensing compartment in *Marchantia polymorpha*. PNAS nexus, 1, pgac030 (2022).
- 60. Kimura, I., & Kanegae, T., A phytochrome/phototropin chimeric photoreceptor promotes growth of fern gametophytes under limited light conditions. *J. Exp. Bot.*, erae003 (2024).

- Kagawa, T., & Wada, M., Chloroplast-avoidance response induced by high-fluence blue light in prothallial cells of the fern *Adiantum capillusveneris* as analyzed by microbeam irradiation. *Plant Physiol.*, 119, 917-924 (1999).
- 62. Tsuboi, H., & Wada, M., Speed of signal transfer in the chloroplast accumulation response. *J. Plant Res.*, **123**, 381-390 (2010).
- 63. Nishio, H., Hirano, S., & Kodama, Y., Statistical analysis of organelle movement using state-space models. *Plant Methods*, **19**, 67 (2023).
- 64. Higa, T., Hasegawa, S., Hayasaki, Y., Kodama, Y., & Wada, M., Temperature-dependent signal transmission in chloroplast accumulation response. *J. Plant Res.*, 130, 779-789 (2017).
- Banaś, A. K., Aggarwal, C., Łabuz, J., Sztatelman,
   O., & Gabryś, H., Blue light signalling in chloroplast movements. *J. Exp. Bot.*, 63, 1559-1574 (2012).
- 66. Tlałka, M., & Fricker, M., The role of calcium in blue-light-dependent chloroplast movement in *Lemna trisulca* L. *Plant J.*, **20**, 461-473 (1999).
- 67. Tlałka, M., & Gabryś, H., Influence of calcium on blue-light-induced chloroplast movement in *Lemna trisulca* L. *Planta*, **189**, 491-498 (1993).
- 68. Sato, Y., Wada, M., & Kadota, A., External Ca<sup>2+</sup> is essential for chloroplast movement induced by mechanical stimulation but not by light stimulation. *Plant Physiol.*, **127**, 497-504 (2001).
- 69. Sato, Y., Wada, M., & Kadota, A., Accumulation response of chloroplasts induced by mechanical stimulation in bryophyte cells. *Planta*, **216**, 772-777 (2003).
- Sato, Y., Kadota, A., & Wada, M., Chloroplast movement: dissection of events downstream of photo-and mechano-perception. *J. Plant Res.*, 116, 1-5 (2003).
- 71. Tsuboi, H., & Wada, M., The speed of intracellular signal transfer for chloroplast movement. *Plant signaling behav.*, **5**, 433-435 (2010).
- 72. Grabalska, M., & Malec, P., Blue Light-induced Chloroplast Reorientations in *Lemna trisulca*

- L.(Duckweed) are Controlled by Two Separable Cellular Mechanisms as Suggested by Different Sensitivity to Wortmannin. *Photochem. Photobiol.*, **79**, 343-348 (2004).
- Aggarwal, C., Łabuz, J., & Gabryś, H., Phosphoinositides play differential roles in regulating phototropin1-and phototropin2mediated chloroplast movements in *Arabidopsis*. *PLoS One*, 8, e55393 (2013).
- Hirano, T. & Sato, M. H. Physiological Functions of Phosphoinositide-Modifying Enzymes and Their Interacting Proteins in *Arabidopsis*. in *Protein Reviews – Purinergic Receptors* (eds. Atassi, M. et al.) 139–157 (Springer, Cham, 2019).
- 75. Weiner, O. D., Regulation of cell polarity during eukaryotic chemotaxis: the chemotactic compass. *Curr. Opin. Cell Biol.*, **14**, 196-202 (2002).
- 76. Virgin, H. I., The effect of light on the protoplasmic viscosity. *Physiol. Plant.*, **4**, 255-357 (1951).
- Zurzycki, J., Studies on the centrifugation of chloroplasts in *Lemna trisulca*. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 29, 385-393 (1960).
- 78. Sakai, Y., & Takagi, S., Reorganized actin filaments anchor chloroplasts along the anticlinal walls of *Vallisneria* epidermal cells under high-intensity blue light. *Planta*, **221**, 823-830 (2005).
- Schönbohm, E., Kontraktile Fibrillen als aktive Elemente bei der Mechanik der Chloroplastenverlagerung. Ber. Dtsch. Bot. Ges., 86, 407-422 (1973).
- Wagner, G., Haupt, W., & Laux, A., Reversible inhibition of chloroplast movement by cytochalasin
   B in the green alga *Mougeotia*. *Science*, 176, 808-809 (1972).
- Kadota, A., *et al.*, Short actin-based mechanism for light-directed chloroplast movement in *Arabidopsis*.
   *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **106**, 13106-13111 (2009).
- 82. Kong, S. G., *et al.*, CHLOROPLAST UNUSUAL POSITIONING 1 is a new type of actin nucleation factor in plants. *bioRxiv*, 2020-01

- https://doi.org/10.1101/2020.01.14.905984 (2020).
- 83. Kong, S. *et al.* CHLOROPLAST UNUSUAL POSITIONING 1 is a plant-specific actin polymerization factor regulating chloroplast movement. *Plant Cell* **36**, 1159–1181 (2023).
- 84. Kong, S. G., Arai, Y., Suetsugu, N., Yanagida, T., & Wada, M., Rapid severing and motility of chloroplast-actin filaments are required for the chloroplast avoidance response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 25, 572-590 (2013).
- 85. Wada, M., *et al.*, Chloroplast-actin filaments decide the direction of chloroplast avoidance movement under strong light in *Arabidopsis thaliana*. https://www.researchsquare.com/article/rs-3729673/v1 (2023).
- 86. Dwyer, M. E., & Hangarter, R. P., Light-induced displacement of PLASTID MOVEMENT IMPAIRED1 precedes light-dependent chloroplast movements. *Plant Physiol.*, 189, 1866-1880 (2022).
- 87. Tsuboi, H., & Wada, M., Distribution pattern changes of actin filaments during chloroplast movement in *Adiantum capillus-veneris*. *J. Plant Res.*, **125**, 417-428 (2012).
- 88. Yamashita, H., *et al.*, Chloroplast actin filaments organize meshwork on the photorelocated chloroplasts in the moss *Physcomitrella patens*. *Planta*, **233**, 357-368 (2011).
- 89. Suetsugu, N., Dolja, V. V., & Wada, M., Why have chloroplasts developed a unique motility system?. *Plant signaling behav.*, **5**, 1190-1196 (2010).
- 90. Suetsugu, N., Higa, T., & Wada, M., Ferns, mosses and liverworts as model systems for light-mediated chloroplast movements. *Plant, Cell Environ.*, **40**, 2447-2456 (2017).
- DeBlasio, S. L., Luesse, D. L., & Hangarter, R. P., A plant-specific protein essential for blue-lightinduced chloroplast movements. *Plant Physiol.*, 139, 101-114 (2005).
- 92. Mosebach, G., Zur Phototaxis von *Mougeotia* (Mesocarpus). *Planta*, **52**, 3-46 (1958).

- 93. Walczak, T., & Gabryś, H., The CO<sub>2</sub> effect on light-induced chloroplast translocations in higher plant leaves. *Z. Pflanzenphysiol.*, **101**, 367-375 (1981).
- 94. Sugiyama, T., & Terashima, I., CO<sub>2</sub>-induced chloroplast movement in one cell-layer moss leaves. *Plant, Cell Environ.*, **46**, 2358-2375 (2023).
- 95. Edwards, G.E., Voznesenskaya, E.V. Chapter 4 C<sub>4</sub> Photosynthesis: Kranz Forms and Single-Cell C<sub>4</sub> in Terrestrial Plants. in C<sub>4</sub> Photosynthesis and Related CO<sub>2</sub> Concentrating Mechanisms. (eds. Raghavendra, A., & Sage, R.) 29-61 (Springer, Dordrecht, 2010)
- 96. Yamada, M., Kawasaki, M., Sugiyama, T., Miyake, H., & Taniguchi, M., Differential positioning of C<sub>4</sub> mesophyll and bundle sheath chloroplasts: aggregative movement of C<sub>4</sub> mesophyll chloroplasts in response to environmental stresses. *Plant Cell Physiol.*, **50**, 1736-1749 (2009).
- 97. Kato, Y., *et al.*, Aggregative movement of mesophyll chloroplasts occurs in a wide variety of C<sub>4</sub> plant species. *Flora*, **294**, 152133 (2022).
- 98. Kato, Y., Oi, T., & Taniguchi, M., Aggregative movement of C<sub>4</sub> mesophyll chloroplasts is promoted by low CO<sub>2</sub> under high intensity blue light. *Plant Biology.* **25**, 563-570 (2023).
- 99. Ubierna, N., Sun, W. E. I., Kramer, D. M., & Cousins, A. B., The efficiency of C<sub>4</sub> photosynthesis under low light conditions in *Zea mays*, *Miscanthus* x giganteus and Flaveria bidentis. Plant, Cell Environ., **36**, 365-381 (2013).
- 100.Retta, M. A., *et al.*, The role of chloroplast movement in C<sub>4</sub> photosynthesis: a theoretical analysis using a three-dimensional reaction—diffusion model for maize. *J. Exp. Bot.*, erad138 (2023).
- 101. Zurzycki, J., Chloroplast arrangement as a factor in photosynthesis. *Acta Soc. Bot. Pol..*, **24**, 27-63 (1955).
- 102. Kasahara, M., *et al.*, Chloroplast avoidance movement reduces photodamage in plants. *Nature*, **420**, 829 (2002).

- 103. Sztatelman, O., Waloszek, A., Banaś, A. K., & Gabryś, H., Photoprotective function of chloroplast avoidance movement: *in vivo* chlorophyll fluorescence study. *J. Plant Physiol.*, **167**, 709-716 (2010).
- 104.Davis, P. A., & Hangarter, R. P., Chloroplast movement provides photoprotection to plants by redistributing PSII damage within leaves. *Photosynth. Res.*, **112**, 153-161 (2012).
- 105.Gotoh, E., *et al.*, Chloroplast accumulation response enhances leaf photosynthesis and plant biomass production. *Plant Physiol.*, **178**, 1358-1369 (2018).
- 106. Terashima, I., Hanba, Y. T., Tazoe, Y., Vyas, P., & Yano, S., Irradiance and phenotype: comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO<sub>2</sub> diffusion. *J. Exp. Bot.*, **57**, 343-354 (2006).
- 107. Evans, J. R., Caemmerer, S. V., Setchell, B. A., & Hudson, G. S., The relationship between CO<sub>2</sub> transfer conductance and leaf anatomy in transgenic tobacco with a reduced content of Rubisco. *Funct. Plant Biol.*, **21**, 475-495 (1994).
- 108. Tholen, D., *et al.*, The chloroplast avoidance response decreases internal conductance to CO<sub>2</sub> diffusion in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant, Cell Environ.*, **31**, 1688-1700 (2008).
- 109. Williams, W. E., Gorton, H. L., & Witiak, S. M., Chloroplast movements in the field. *Plant, Cell Environ.*, **26**, 2005-2014 (2003).
- 110. Davis, P. A., Caylor, S., Whippo, C. W., & Hangarter, R. P., Changes in leaf optical properties associated with light-dependent chloroplast movements. *Plant, Cell Environ.*, **34**, 2047-2059 (2011).
- 111. Terashima, I., & Hikosaka, K., Comparative ecophysiology of leaf and canopy photosynthesis. *Plant, Cell Environ.*, **18**, 1111-1128 (1995).
- 112.Oguchi, R., Hikosaka, K., & Hirose, T., Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three

- deciduous trees. *Plant, Cell Environ.*, **28**, 916-927 (2005).
- 113. Haupt, W., & Fetzer, J., Energetics of the chloroplast movement in *Mougeotia*. *Nature*, **201**, 1048-1049 (1964).
- 114. Schönbohm, E., Untersuchungen über den Einfluß von Photosynthesehemmstoffen und Halogeniden auf die Starklicht-und Schwachlichtbewegung des Chloroplasten von *Mougeotia* spec. *Z. Pflanzenphysiol.*, **60**, 255-269 (1969).
- 115. Sugiyama, Y., & Kadota, A., Photosynthesis-dependent but neochrome 1-independent light positioning of chloroplasts and nuclei in the fern *Adiantum capillus-veneris*. *Plant Physiol.*, **155**, 1205-1213 (2011).
- 116.Banaś, A. K., & Gabryś, H., Influence of sugars on blue light-induced chloroplast relocations. *Plant signaling behav.*, **2**, 221-230 (2007).
- 117. Wen, F., Xing, D., & Zhang, L., Hydrogen peroxide is involved in high blue light-induced chloroplast avoidance movements in *Arabidopsis. J. Exp. Bot.*, **59**, 2891-2901 (2008).
- 118. Schmalstig, J. G., & Jainandan, K., Green light attenuates blue-light-induced chloroplast avoidance movement in *Arabidopsis* and *Landoltia punctata*. *Am. J. Bot.*, **108**, 1525-1539 (2021).
- 119. Tlałka, M., & Fricker, M., The role of calcium in blue-light-dependent chloroplast movement in *Lemna trisulca* L. *Plant J.*, **20**, 461-473 (1999).
- 120.Pfündel, E. E., Latouche, G., Meister, A., & Cerovic, Z. G., Linking chloroplast relocation to different responses of photosynthesis to blue and red radiation in low and high light-acclimated leaves of *Arabidopsis thalia*na (L.). *Photosynth. Res.*, **137**, 105-128 (2018).
- 121.McClain, A. M., & Sharkey, T. D., Building a better equation for electron transport estimated from Chl fluorescence: accounting for nonphotosynthetic light absorption. *New Phytol.*, 225, 604 (2020).
- 122.Irieda, H., & Takano, Y., Epidermal chloroplasts are defense-related motile organelles equipped with

- plant immune components. *Nat. Commun.*, **12**, 1-19 (2021).
- 123. Ovsyannikov, A. Y., & Koteyeva, N. K., Seasonal movement of chloroplasts in mesophyll cells of two *Picea* species. *Protoplasma*, **257**, 183-195 (2020).
- 124.Saco, J. A., Sekida, S., & Mine, I., Photosynthetic fluctuation accompanied by translocation of chloroplasts in *Ulva conglobata* (Ulvophyceae) grown under a low irradiance regime. *Phycol. Res.*, **69**, 137-147 (2021).
- 125.Britz, S. J., Pfau, J., Nultsch, W., & Briggs, W. R., Automatic monitoring of a circadian rhythm of change in light transmittance in *Ulva. Plant Physiol.*, **58**, 17-21 (1976).
- 126.Oikawa, K., Hayashi, M., Hayashi, Y., & Nishimura, M., Re-evaluation of physical interaction between plant peroxisomes and other organelles using live-cell imaging techniques. *J. Integr. Plant Biol.*, **61**, 836-852 (2019).
- 127. Suetsugu, N., Kagawa, T., & Wada, M., An auxilinlike J-domain protein, JAC1, regulates phototropinmediated chloroplast movement in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, **139**, 151-162 (2005).
- 128. Tsuboi, H., Suetsugu, N., Kawai-Toyooka, H., & Wada, M., Phototropins and neochrome1 mediate nuclear movement in the fern *Adiantum capillus-veneris*. *Plant Cell Physiol.*, **48**, 892–896 (2007)
- 129.Komatsu, A., *et al.*, Phototropin encoded by a single-copy gene mediates chloroplast photorelocation movements in the liverwort

- *Marchantia polymorpha. Plant Physiol.*, **166**, 411-427 (2014).
- 130. Königer, M., Delamaide, J. A., Marlow, E. D., & Harris, G. C., *Arabidopsis thaliana* leaves with altered chloroplast numbers and chloroplast movement exhibit impaired adjustments to both low and high light. *J. Exp. Bot.*, **59**, 2285-2297 (2008).
- 131. Schramma, N., Perugachi Israëls, C., & Jalaal, M., Chloroplasts in plant cells show active glassy behavior under low-light conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **120**, e2216497120 (2023).
- 132.Zurzycki, J., Properties and localization of the photoreceptor active in displacements of chloroplasts in *Funaria hygrometrica*. I. Action spectrum. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 36, 133-142 (1967).
- 133.MacLeod, A. I., *et al.*, Loss of plastid developmental genes coincides with a reversion to monoplastidy in hornworts. *Front. Plant Sci.*, **13**, 863076 (2022).
- 134.Le, Y. P., Microtubule Function in Meristematic Cells and Chloroplast Light Avoidance Movement in Arabidopsis thaliana (Doctoral dissertation, University of Saskatchewan) (2019).
- 135.Luesse, D. R., DeBlasio, S. L., & Hangarter, R. P., Integration of phot1, phot2, and PhyB signalling in light-induced chloroplast movements. *J. Exp. Bot.*, 61, 4387-4397 (2010).

## A review on the history, recent proceedings, and future perspectives in the study of chloroplast rearrangement responses

Taichi Sugiyama

Institute of Innovative Research, Tokyo Institute of Technology

## 研究紹介

## ブラシノステロイドと光に制御される新規因子 BPG4 による葉緑体恒常性維持機構<sup>‡</sup>

<sup>1</sup>京都大学 大学院生命科学研究科、<sup>2</sup>京都大学 大学院農学研究科、 <sup>3</sup>東京大学 大学院農学生命科学研究科 立花 諒 <sup>1\*</sup>、山上 あゆみ <sup>1</sup>、宮川 拓也 <sup>1</sup>、伊福 健太郎 <sup>2</sup>、浅見 忠男 <sup>3</sup>、中野 雄司 <sup>1</sup>

植物は、効率的かつ健全な光合成を行うため、葉緑体の発達を環境に応じて適切に制御している。植物ホルモン・ブラシノステロイド (BR) は、植物の形態形成に加えて、葉緑体発達においても強い生理活性を持つことが知られているが、BR シグナルによる葉緑体発達制御機構には未解明な点が多く残されている。本研究は、BR シグナルと光の下流で機能する新規葉緑体制御因子 BPG4 を同定し、BPG4は葉緑体発達のマスター転写因子 GLK を介して光合成関連遺伝子の発現および葉緑体発達の最適な制御を司ることにより、葉緑体恒常性維持因子として機能する可能性を明らかにした。

#### 1. はじめに

#### 葉緑体の発達制御

葉緑体は光合成反応の場として重要な役割を果 たす植物固有のオルガネラであり、光合成活性 は葉緑体の発達と密接に関連している。葉緑体 の発達は植物器官の各成長ステージや明暗など の植物が生育する環境に応じて精密に制御さ れ、それぞれの状況に応じた適切な光合成反応 が進められることが知られている。葉緑体の形 成と発達に関わる遺伝子は、光合成関連色素体 遺伝子 (PhAPGs)と光合成関連核遺伝子 (PhANGs) と総称されている。psbA やrbcL など は PhAPGs として葉緑体ゲノムにコードされて おり、シグマ因子や CND41 などの葉緑体局在 の転写因子によって発現が制御される「。一方、 クロロフィル生合成酵素や光捕集アンテナタン パク質 (LHCP)、光化学系 I/II (PSI/II) のサブユ ニットなど葉緑体発達制御因子の多くは、核ゲ ノムに PhANGs としてコードされている。

PhANGs の発現制御においては、GOLDEN2-LIKE 1/2 (GLK1/2)、GATA NITRATE-INDUCIBLE CARBON-METABOLISM-INVOLVED、CYTOKININ-RESPONSIVE GATA1 (CGA1)/GNC-LIKE (GNL) などの転写因子が重要な役割を果たすことが知られている<sup>2</sup>。GLK 転写因子は PhANGs のプロモーター領域に直接結合して発現を活性化することにより、クロロフィル生合成、光合成装置の構築、葉緑体発達などを促進する機能を持つことが知られており、光シグナルや植物ホルモン、レトログレードシグナルなどの下流において機能する葉緑体発達のマスター転写因子であると考えられている<sup>2,3</sup>。

## 植物ステロイドホルモン・ブラシノステロイド (BR)

ブラシノステロイド (BR) は、ステロイド構造 を持つ植物ホルモンである (図 1)。BR は、植物 の成長制御、環境ストレス耐性の向上、葉緑体

<sup>#</sup>研究紹介

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: tachibana.ryo.63e@st.kyoto-u.ac.jp

発達の制御などの様々な生理活性を持つことが 知られている。通常、暗所発芽した植物はフッ クの形成、胚軸の徒長、子葉の黄化に代表され る暗所形態形成を示すが、BR 生合成変異体 deetiolated 2 (det2) は、胚軸が短化し子葉が開いた 「暗所光形態形成」を示すことが知られている 4。この際、通常暗所条件下では極めて発現量が 少ない Light-harvesting complex protein/chlorophyll a/b binding protein (LHC/CAB) や psbA などの光 合成関連遺伝子の発現が増加する。また、明所 においては、det2変異体は極端な矮性形態、頂 芽優勢の減少、葉の濃緑色化などの表現型を示 す<sup>4</sup>。これらの明瞭なBR欠損表現型から、BR は植物の形態形成および葉緑体発達の制御にお いて非常に重要な役割を果たす生理活性物質と して認められ、多くの研究者により BR 生合成 経路および BR シグナル伝達機構の解析が進め られてきた。一方、det2変異体の単離以降、BR による形態形成制御機構の解明は精力的に試み られてきているが、BR による葉緑体制御機構に ついては、鍵因子の探索などの研究が活発には 進められてきていないのが現状であった。

我々は、BR 生合成阻害剤 Brz を用いたケミカル バイオロジー的手法により、BR シグナル伝達機 構の解明を進めてきた。Brz は、BR 生合成経路 におけるシトクロム P450 モノオキシゲナーゼ DWARF4 に結合することにより、BR 生合成を 特異的に阻害する5。このBrz条件で生育した植 物体は、明所における極端な矮性形態および濃緑 色形態や、胚軸の短化および子葉の開花を特徴と する暗所光形態形成など det2 と同様の表現型を 示すことが明らかとなっている (図 1)。そこで 我々は、シロイヌナズナ突然変異体種子群から、 暗所 Brz 存在下でも胚軸が短化せず、逆に徒長し た Brz-insensitive-long hypocotyl (bil) 変異体や、明 所 Brz 存在下でも濃緑色にならず逆に低緑色を 示す Brz-insensitive-pale green (bpg) 変異体をスク リーニングすることにより、新規 BR シグナル伝 達因子を同定してきた。これまでに bill 変異体か らは BR シグナル伝達のマスター転写因子 BIL1/BZR1 や BR 受容体 BRI1 の分解に関わる BIL4 などが単離されており、bpg 変異体からは いずれもBRシグナル伝達の下流で葉緑体発達を制御する機能を持つBPG1、BPG2、BPG3 を同定している  $^{6-10}$ 。本研究では、4 番目の bpg 変異体として単離された bpg4-1D 変異体の原因遺伝子 BPG4 (At3g55240) について、機能、発現制御、生理学的意義に関する解析を行った  $^{11}$ 。

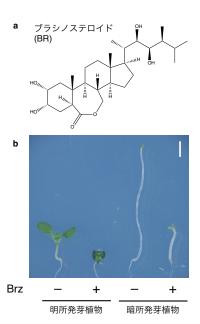


図 1. ブラシノステロイド(BR)欠損植物体は、明所においては矮化した濃緑色形態を示し、暗所においては胚軸が短化し子葉が開いた光形態形成を示す

a,天然の活性型ブラシノステロイド(BR) の一種であるブラシノライドの化学構 造。

b,BR 生合成阻害剤 Brz 処理により BR が 欠損した野生型株の表現型。明所(長日条件)あるいは暗所で、3  $\mu$ M Brz が添加された 1/2MS 培地で 7 日間生育させた。 Scale bar = 2 mm。

## 2. BPG4 はクロロフィル内生量および葉緑体発達を抑制する

BPG4 のアミノ酸配列を基にした相同性遺伝子検索により、BPG4 は陸上植物に進化的に広く保存される一方、既知の機能ドメインを持たない新規遺伝子であることが明らかとなった。そこで、BPG4 の植物体における機能を明らかにするために BPG4 欠損株および BPG4 高発現株を作出し、それらの表現型を解析した。その結果、BPG4 欠損株は野生型株と比較してクロロフィル内生量が増大した濃緑色形態を示し、BPG4 高発現株は

クロロフィル内生量が減少した低緑色形態を示すことが明らかとなった (図 2)。さらに、クロロフィル a/b 比が BPG4 欠損株では野生型株と比較して減少し、BPG4 高発現株では増大したことから、BPG4 はクロロフィル内生量だけではなくLHC の発達にも影響を及ぼしていると考察された。さらに BPG4 が葉緑体発達に与える影響を解明するために、野生型株、BPG4 欠損株、BPG4 高発現株のロゼット葉における葉緑体を透過型電子顕微鏡により観察した。その結果、BPG4 欠損

株においては野生型株と比較してグラナ当たりのチラコイドスタッキング層数が増加していることが明らかとなった(図 2)。一方、*BPG4*高発現株においては、スタッキング層数の減少に加えてストロマラメラの断片化が観察された(図 2)。これらの結果より、BPG4はクロロフィル内生量を減少させ、葉緑体チラコイド膜の発達を抑制する機能を持つと考察された。

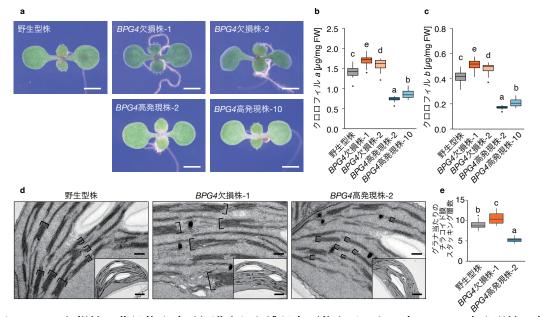


図 2. BPG4 欠損株は葉緑体発達が促進された濃緑色形態を示した一方、BPG4 高発現株は葉緑体発達が抑制された低緑色形態を示した

- **a**, 野生型株、BPG4 欠損株-1、-2、BPG4 高発現株-2、-10 の表現型。1/2MS 培地において長日条件で 8 日間生育させた。scale bar = 1 mm。
- **b**, **c**, 野生型株、BPG4 欠損株-1、-2、BPG4 高発現株-2、-10 の新鮮重当たりのクロロフィル a 内生量 (b) およびクロロフィル b 内生量 (c)。 1/2MS 培地において長日条件で 10 日間生育させた。n=20。
- d, 野生型株、BPG4 欠損株-1、BPG4 高発現株-2 における葉緑体の電子顕微鏡観察像。土壌において 3 週間生育させた植物体のロゼット葉の葉肉細胞を透過型電子顕微鏡を用いて観察した。Scale bar = 0.2 μm、1 μm (挿入図)。
- e, d において示した植物体の葉緑体におけるグラナ当たりのチラコイドスタッキング層数の定量的解析。チラコイド膜は、1 つの内腔を囲む 1 対の膜として定義した。チラコイドの積層数は、葉緑体中の 1、2、3 番目に大きなグラナについて計測し、3 つのグラナから得られた平均値用いて解析した。n=15。
- b, c, e において、箱ひげ図を 2 等分する水平線、箱の境界は、それぞれ中央値、下位四分位数、および上位四分位数を表す。ひげは、下四分位数と上四分位数から四分位範囲 (IQR) の 1.5 倍以内にあるデータ点を表す。この範囲外のデータ点は外れ値とみなし、ひげの外にプロットした。グラフ上のアルファベットは、サンプル間の統計的に有意な差を示す (one-way ANOVA: Tukey-Kramer の多重比較検定、P < 0.01)。図はいずれも文献 11 より抜粋改変した。

## 3. BPG4 はクロロフィル生合成・葉緑体発達のマスター転写因子 GLK の機能を抑制する

続いて、BPG4 の細胞レベルの分子機能を明ら かにすることを目指した。第一に、BPG4-GFPの 観察およびanti-BPG4抗体による免疫蛍光染色に より BPG4 の細胞内局在性を解析した結果、 BPG4は核および細胞質に局在していることが明 らかとなった。植物体レベルで観察された BPG4 欠損株の緑色異常形態に基づき、BPG4 が核にお いて PhANGs の発現制御に関与する可能性が考 察された。そこで、野生型株、BPG4 欠損株、BPG4 高発現株における PhANGs の発現量解析を行っ た結果、クロロフィル生合成遺伝子および LHCP の mRNA 発現量が BPG4 欠損株においては野生 型株と比較して増加していた一方、BPG4高発現 株においては減少していることが明らかとなっ た。これらの結果より、BPG4 は核で PhANGs の 発現を網羅的に減少させることにより、葉緑体発 達を抑制していると考察された。

BPG4 は約 11 kDa の低分子量タンパク質であり 既知の DNA 結合ドメインが認められないため、 BPG4は転写因子などの他のタンパク質との相互 作用を介して PhANGs の発現を制御している可 能性が考察された。そこで、BPG4と相互作用す るタンパク質を Y2H 法により探索した結果、 BPG4は前述した葉緑体発達のマスター転写因子 GLK1/2 と相互作用することが明らかとなった。 さらに、BiFC 法および CoIP 法により、BPG4 は GLK と核において相互作用していることが示さ れた。シロイヌナズナにおいて、GLK1とGLK2 は冗長的に機能しており、GLK はクロロフィル 生合成酵素や CAB/LHC などの PhANGs の発現を 網羅的に活性化し、葉緑体発達を促進させる機能 を持つことが知られている<sup>3</sup>。そこで、BPG4欠 損株と GLK 二重欠損株を用いて BPG4 GLK 三重 変異体を作出し、表現型解析を行った。その結果、 BPG4欠損株は野生型株と比較してクロロフィル 内生量が増加した濃緑色形態を示したのに対し、 GLK 二重欠損株はクロロフィル内生量が低下し た低緑色形態を示した。また、BPG4GLK三重変 異体は GLK 二重欠損株と同程度のクロロフィル 内生量を持つ低緑色形態を示したことから、

BPG4 は GLK の上流で機能している可能性が考 察された (図 3)。 そこで、BPG4 による GLK 制 御機構を明らかにするために、大腸菌で発現した GLK1、BPG4 タンパク質と GLK の転写標的遺伝 子である CAO のプロモーター配列を用いた Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) を行っ た。その結果、BPG4の共存条件下において CAO プロモーター配列に対する GLK1 の結合強度が 低下することが明らかとなった (図 3)。 さらに、 GLK 標的遺伝子である HEMA1、GUN4、CAO の プロモーター配列を用いたプロトプラスト一過 性レポーターアッセイを行った結果、HEMAI、 GUN4、CAOの発現はGLK1により増加した一方、 GLK1 と BPG4 の共発現条件下においては低下す ることが明らかとなった (図3)。これらの結果よ り、BPG4 は核内において GLK と相互作用し、 GLK の DNA に対する結合活性の阻害を介して GLK の転写活性を低下させる分子機能を持って いることが考察された。

## 4. BPG4 遺伝子の発現はブラシノステロイド欠損と光によって促進される

bpg4-1D 変異体は BR 生合成阻害剤 Brz を用い たスクリーニングによって同定されたことから、 BPG4 は BR シグナル伝達と関連して葉緑体発達 を制御していると予測されていた。そこで、BR シグナルによる BPG4 制御機構を明らかにする ために、qRT-PCR により Brz およびブラシノラ イド (BL) 処理による BPG4 発現変動を解析し た。その結果、BPG4発現量はBrz 処理により増 加し、BL 処理により減少することが明らかと なった。さらに、BR シグナル伝達変異体におけ る BPG4 発現解析を行った結果、野生型株と比較 して BR シグナル伝達因子 BES1 の機能獲得型変 異体 bes1-D において BPG4 発現量が減少してい ることが明らかとなった。BES1 は BR シグナル 伝達の下流でBIL1/BZR1 と共に約3000種の遺伝 子発現を制御することが知られており、BR シグ ナル伝達のマスター転写因子と考えられている 10,12-14。これらの結果より、*BPG4* 発現は BR シグ ナル伝達の下流でBES1によって抑制されている と考察された。この BES1 による詳細な BPG4 発 現制御機構を明らかにするために BPG4 プロモーター領域を探索したところ、BPG4 プロモーター領域に BES1 の結合 cis 配列の一つである G-box (CACGTG) が 2 ヶ所 (G-box-1; 開始コドンより 180 bp 上流、G-box-2; 開始コドンより 180 bp 上流)存在することが明らかとなった  $^{15}$ 。そこで、大腸菌で発現させた BES1 の DNA 結合ドメイン (DBD) タンパク質を用いた EMSA を行ったところ、BES1 DBD は BPG4 プロモーター領域の G-box-2 のみに結合していることが明らかとなった。さらに、プロトプラストー過性レポーターアッセイを行ったところ、BPG4 プロモーター配列の G-box-2 への変異導入レポーターにおいては、BES1 による BPG4 発現制御が認めら

れいことが明らかとなった。これらの結果より、BR シグナル伝達の下流において、BR シグナル 伝達のマスター転写因子 BES1 の BPG4 プロモーター領域中 G-box への直接結合により、BPG4 発現抑制が発動すると考察された。

核ゲノムにコードされる光合成関連遺伝子の多くは、光シグナルおよび概日リズムによって発現が制御されることが知られている <sup>16</sup>。そこで、光シグナルによる *BPG4* 発現制御機構を明らかにするために *BPG4pro:GUS* を用いた解析を行った(図 4)。その結果、*BPG4* 発現は暗所発芽植物と比較して明所発芽植物において特異的に増加していることが明らかとなった。さらに、*BPG4* 発現はロゼット葉などの光合成を担う植物器官で特

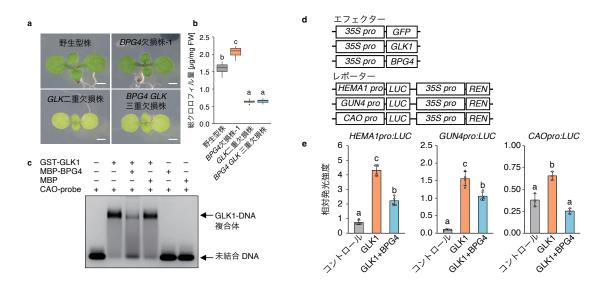


図 3. BPG4 は、GLK1 の DNA 結合能を低下させることにより、GLK1 の転写活性を抑制した

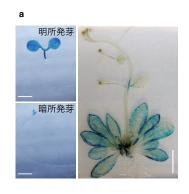
- **a**, **b**, 野生型株、BPG4 欠損株-1、GLK 二重欠損株、BPG4 GLK 三重欠損株の表現型 (a)、および新鮮重あたりの総クロロフィル量 (b)。1/2MS 培地において長日条件で 8 日間生育させた。scale bar = 1 mm。n=18。
- c, GST-GLK1 および MBP-tag、MBP-BPG4 を用いた EMSA。 DNA プローブとして FAM 標識した CAO プロモーター配列を用いた。
- **e**, **d**, プロトプラスト一過性レポーターアッセイにおいて用いたベクターの概要図 (d)、およびその結果。相対発光強度は、HEMAI、GUN4、CAO のプロモーター活性を示しており、LUC を感染効率の指標である REN で補正することにより算出した。エフェクターとして、コントロール (GFP)、GLK1 (GLK1+GFP)、GLK1+BPG4 をレポーターと共に共発現させた。棒グラフおよびエラーバーは平均値および SD を表す。n=4 (HEMAI、GUN4)、3 (CAO)。
- **b**, **e** において、グラフ上のアルファベットは、サンプル間の統計的に有意な差を示す (one-way ANOVA: Tukey-Kramer の多重比較検定、P < 0.01)。図はいずれも文献 11 より抜粋改変した。

に活性化されていることが示唆された (図 4)。ま た、脱黄化時の BPG4 発現変動を解析した結果、 BPG4 発現は光照射後 6 時間以内に増加し始め、 光照射後 72 時間後には暗所発芽植物の 50 倍以 上に増加することが明らかとなった。さらに、概 日リズム条件下における BPG4 発現変動を解析 した結果、BPG4発現量は昼に特異的に増加し夜 間に減少しており、概日リズムによって精密に制 御されていることが明らかとなった (図4)。これ らの結果より、BPG4発現は光照射によって顕著 に誘導され、光合成を担う植物器官で特異的に活 性化していることが示唆された。また BPG4 発現 は、脱黄化時および概日リズム条件のいずれにお いても、GLK および PhANGs よりも数時間遅れ て活性化していると考察された。BR シグナルは 光シグナルと密接にクロストークしていると考 えられており、BR シグナルのマスター転写因子 BIL1/BZR1/BES1 は光シグナルにおける主要転写 因子 PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR (PIF) や HYPOCOTYL LONG 5 (HY5) と相互作 用して下流の遺伝子発現を制御することが知ら れている17。網羅的手法を用いた先行研究により、 PIF および HY5 が BPG4 発現を直接制御する可 能性が示唆されており<sup>18,19</sup>、また BES1、PIF、HY5 はいずれも概日リズムとの関連性が報告されて いる<sup>20</sup>。これらの知見より、BES1、PIF、HY5な

どの複数の転写因子に基づくBR、光、概日リズムに関するシグナル伝達が統合的に働き、BPG4発現が精密に制御されている可能性が考察されるが、解明は未だ途上である。今後の展望として、複数のシグナルのクロストークなども含めて、より詳細にBPG4の転写制御に関する分子メカニズムが解明されることが期待される。

## 5. BPG4 の発現と機能の相反性から考察する BPG4 の生理学的意義

BR 欠損変異体の表現型などにより、BR 欠損はクロロフィル生合成および葉緑体発達を促進すると考えられており、また葉緑体発達は光によって促進されることは自明である。前項までの結果より、BPG4 発現は BR 欠損および光照射によって活性化することが明らかとなっており、この結果より BPG4 の発現は葉緑体発達と正方向に連動していると考えられる。一方、前項までの結果より、BPG4 は葉緑体発達のマスター転写因子GLK を介して葉緑体発達を抑制する機能を持つことが明らかにされている。すなわち、BPG4 発現と機能は葉緑体発達制御において、相反し矛盾しているように思われる。我々はこの矛盾こそがBPG4の生理学的意義を解く鍵ではないかと考えた。



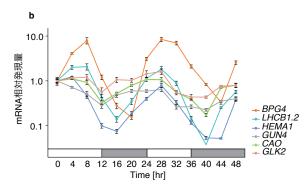


図 4. BPG4 発現は光によって誘導されており、概日リズムによって制御されていた

**a**, *BPG4pro:GUS* の GUS 染色。1/2MS 培地において、明所 (長日条件)あるいは暗所で 7 日間生育させた (左)。土壌において、明所で 30 日間生育させた (右)。Scale bar = 2 mm (左)、2 cm (右)。 **b**, *BPG4、PhANGs、GLK2* の相対発現量の解析結果。野生型株を LD (Light 12h/Dark 12 h) 条件で24 日間生育させた後、48 時間連続光 (LL) を照射し、4 時間ごとに 48 時間サンプリングした。発現量は *eIF4a* により補正し、0 hr を 1 として示した。y 軸は対数目盛で表した。プロットおよびエラーバーは平均値および SD を表す。図はいずれも文献 11 より抜粋改変した。

光合成反応は、PSI/II および LHC の構成タンパ ク質と結合しているクロロフィルが光エネル ギーを吸収し、励起することにより駆動する。一 方、強光や低温などの環境ストレス条件下におい ては、光エネルギーの過剰な吸収は活性酸素分子 種 (ROS) の発生を誘導し、「光阻害」と呼ばれ る光合成活性の低下を引き起こす。また、タンパ ク質に結合していない遊離のクロロフィルやそ の前駆体も ROS の発生源となることが知られて いる。したがって、ROS 発生を回避し健全な光合 成を遂行するためには、クロロフィル生合成およ び光補修アンテナサイズを厳密かつ最適に制御 することが重要であると考えられている。実際に、 GLK の過剰な活性化によりクロロフィル前駆体 および LHCP が多量に蓄積した植物体において、 光阻害およびそれに起因する細胞死が発生する ことが報告されている21。また、先行研究によっ て、GLKの発現はBR欠損および光によって活性 化されることが知られている 15,22。 さらに我々の 解析によって、暗発芽植物体への光照射条件下に おいて、GLK やその下流の PhANGs は光照射開 始の数時間後という極めて早期に発現上昇が生 じたのに対し、BPG4 は GLK を追うように光照 射開始の12時間後以降に発現上昇が生じている ことが明らかとなった11。そこで我々は、光およ び BR 欠損による GLK 活性化と同調して BPG4 発現が活性化されることにより、BPG4はGLKの 過剰な活性を抑制し、葉緑体の発達を最適化し、 活性酸素の発生を回避する役割を果たしている のではないか、という仮説を立てた。

この BPG4 の生理学的意義に関する仮説を検証するために、過剰な光エネルギーの吸収により誘導される ROS 発生に対する BPG4 の機能解析を行った。第一に、DAB 染色および NBT 染色により、強光照射した野生型株、BPG4 欠損株、BPG4 高発現株を解析した結果、野生型株と比較して BPG4 欠損株においては強光照射による ROS 発生量が増加していたのに対し、BPG4 高発現株においては減少していることが明らかとなった。さらに、強光照射した野生型株、BPG4 欠損株、BPG4 高発現株において、ROS の一種であるスーパーオキシドラジカル  $(O_2^-)$  の発生量を定量的に解

析した結果、O2<sup>-</sup>発生量は野生型株と比較して BPG4 欠損株において増加していた一方、BPG4 高発現株において減少していることが明らかと なった (図 5)。これらの結果より、BPG4 は強光 条件下において過剰な光エネルギーの吸収に よって引き起こされる ROS 発生を抑止する役割 を果たしていると考察された。そこで、BPG4 が ROS 発生の抑制を介して光合成活性の維持に寄

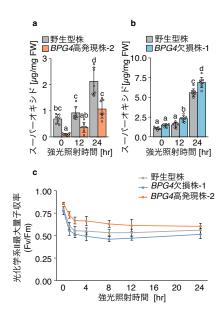


図 5. BPG4 欠損は強光条件下において、ROS 発生の増加と光合成活性の低下を引き起こした

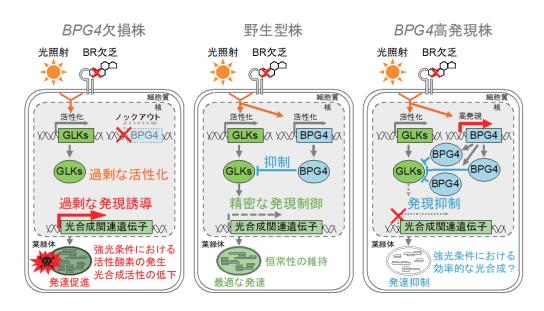
**a**, **b**, 野生型株および *BPG4* 高発現株-2 (a)、野生型株および *BPG4* 欠損株-1 (b) におけるスーパーオキシド内生量の定量的解析。1/2MS 培地において通常光 (長日条件、90  $\mu$ mol photons m²s¹) で8日間生育させた後、0、12、24 時間強光 (700  $\mu$ mol photons m²s¹) 照射した。n=7 (a)、8 (b)。棒グラフおよびエラーバーは平均値および SD を表す。グラフ上のアルファベットは、サンプル間の統計的に有意な差を示す (oneway ANOVA: Tukey-Kramer の多重比較検定、P<0.01)。

c, 野生型株、BPG4 欠損株-1、BPG4 高発現株-2 における強光照射に応じた光化学系 II 最大量子収率 (Fv/Fm) の変動。 1/2MS 培地において通常光 (長日条件、 $90\,\mu$ mol photons  $m^{-2}\,s^{-1}$ ) で 10日間生育させた後、0、1、2、4、8、12、24 時間強光 ( $900\,\mu$ mol photons  $m^{-2}\,s^{-1}$ ) 照射した。 $n \ge 10$ 。プロットおよびエラーバーは平均値および SD を表す。図はいずれも文献 11 より抜粋改変した。

与している可能性を検証するために、強光照射し た野生型株、BPG4 欠損株、BPG4 高発現株にお いて、光合成活性の指標の一つである PSII の最 大量子収率 (Fv/Fm) の解析を行った (図 5)。そ の結果、いずれの植物体においても、強光照射と 共に Fv/Fm が低下したことから、光阻害が発生 していることが確認され、さらにBPG4欠損株は 野生型株よりも Fv/Fm が低下した一方、BPG4高 発現株は強光照射後も野生型株よりも高い値で 維持された (図 5)。これらの結果を統合すると、 BPG4 は強光条件下において、ROS 発生の回避、 および光阻害の抑制に寄与していること、すなわ ち、BPG4 は強光ストレス条件下においても健全 な光合成を行うために働く葉緑体恒常性維持因 子 (葉緑体ホメオスタシスファクター) として 機能していると考察された (図 6)。

#### 6. おわりに

本研究は、光と BR シグナルの下流で機能する 新規葉緑体発達制御因子 BPG4 を単離し、その機 能、発現制御、生理学的意義の解析を行った。現 時点では、BPG4 は ROS 発生および光合成活性 の低下を回避するために、マスター転写因子 GLK の制御を介して葉緑体発達の恒常性を維持 する役目を果たしていると考察している(図6)。 BPG4 による GLK 抑制機構や BPG4 相同性遺伝 子の機能など、BPG4に関しては未解明な点が多 く残されており、今後更なる機能解析を行ってい きたい。また、BPG4 の標的因子である GLK は 農作物への応用的な利用が多数報告されている <sup>23-25</sup>。BPG4 の更なる機能解明は有用作物の光合 成活性向上を通じた大気中の CO<sub>2</sub>削減や農作物・ バイオマスの生産性向上などの応用研究に繋が ることが期待される。



#### 図 6. 葉緑体恒常性維持メカニズムにおける BPG4 機能発現の作業仮説

光照射とBR 欠乏はGLK 発現を誘導し、GLK はクロロフィル生合成遺伝子やLHCP などの光合成関連核遺伝子 (PhANG) の発現を活性化することにより葉緑体の発達を促進する。光照射とBR 欠乏はGLK 発現誘導と同調してBPG4 発現も誘導し、BPG4 はGLK 転写活性を低下させることで葉緑体の発達を抑制する。野生型株においては、GLK と同調的なBPG4 の活性化により、PhANG 発現が精密に制御され、葉緑体の恒常性が維持される (中)。BPG4 欠損株においては、BPG4 欠損により GLK の転写活性が過剰に活性化し、PhANGs の発現が誘導され、光合成装置が余剰に形成され、光エネルギーの過剰吸収を起こり、最終的には活性酸素の発生と光阻害が誘発される (左)。BPG4 高発現株においては、BPG4 が GLK の転写活性を強く阻害し、PhANGs の発現を低下させ、葉緑体の発達を抑制する。その結果、過剰な高照度条件下で ROS 発生を抑え、光阻害を回避することにより、効率的な光合成が行われる可能性がある (右)。図はいずれも文献 11 より抜粋改変した。

#### 謝辞

本研究は、科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)「二酸化炭素資源化」、日本学術振興会 科学研究費助成事業(21K19077, 21H02114, JP23KJ1200)、農研機構・生研支援センター・戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)第3期「豊かな食が提供される持続可能なフードチェーンの構築」の助成によって行われました。また、本稿執筆の機会を与えてくださった、日本光合成学会ならびに編集委員の方々に御礼申し上げます。

Received Feb 19, 2024; Accepted March 4, 2024; Published Apr 31, 2024

#### 参考文献

- Nakano, T. et al. A novel protein with DNA binding activity from tobacco chloroplast nucleoids. The Plant Cell 9, 1673–1682 (1997).
- Cackett, L., Luginbuehl, L. H., Schreier, T. B., Lopez-Juez, E. & Hibberd, J. M. Chloroplast development in green plant tissues: the interplay between light, hormone, and transcriptional regulation. *New Phytologist* 233, 2000–2016 (2022).
- Waters, M. T. et al. GLK Transcription Factors Coordinate Expression of the Photosynthetic Apparatus in Arabidopsis. The Plant Cell 21, 1109–1128 (2009).
- 4. Chory, J., Nagpal, P. & Peto, C. A. Phenotypic and Genetic Analysis of det2, a New Mutant That Affects Light-Regulated Seedling Development in Arabidopsis. *The Plant Cell* **3**, 445–459 (1991).
- 5. Asami, T. & Yoshida, S. Brassinosteroid biosynthesis inhibitors. *Trends in plant science* **4**, 348–353 (1999).
- Komatsu, T. et al. The chloroplast protein BPG2 functions in brassinosteroid-mediated posttranscriptional accumulation of chloroplast rRNA. The Plant Journal: for cell and molecular biology 61, 409–422 (2010).

- 7. Yoshizawa, E. *et al.* BPG3 is a novel chloroplast protein that involves the greening of leaves and related to brassinosteroid signaling. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **78**, 420–429 (2014).
- 8. Yamagami, A. *et al.* Evolutionarily conserved BIL4 suppresses the degradation of brassinosteroid receptor BRI1 and regulates cell elongation. *Sci Rep* 7, 5739 (2017).
- 9. Tachibana, R. et al. BRZ-INSENSITIVE-PALE GREEN 1 is encoded by chlorophyll biosynthesis enzyme gene that functions in the downstream of brassinosteroid signaling. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 86, 1041–1048 (2022).
- Wang, Z. Y. et al. Nuclear-localized BZR1 mediates brassinosteroid-induced growth and feedback suppression of brassinosteroid biosynthesis. *Developmental cell* 2, 505–513 (2002).
- 11. Tachibana, R. *et al.* BPG4 regulates chloroplast development and homeostasis by suppressing GLK transcription factors and involving light and brassinosteroid signaling. *Nat Commun* **15**, 370 (2024).
- 12. He, J. X. *et al.* BZR1 is a transcriptional repressor with dual roles in brassinosteroid homeostasis and growth responses. *Science (New York, N.Y.)* **307**, 1634–1638 (2005).
- 13. Yin, Y. *et al.* A new class of transcription factors mediates brassinosteroid-regulated gene expression in Arabidopsis. *Cell* **120**, 249–259 (2005).
- Yin, Y. *et al.* BES1 accumulates in the nucleus in response to brassinosteroids to regulate gene expression and promote stem elongation. *Cell* 109, 181–191 (2002).
- 15. Yu, X. *et al.* A brassinosteroid transcriptional network revealed by genome-wide identification of BESI target genes in Arabidopsis thaliana. *Plant J* **65**, 634–646 (2011).

- 16. Matsumoto, F. *et al.* Gene Expression Profiling of the Tetrapyrrole Metabolic Pathway in Arabidopsis with a Mini-Array System. *Plant Physiology* **135**, 2379–2391 (2004).
- 17. Wang, Z.-Y., Bai, M.-Y., Oh, E. & Zhu, J.-Y. Brassinosteroid signaling network and regulation of photomorphogenesis. *Annu Rev Genet* **46**, 701–724 (2012).
- Lee, J. et al. Analysis of Transcription Factor HY5 Genomic Binding Sites Revealed Its Hierarchical Role in Light Regulation of Development. The Plant Cell 19, 731–749 (2007).
- Kim, K. et al. PIF1 Regulates Plastid Development by Repressing Photosynthetic Genes in the Endodermis. Molecular Plant 9, 1415–1427 (2016).
- Lee, H. G., Won, J. H., Choi, Y.-R., Lee, K. & Seo, P. J. Brassinosteroids Regulate Circadian Oscillation via the BES1/TPL-CCA1/LHY Module in *Arabidopsis thaliana*. iScience 23, 101528 (2020).

- 21. Li, M. *et al.* Antagonistic modules regulate photosynthesis-associated nuclear genes via GOLDEN2-LIKE transcription factors. *Plant Physiol* kiab600 (2021) doi:10.1093/plphys/kiab600.
- 22. Martín, G. *et al.* Phytochrome and retrograde signalling pathways converge to antagonistically regulate a light-induced transcriptional network. *Nature Communications* 7, 11431 (2016).
- 23. Powell, A. L. T. *et al.* Uniform ripening Encodes a Golden 2-like Transcription Factor Regulating Tomato Fruit Chloroplast Development. *Science* **336**, 1711–1715 (2012).
- Li, X. et al. Maize GOLDEN2-LIKE genes enhance biomass and grain yields in rice by improving photosynthesis and reducing photoinhibition. Commun Biol 3, 1–12 (2020).
- Yeh, S.-Y. et al. Maize Golden2-like transcription factors boost rice chloroplast development, photosynthesis, and grain yield. Plant Physiol 188, 442–459 (2021).

## Analysis for the molecular mechanism to maintain chloroplast homeostasis by a novel factor BPG4 which functioned downstream of light and brassinosteroid signaling

Ryo Tachibana<sup>1</sup>, Ayumi Yamagami<sup>1</sup>, Takuya Miyakawa<sup>1</sup>, Kentaro Ifuku<sup>2</sup>, Tadao Asami<sup>3</sup>, Takeshi Nakano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Biostudies, Kyoto University, <sup>2</sup>Graduate School of Agriculture, Kyoto University, <sup>3</sup>Graduate School of Agricultural and Life Sciences, University of Tokyo

## 研究紹介

## エチオプラスト内膜系における酸性脂質の役割‡

<sup>1</sup>大阪公立大学大学院 理学研究科 <sup>2</sup>日本女子大学 理学部 <sup>3</sup>弘前大学 農学生命科学部 <sup>4</sup>東京大学大学院 総合文化研究科

吉原 晶子1\*、小林 啓子2、永田 典子2、藤井 祥3、和田 元4、小林 康一1

チラコイド膜には、リン脂質のホスファチジルグリセロール(PG)と、硫黄を含む糖脂質のスルホキノボシルジアシルグリセロール(SQDG)が含まれ、どちらも負電荷をもつ酸性脂質である。これらの酸性脂質に関して、光化学系複合体における PG の機能は明らかとなってきたものの、それ以外の役割はよくわかっていなかった。最近著者らは、葉緑体前駆体のエチオプラストに着目したシロイヌナズナの変異体解析から、PG がエチオプラストの内膜系の形成やクロロフィル中間体の合成に不可欠であり、SQDG は PG の機能を補うことを示した。さらに、酸性脂質が膜タンパク質の挙動にも密接に関わることを見出したことを踏まえ、酸性脂質の多面的な機能について議論したい。

#### 1. はじめに

チラコイド膜の脂質分子は、脂質二重層を形成することで、H\*などのイオンの濃度勾配を保つ「界面」や、光合成に関わるタンパク質などを外側から支持する「足場」の役割を担う。さらに、近年の構造解析により、光合成複合体の内部にも脂質分子が大量に含まれることがわかり、脂質は足場としてだけでなく、構成要素の一員としても光合成複合体の機能に関与することが明らかとなった。このように、チラコイド膜における脂質の役割は多岐に渡るが、さらに、その脂質の種類ごとに役割が異なることもわかってきた。

#### 2. PG の役割

チラコイド膜脂質は、糖脂質のモノガラクトシルジアシルグリセロール(MGDG)、ジガラクトシルジアシルグリセロール(DGDG)、スルホキノボシルジアシルグリセロール(SQDG)と、リン脂質のホスファチジルグリセロール(PG)から成る <sup>1</sup>。

リン脂質が主成分の一般的な生体膜とは対照的に<sup>2</sup>、チラコイド膜は糖脂質が主成分であるが<sup>3</sup>、なぜか PG は例外的に一定量含まれる(図 1)。そして、興味深いことに、チラコイド膜に含まれるPG 総量のうち40%近くが光合成複合体に分布し、他の糖脂質と比べて、PG は光合成複合体に集中して局在することが推定されている<sup>1</sup>。

このような特殊性をもつ PG は、シアノバクテリアにおいて主に PSII の活性に必要であることがわかっている(遠藤ら、2015) $^4$ 。 PSII 反応中心に含まれる PG 分子は、QAおよび QB 結合サイトの近傍に位置し $^5$ 、QB の酸化還元電位の維持に寄与することから $^{6,7}$ 、QAから QBへの電子伝達反応に必要とされる $^8$ 。また、これらの PG 分子は全てPSII のサイトゾル側に位置し、ルーメン側の表在タンパク質と直接は結合しないが、間接的にPsbU や PsbV の安定化に寄与することから $^{6,7}$ 、水分解反応に必要とされる $^9$ 。このように、PG分子は PSII のドナー側とアクセプター側の両方の

<sup>‡</sup>研究紹介

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: su23025h@st.omu.ac.jp

反応において重要な機能を担う。また、PSI 反応中心にもPG分子は含まれており10、その詳細な機能は未解明であるものの、PG分子がPSIの活性の維持に必要であることがわかっている11。光化学系反応中心内のPG分子の配置などは、シアノバクテリアから陸上植物に至るまで高度に保存されていることから、PGは酸素発生型光合成において普遍的に重要であると考えられる1。実際に、シアノバクテリアを含め、これまでに調べられてきた全ての酸素発生型光合成生物にとってPG欠損は致死的であり、例えばPGを大幅に失ったシロイヌナズナは光合成をほとんど行えず、糖含有培地でしか生育できない12。

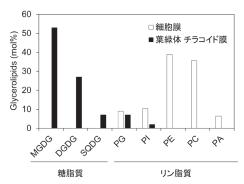


図 1. 糖脂質中心なチラコイド膜の脂質組成

シロイヌナズナから単離された細胞膜<sup>2</sup>と、ホウレンソウから単離された葉緑体チラコイド膜<sup>3</sup>の脂質組成の比較。PG はチラコイド膜に唯一豊富に含まれるリン脂質である。MGDG; モノガラクトシルジアシルグリセロール、DGDG; ジガラクトシルジアシルグリセロール、SQDG; スルホキノボシルジアシルグリセロール、PG; ホスファチジルグリセロール、PI; ホスファチジルイノシトール、PE; ホスファチジルコリン、PA; ホスファチジン酸。

#### 3. SQDG の役割

硫黄を含む糖脂質である SQDG は、親水性頭部のスルホ基に負電荷をもつ。PG もリン酸基に同じく負電荷をもつため、PG と SQDG は共にチラコイド膜の酸性脂質として注目されてきた(図 2)。ただし、PG とは対照的に、酸素発生型光合成生

物における SQDG の要求性や機能は、生物種に よって様々である。SQDG の欠損は、Synechocystis sp. PCC 6803 では致死的であり <sup>13</sup>、 Thermosynechococcus elongatus BP-1<sup>14</sup>  $\stackrel{\triangleright}{\sim}$ Chlamydomonas reinhardtii<sup>15</sup> では光合成活性の低 下を引き起こすが、Synechococcus elongatus PCC 794216 やシロイヌナズナ 17 では生育や光合成に ほとんど影響しない。なぜ SQDG の必要性が種 によって異なるのかは不明であるが、これらのす べての生物に共通して、SQDG の欠損は PG 含量 の増加を引き起こす 14-18。また逆に、PG 合成欠 損変異体や PG が減少するリン欠乏下では、 SODG含量が増加することも知られている14,16,19-<sup>21</sup>。このことから、PG と SQDG は同じ酸性脂質 として量的に相補的な関係にあり、PG が光合成 に必須の役割をもつ一方で、SQDG には、チラコ イド膜の酸性脂質の総量を一定に保つ役割があ ると考えられている。実際に我々は、シロイヌナ ズナの SODG 欠損変異体と PG 欠損変異体の二 重変異体の解析により、PG の合成が十分であれ ば SQDG は生育に必須ではないが、PG の合成に 加え SQDG の合成も阻害されると、光合成や葉 の発達だけでなく、胚や根の成長も阻害されるこ とを明らかにした22。したがって、植物において は、酸性脂質総量の維持は、光合成器官の発達や

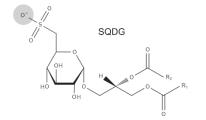


図 2. 酸性脂質である PG と SQDG

PG と SQDG は中性溶液中において、リン酸基またはスルホ基からプロトンを放出することから酸性脂質に分類される。R1,R2; 炭素鎖長 15 または 17 のアルキル基。

機能だけでなく、非光合成器官の発達も含めた植物の生育全般において重要であると考えられる。

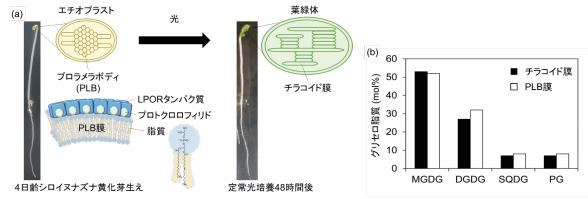
#### 4. エチオプラストにおける酸性脂質の役割

光合成複合体における PG の機能がわかってきているのに対して、脂質二重層における酸性脂質の具体的な機能はほとんどわかっていない。我々は、酸性脂質が脂質二重層でも重要な役割をもつかどうかを明らかにするために、チラコイド膜とよく似た脂質組成で <sup>23</sup> 非光合成内膜系を発達させる色素体のエチオプラストに着目した(図 3)。エチオプラストは、暗所で発芽した被子植物の子葉細胞に発達し、光照射後、葉緑体へと分化する

 $^{24,25}$ 。我々は、エチオプラスト内膜系における酸性脂質の役割を調べるために、シロイヌナズナのPG合成が低下した pgpl-1 変異体、SQDG合成が完全に欠損した sqd1 変異体、そして sqd1 pgpl-1 二重変異体を暗所で発芽させ、黄化芽生えの解析を行った  $^{26}$ 。その結果明らかとなった主な表現型を表 1 に示す。

#### 4.1 エチオプラストにおける酸性脂質の合成

植物の PG 合成経路では、ホスファチジルグリセロリン酸(PGP)合成酵素が、シチジンニリン酸ジアシルグリセロールとグリセロール 3-リン酸から PGP を合成し、PGP は PGP ホスファターゼ



### 図 3. 葉緑体前駆体のエチオプラストに発達する内膜系

(a) 光に応じた色素体分化。黄化芽生えのエチオプラストにはプロラメラボディ(PLB)とよばれる格子状の内膜系が発達する。PLB 膜の表面は、光依存的なプロトクロロフィリド還元酵素(LPOR)で覆われ、LPOR の活性部位にはプロトクロロフィリドが結合して蓄積している。光照射により、LPOR が瞬時にプロトクロロフィリドをクロロフィリドへと還元し、徐々にクロロフィルが蓄積し始める。数時間後には大部分の LPOR タンパク質が分解され、PLB が崩壊して層状のチラコイド膜へと構造変化する。(b) チラコイド膜と PLB 膜の脂質組成。ホウレンソウから単離された葉緑体チラコイド膜³と、コムギから単離されたエチオプラストの PLB 膜²3 の脂質組成を比較した。チラコイド膜にわずかに含まれる PI は省略した。PLB の構造はチラコイド膜と大きく異なるが、膜の脂質組成はよく似ている。

表 1.	酸性脂質変異体の黄化芽	生えの主な表現型 💯

	脂質組成		PLBの	LPORタンパク質	Pchlide Ø	LPORに結合した
	SQDG	PG	格子構造	の蓄積量	蓄積量	Chlideの低温蛍光 ピークシフト
sqd1	完全に欠損	平均値は 約35%高いが、 有意差なし	野生株と同様	野生株と同様	野生株と同様	野生株よりも 遅い
pgp1-1	平均値は 約35%高いが、 有意差なし	平均値は 約25%低いが、 有意差なし	緩んだ 不規則な構造	野生株と同様	約40%減少	野生株よりも 速い
sqd1 pgp1-1	完全に欠損	平均値は 約25%低いが、 有意差なし	pgp1-1よりも さらに乱れる	約60%減少	約70%減少	pgp1-1よりも さらに速い

により PGへと脱リン酸化される。シロイヌナズナの pgp1-1 変異体では、主要な PGP 合成酵素である PGP1 にアミノ酸一置換変異(P170S)が入ることで、酵素活性が 80%減少している  $^{27}$ 。 pgp1-1 黄化芽生えの脂質組成を調べたところ、総脂質に占める PGの割合は野生株よりも減少傾向にあったが、統計的有意差はなかった。 pgp1-1 変異による PG 総量への影響が小さいことは、明所生育の pgp1-1 でも確かめられており  $^{27}$ 、残存する PGP1 活性や小胞体アイソフォームの PGP2 が関係していると推測される。

一方、植物の SQDG 合成経路では、ウリジンニ リン酸スルホキノボース (UDP-SQ) 合成酵素 (SQD1)が、亜硫酸イオンと UDP-グルコースから UDP-SQ を合成し、UDP-SQ の SQ 基が SQDG 合 成酵素によってジアシルグリセロールに転移さ れ、SQDG が合成される。SQD1 をノックアウト したシロイヌナズナの sqd1 変異体は、SQDG を 完全に欠損する <sup>29</sup>。この明所生育での報告と一致 して、sqd1 黄化芽生えも SQDG を完全に欠損し ていた。

pgp1-1 黄化芽生えおよび sqd1 黄化芽生えでは、 それぞれ SQDG または PG による量的相補の傾 向がみられ、PG と SQDG を合わせた酸性脂質の 割合が一定に保たれた。一方、sqd1 pgp1-1 では酸 性脂質の割合が大幅に減少した。

## 4.2 エチオプラスト内膜系の形成における酸性 脂質の役割

エチオプラストの内部には、プロラメラボディ (PLB)とよばれるチューブ状の膜が規則的に分岐した格子状の内膜系が発達する。pgp1-1 変異体では、PG 総量へのわずかな影響とは対照的に、PLB の形成が強く影響を受け、不規則な格子構造となった(図4)。一方、sqd1 変異体では SQDG を完全に欠損したにもかかわらず、野生株と同様のPLB が発達した。したがって、PG は PLB の格子構造の形成に不可欠である一方で、SQDG は必要ないことが示された。ただし、sqd1 pgp1-1 二重変異体では pgp1-1 よりもさらに PLB 構造が乱れ、内膜系の発達が強く阻害されたことから、SQDGは PLB 形成において特異的な機能をもたないも

のの、PG の機能を補う上で重要であることが示唆された。

PLB 膜の表面は、クロロフィル合成中間体であ るプロトクロロフィリド(Pchlide)を光依存的に クロロフィリド(Chlide)へと変換する Pchlide 還元 酵素(LPOR)のオリゴマーで覆われており、PLB の形成には LPOR タンパク質が不可欠である 30。 LPOR タンパク質のレベルは、sqd1 pgp1-1 では約 60%減少した一方で、sqd1 や pgp1-1 では減少し なかった。これまでに、PGとLPOR タンパク質 の相互作用が in vitro で報告されており 31、さら に pgp1-1 黄化芽生えで、LPOR タンパク質の減 少を伴わずに PLB の格子構造形成が阻害された ことから、PLB の脂質二重層中の PG 分子が、 LPOR タンパク質と PLB 膜の相互作用に寄与す ることで、PLB の格子構造の形成に強く関わる可 能性が示された。PLB の格子構造の形成メカニズ ムは未だにわかっていないが、我々の研究により、 タンパク質だけでなく膜の脂質組成も鍵を握っ ていることがわかり、特にPGの重要性が示され た。

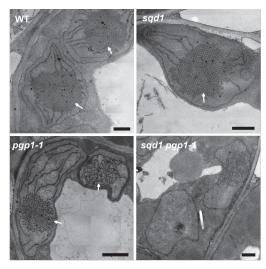


図 4. 酸性脂質変異体の PLB 格子構造 透過型電子顕微鏡により、黄化芽生え子葉 のエチオプラストの微細構造を観察した。 矢印は PLB を示す。スケールバーはすべて 500 nm。 文献(26)より一部改変。

## **4.3** エチオプラストの **Pchlide** 蓄積における酸性 脂質の役割

LPOR による Pchlide から Chlide への変換には 光が必要なため、暗所で発芽した黄化芽生えには、 Pchlide がクロロフィル合成経路の中間体として 蓄積する。sqd1 の Pchlide 総量は野生株と同等 だったのに対して、pgp1-1 や sqd1 pgp1-1 の Pchlide 総量は、野生株よりもそれぞれ約 40%、 70%と大きく減少した。そこで、植物体に過剰量 の 5-アミノレブリン酸(ALA)を与え、Pchlide 合成 の各反応が正常に行えているかを評価した。sqd1 では野生株と同様に、Pchlide 合成中間体はほと んど蓄積しなかったが、pgp1-1 や sqd1 pgp1-1 で は、Pchlide 量の減少分と同等の合成中間体が蓄 積し、中でも特に Protoporphyrin IX (Proto IX)が著 しく蓄積した(図 5)。したがって、PG 欠乏により、 Proto IX に Mg を配位する反応が強く阻害される ことが明らかとなった。Mg配位を触媒する酵素 Mg-chelatase は膜上で高い活性を示すため 32、脂 質二重層中のPGが酵素の活性などに関与する可 能性が考えられるが、PG のテトラピロール合成 への関与を明らかにするには、今後のさらなる研 究が必要とされる。

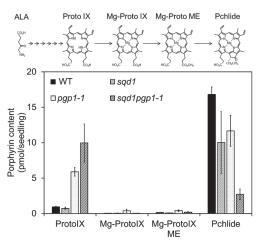


図 5. 酸性脂質変異体のエチオプラストに おける Pchlide 合成

黄化芽生えに過剰量の ALA を添加培養し、Pchlide 合成中間体の蓄積量を定量した。Pchlide 合成経路の一部を上に示す。Mg-Proto IX; Mg-Proto IX Mg-Proto IX Mg-Protoporphyrin IX monomethylester。 文献(26)より一部改変。

### 4.4 光照射後の LPOR の挙動への酸性脂質の関 与

PLB 膜上の LPOR は、基質である Pchlide と、 電子供与体である NADPH を結合した、複合体の 形で存在している。光照射後、LPOR はサブミリ 秒で Pchlide を Chlide へ変換し、その後、生成し た Chlide と NADP+を、新規の Pchlide と NADPH に交換する30。黄化芽生えの子葉を用いた低温蛍 光スペクトル解析より、酸性脂質は、LPOR によ る光変換反応そのものには関与しないことが示 された。しかし興味深いことに、光変換後の複合 体の状態変化を反映する低温蛍光のピークシフ トは、pgp1-1 では速く、sqd1 pgp1-1 ではさらに 速くなった一方で、sqd1では遅くなった。一つの 仮説として、反応後の NADP+の交換が、pgp1-1 や sqd1 pgp1-1 では速く、sqd1 では遅い可能性が考 えられる。sqd1 における PG の増加が、pgp1-1 や sqd1 pgp1-1 における PG の減少と正反対の作用 を LPOR 複合体の挙動に及ぼしたとすると、エチ オプラスト膜中の PG の割合が、光変換後の複合 体の挙動を決める一つの因子となっているのだ ろう。

#### 5. おわりに

エチオプラスト内膜系に着目した研究により、 酸性脂質が光合成複合体の機能だけでなく、膜構 造の形成や膜上での色素代謝においても重要で あることが明らかとなった。比較的量の少ない酸 性脂質が、流動的な脂質二重層においてどのよう なメカニズムで各プロセスに関与するのかにつ いては、今後の大きな研究課題である。PG が特 定の膜タンパク質と相互作用し、その機能と密接 に関わる可能性が示されたため、それを手掛かり とした PG の新たな機能の解明が期待される。ま た、SQDGがPGの機能を相補することがエチオ プラストの膜においても確かめられたが、それと 同時に、SQDG と PG の量的なバランスが膜上の タンパク質複合体の挙動に大きく影響する可能 性も見出された。SQDG が特異的な機能をもつ可 能性についても、今後検証していく必要があるだ ろう。

#### 謝辞

本研究は、JSPS 科研費(18H03941, 20K06691, 22H05076)の助成を受けて行われました。また、本稿執筆の機会をくださった日本光合成学会および編集委員会の方々にこの場をお借りし感謝申し上げます。

Received Feb 7, 2024; Accepted Feb 28, 2024; Published Apr 31, 2024

#### 参考文献

- Yoshihara, A. & Kobayashi, K. Lipids in photosynthetic protein complexes in the thylakoid membrane of plants, algae, and cyanobacteria. J. Exp. Bot. 73, 2735–2750 (2022).
- Uemura, M., Joseph, R. A. & Steponkus, P. L. Cold acclimation of Arabidopsis thaliana (effect on plasma membrane lipid composition and freeze-induced lesions). Plant Physiol. 109, 15– 30 (1995).
- 3. Dorne, A. J., Joyard, J. & Douce, R. Do thylakoids really contain phosphatidylcholine? Proc. Natl. Acad. Sci. **87**, 71–74 (1990).
- 4. 遠藤嘉一郎, 小林康一, & 和田元. 光合成タンパク質複合体と脂質 (解説特集 光合成と脂質). 光合成研究 News Lett. Jpn. Soc. Photosynth. Res. 25, 116-125 (2015).
- 5. Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J.-R. & Kamiya, N. Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. Nature 473, 55–60 (2011).
- 6. Endo, K. et al. Site-directed mutagenesis of amino acid residues of D1 protein interacting with phosphatidylglycerol affects the function of plastoquinone QB in photosystem II. Photosynth. Res. **126**, 385–397 (2015).
- Endo, K. et al. Site-directed mutagenesis of two amino acid residues in cytochrome b 559 α subunit that interact with a phosphatidylglycerol molecule (PG772) induces quinone-dependent inhibition of photosystem II activity. Photosynth. Res. 139, 267–279 (2019).
- Gombos, Z. et al. Phosphatidylglycerol requirement for the function of electron acceptor plastoquinone Q B in the photosystem II reaction center. Biochemistry 41, 3796–3802 (2002).

- Sakurai, I., Mizusawa, N., Ohashi, S., Kobayashi, M. & Wada, H. Effects of the lack of phosphatidylglycerol on the donor side of photosystem II. Plant Physiol. 144, 1336–1346 (2007).
- Jordan, P. et al. Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 Å resolution. Nature 411, 909–917 (2001).
- Domonkos, I. et al. Phosphatidylglycerol is essential for oligomerization of photosystem I reaction center. Plant Physiol. 134, 1471–1478 (2004).
- Kobayashi, K., Endo, K. & Wada, H. Multiple impacts of loss of plastidic phosphatidylglycerol biosynthesis on photosynthesis during seedling growth of Arabidopsis. Front. Plant Sci. 7, 336 (2016).
- Aoki, M., Sato, N., Meguro, A. & Tsuzuki, M. Differing involvement of sulfoquinovosyl diacylglycerol in photosystem II in two species of unicellular cyanobacteria. Eur. J. Biochem. 271, 685–693 (2004).
- Endo, K., Kobayashi, K. & Wada, H. Sulfoquinovosyldiacylglycerol has an essential role in Thermosynechococcus elongatus BP-1 under phosphate-deficient conditions. Plant Cell Physiol. 57, 2461–2471 (2016).
- Sato, N. et al. Isolation and characterization of mutants affected in lipid metabolism of Chlamydomonas reinhardtii. Eur. J. Biochem. 230, 987–993 (1995).
- Güler, S., Seeliger, A., Härtel, H., Renger, G. & Benning, C. A null mutant of Synechococcus sp. PCC7942 deficient in the sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerol. J. Biol. Chem. 271, 7501–7507 (1996).
- 17. Yu, B., Xu, C. & Benning, C. Arabidopsis disrupted in SQD2 encoding sulfolipid synthase is impaired in phosphate-limited growth. Proc. Natl. Acad. Sci. 99, 5732–5737 (2002).
- Sugimoto, K., Midorikawa, T., Tsuzuki, M. & Sato, N. Upregulation of PG synthesis on sulfurstarvation for PS I in Chlamydomonas. Biochem. Biophys. Res. Commun. 369, 660–665 (2008).
- 19. Riekhof, W. R., Ruckle, M. E., Lydic, T. A.,
   Sears, B. B. & Benning, C. The sulfolipids 2' O-acyl-sulfoquinovosyldiacylglycerol and sulfoquinovosyldiacylglycerol are absent from a

- Chlamydomonas reinhardtii mutant deleted in SQD1. Plant Physiol. **133**, 864–874 (2003).
- Essigmann, B., Güler, S., Narang, R. A., Linke, D. & Benning, C. Phosphate availability affects the thylakoid lipid composition and the expression of SQD1, a gene required for sulfolipid biosynthesis in Arabidopsis thaliana. Proc. Natl. Acad. Sci. 95, 1950–1955 (1998).
- 21. Yu, B. & Benning, C. Anionic lipids are required for chloroplast structure and function in Arabidopsis. Plant J. **36**, 762–770 (2003).
- 22. Yoshihara, A., Nagata, N., Wada, H. & Kobayashi, K. Plastid anionic lipids are essential for the development of both photosynthetic and non-photosynthetic organs in Arabidopsis thaliana. Int. J. Mol. Sci. 22, 4860 (2021).
- 23. Selstam, E. & Sandelius, A. S. A comparison between prolamellar bodies and prothylakoid membranes of etioplasts of dark-grown wheat concerning lipid and polypeptide composition. Plant Physiol. **76**, 1036–1040 (1984).
- 24. Solymosi, K. & Schoefs, B. Etioplast and etiochloroplast formation under natural conditions: the dark side of chlorophyll biosynthesis in angiosperms. Photosynth. Res. **105**, 143–166 (2010).
- Kowalewska, Lucja, Mazur, R., Suski, S., Garstka, M. & Mostowska, A. Threedimensional visualization of the tubular-lamellar transformation of the internal plastid membrane network during runner bean chloroplast biogenesis. Plant Cell 28, 875–891 (2016).
- 26. Yoshihara, A. et al. Anionic lipids facilitate membrane development and protochlorophyllide biosynthesis in etioplasts. Plant Physiol. kiad604 (2023).

- 27. Xu, C. et al. The pgp1 mutant locus of Arabidopsis encodes a phosphatidylglycerolphosphate synthase with impaired activity. Plant Physiol. 129, 594–604 (2002).
- Tanoue, R., Kobayashi, M., Katayama, K., Nagata, N. & Wada, H. Phosphatidylglycerol biosynthesis is required for the development of embryos and normal membrane structures of chloroplasts and mitochondria in Arabidopsis. FEBS Lett. 588, 1680–1685 (2014).
- 29. Okazaki, Y. et al. A chloroplastic UDP-glucose pyrophosphorylase from Arabidopsis is the committed enzyme for the first step of sulfolipid biosynthesis. Plant Cell **21**, 892–909 (2009).
- 30. Masuda, T. & Takamiya, K. Novel insights into the enzymology, regulation and physiological functions of light-dependent protochlorophyllide oxidoreductase in angiosperms. Photosynth. Res. **81**, 1–29 (2004).
- 31. Nguyen, H. C., Melo, A. A., Kruk, J., Frost, A. & Gabruk, M. Photocatalytic LPOR forms helical lattices that shape membranes for chlorophyll synthesis. Nat. Plants 7, 437–444 (2021).
- 32. Adhikari, N. D., Orler, R., Chory, J., Froehlich, J. E. & Larkin, R. M. Porphyrins promote the association of GENOMES UNCOUPLED 4 and a Mg-chelatase subunit with chloroplast membranes. J. Biol. Chem. **284**, 24783–24796 (2009).

### Roles of anionic lipids in etioplast membranes

Akiko Yoshihara<sup>1</sup>, Keiko Kobayashi<sup>2</sup>, Noriko Nagata<sup>2</sup>, Sho Fujii<sup>3</sup>, Hajime Wada<sup>4</sup>, Koichi Kobayashi<sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Department of Biology, Graduate School of Science, Osaka Metropolitan University
- <sup>2</sup> Department of Chemical and Biological Sciences, Faculty of Science, Japan Women's University
  - 3 Department of Biology, Faculty of Agriculture and Life Science, Hirosaki University
  - <sup>4</sup> Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo

## 解説特集

## 多様な時間スケールから見る光合成生物

	Editor:藤田 祐一(名古屋大)、山本 治樹(名古屋	建大)
序文	藤田 祐一(名古屋大)、山本 治樹(名古屋大)	39
解説	単一分子分光を用いた揺らぎ解析手法で探る光合成光反応系の動的な挙動 近藤 徹 (自然科学研究機構)	40
解説	緊縮応答による時間スケールの葉緑体代謝・植物の生長制御 根本 岳忠、増田 真二 (東工大)	54
解説	宇宙生物学的視点から捉える光合成生物と地球の共進化 松尾 太郎他 (名古屋大)	63

## 解説特集

## 序文‡

### 名古屋大学大学院生命農学研究科 藤田 祐一、山本 治樹

さまざまな生命現象を理解する切り口として、注目する時間スケールによって見えてくるものが変わります。非常に短い時間スケール(ピコ秒~ミリ秒)であれば、電子の移動、アミノ酸残基の揺らぎやタンパク質のコンフォーメーション変化、酵素の作用による基質の生成物への変換、もう少し長い時間スケール(秒~時間~日)であれば、転写翻訳を介したタンパク質の新規合成、調節系の作動による代謝の変化、細胞の分裂、器官の形成、生長などの発生的な過程ともう少し巨視的な視点が含まれてきます。さらに時間を伸ばすと(月~年)、生物の季節変動、個体の世代交代、生物群集の動態、さらに伸ばしていくと(年~1000万年)、種の分化といった進化の視点が現れ、そして最長の時間スケール(億年以上)まで伸ばすと、門レベルの生物群の進化まで捉えるということになります。これはどのような生命現象でも適用可能な考え方だと思います。もちろん現象によってはある時間スケールの幅に限定されてしまうと思いますが。

一方、生命現象を光合成とすると、時間スケールの捉え方が短い方にも長い方にも大きく広がるように感じます。光合成では、光エネルギーを化学エネルギーに転換するシステムであることで、非常に短い時間スケール、つまり光合成の光反応初期過程を扱います。この時間スケールでは、光の吸収から励起エネルギー移動という非常に短い時間(フェムト秒〜ピコ秒)で生じる現象を捉えることになります。もちろん、光合成以外でも光を利用する反応としてロドプシンによる光の吸収、フォトリアーゼによる DNA 修復など、光によって駆動する反応系ももちろんありますが、非光合成生物の主要なエネルギー獲得形態が化学エネルギーの転換であることから、光反応のような非常に短い時間スケールで観測することは少ない気がします。一方、長い方の時間スケールを見ると、光合成というエネルギー転換形態は、太陽から地球にふりそそぐ光エネルギーを使って全球的な環境変動を引き起こし、その結果、地球と生物圏の共進化という視点が現れます。地球と生物の共進化は最長の時間スケールの一現象と見ることができます。もちろん、主に分子生物学的手法による研究で焦点を当てる時間スケール(分〜日)においても、光合成生物だからこその固有の局面を見ることができます。

今回の解説特集「多様な時間スケールから見る光合成生物」では3つの解説記事を掲載しました。最初の解説記事は「単一分子分光を用いた揺らぎ解析手法で探る光合成光反応系の動的な挙動」というタイトルで近藤徹氏(東工大)に、光合成の最も短い時間スケールの研究の最前線を紹介していただきました。2本目の解説記事は「緊縮応答による時間スケールの葉緑体代謝・植物の生長制御」というタイトルで根本岳忠・増田真二両氏(東工大)に、もう少し長い時間スケール(分~時間)で、葉緑体に焦点を当てて、グアノシン 4 リン酸を介した緊縮応答による植物の生長制御について解説していただきました。3本目の解説記事では「宇宙生物学的視点から捉える光合成生物と地球の共進化」というタイトルで松尾太郎氏(名古屋大)他 6 名に、シアノバクテリアと地球の共進化という視点で、現在遠方から青いドットとして観測される地球の姿とは異なり、かつて緑のドットに見えた時代があり、その緑の海洋環境を作り出したシアノバクテリアがたどった進化について解説していただきました。1フェムト秒( $10^{-15}$ 秒)から 35 億年( $10^{17}$ 秒)という 10 の 32 乗にわたる壮大な時間スケールの光合成をめぐる旅を堪能していただければと思います。

<sup>&</sup>lt;sup>‡</sup>解説特集「多様な時間スケールから見る光合成生物」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: fujita@agr.nagoya-u.ac.jp haruki@agr.nagoya-u.ac.jp

## 解説

## 単一分子分光を用いた揺らぎ解析手法で探る光合成光反応系の動的な挙動‡

自然科学研究機構 基礎生物学研究所・生命創成探究センター 近藤 徹

光合成生物が太陽光を吸収すると生体内では fs ~ ps という超短時間スケールで光化学反応が生じる。 光反応を制御するのは光捕集アンテナや反応中心と呼ばれる色素タンパク質である。これまでに様々な分光測定および理論計算から、光反応制御機構が研究されてきた。しかし、より長時間領域まで視野を広げて眺めてみると、タンパク質構造や生体環境は絶えず変動しており、描像も変わってくる。特に、熱エネルギーに起因する構造揺らぎは生体系に普遍的な現象といえるが、その影響や役割については分かっていない。筆者らは、単一分子分光を用いた光学特性の揺らぎ解析手法を駆使し、光合成光反応系の動的な振る舞いについて調べてきた。本稿では、光捕集アンテナの光保護機構と反応中心の光反応過程に関する研究結果について紹介する。

#### 1. はじめ

光合成光反応は色素分子が多数結合した色素結 合タンパク質で制御され、色素分子間の相互作用 を介して、光吸収、光エネルギー移動、電荷分離、 電子移動などの光化学過程が連鎖的に生じる。こ れらの反応量子収率はほぼ100%に達しており、 理想的な系として動作機構が長年調べられてい る。X線結晶回折法やクライオ電子顕微法などの 発展に伴い、様々な光合成タンパク質の詳細構造 が解かれ、原子スケールの構造情報を基にした分 光データ解析や理論計算などが可能となった 1-3。 これらにより、タンパク質内の分子配置や分子間 相互作用が巧みに最適化されていることが分 かってきた。一方で、分子動力学(MD)を用い たシミュレーション計算などから、タンパク質構 造が熱的に揺らぐことも示されている 47。これ は熱エネルギーに起因するランダムな構造変化 であり、生理環境下で機能する生体系では普遍的 な現象と言える。構造自由度の大きい生体系では、

時間的・空間的・エネルギー的に幅広い階層で揺 らぎが生じている 8。 色素の結合部位周辺で生じ るミクロな領域での構造揺らぎなどは、一見する と影響が小さいように思える。しかし、色素分子 の物性は、近傍アミノ酸分子や隣接する色素分子 との相互作用に大きく依存しており、相対配置の 僅かな変化に対しても敏感に応答する。したがっ て、局所的な構造揺らぎといえども光反応過程に 大きな摂動を与え得る。さらに、タンパク質は環 境変化に応じて骨格構造が変化することも知ら れている。特に、光合成光捕集アンテナタンパク 質はpH 環境の変化に応じて構造が変化し、光反 応活性が変動すると示唆されていた9。実際の生 体内では、太陽の日差しが強まるとチラコイド内 腔の pH が低下し、それに伴って光保護機構の 1 つである非光化学的消光 (NPQ) 機能が発現する ことが分かっており 10-14、pH 応答型の構造変化 が重要な鍵を握っているに違いない。

<sup>\*</sup>解説特集「多様な時間スケールから見る光合成生物」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: tkondo@bio.titech.ac.jp

ここで、光合成光反応と構造変化の時間スケー ルについて考えてみる(図1)。まず、光吸収か ら光エネルギー移動を経て電荷分離に至るまで の光反応初期過程は fs~ps の超短時間スケール で生じている。それに続く形で ps~μsの電子移 動が生じる。構造揺らぎについては、どのような 階層の構造揺らぎを想定するかで時間スケール が大きく異なるが、ここでは光反応過程に影響を 与える色素分子近傍の局所的なものを考えてみ る。まず、局所的な構造揺らぎによりタンパク質 に結合する機能分子の光学特性が不均一にバラ つくため、多数のタンパク質粒子を含む溶液試料 で測定した分光スペクトルはある程度の幅(不均 一幅)を持つ。そこで、不均一幅よりも狭帯域の レーザー光を照射し、一部の粒子だけを光励起し て信号を飽和もしくは光退色させると、その波長 領域だけ信号強度が減少するため、スペクトルに 穴が空いたように見える(これをホールバーニン グ効果と呼ぶ 15-17)。その後、構造揺らぎにより、 消失した状態と同じような光学特性を持つ構造 状態が増えていくため、時間とともに穴が埋まり、 最終的に元のスペクトルに戻る。したがって、ス ペクトルに空いた穴の過渡的な回復過程を観測 すれば、構造揺らぎの時定数を定量評価できる。 このようなホールバーニング実験がヘムタンパ ク質で行われており、常温における機能分子近傍 の構造揺らぎが ns 程度の時間スケールで生じる と見積られている18。さらに蛍光揺らぎの解析か ら、μs~ms 程度で生じるよりスケールの大きな 構造揺らぎも報告されている 19-20。一方で、pH 応 答型の構造変化は、光反応に付随したプロトンの 蓄積によって誘起される。晴天環境を想定してク ロロフィル (Chl) 分子 1 つ当たりの励起頻度を 見積もると数十msに1回程度になるので、数百 個の色素が結合する反応系全体を考えた場合は 数十 µs に 1 回程度の割合で一連の光反応が生じ ることになる。これが連続的に生じてチラコイド 内腔の pH が変化するので、pH 応答型の構造変 化は ms~s 時間スケールで生じるものと考えら れる。このように、光合成系では光反応・構造揺 らぎ・環境応答型の構造変化・太陽光吸収イベン トが fs~s の幅広い時間スケールで生じている

(図1)。これまでの光合成光反応機構の議論では主に fs ~ ps の超短時間領域が考えられてきたが、長時間領域まで視野を広げてみると、光合成系はタンパク質構造ビュワーで眺めるような静的で整然としたものではなく、絶えずガチャガチャと動くギミック満載の動的な姿に豹変する。より現実に即した形で光合成光反応系を理解するには、長時間領域で生じる構造変化まで考慮した議論が必要不可欠である。そこで本稿では、単一分子分光法を用いた揺らぎ解析から新たに見えてきた光合成系の動的な振る舞いについて概説する。

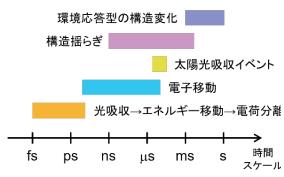


図 1. 光合成光反応およびタンパク質構造変化の時間スケールの概要

## 2. 光捕集アンテナタンパク質の光反応活性の揺らぎ

酸素発生型光合成に関わる光化学反応はチラコ イド膜内に埋め込まれた光捕集アンテナ (LHC) タンパク質と反応中心 (RC) タンパク質で生じる (図 2A)。複数の Chl 分子を結合しており、光 の吸収から光エネルギー輸送、それに続く電荷分 離や電子移動など、一連の光化学反応過程が分子 を介して連鎖的に生じる。光化学系 II (PS II) RC では、電荷分離で失った電子を補給するために水 分子を酸化する。結果として、光反応に付随して チラコイド内腔にプロトンが蓄積し、pH が低下 する。プロトン濃度が上昇すると ATP 合成酵素 が活性化し、後の炭素固定反応に必須となる ATP が合成される。このように、ナノメートルサイズ の微小空間に色素分子・タンパク質・生体膜・細 胞媒質を巧みに配置し、光エネルギー・電子・プ ロトン・物質などの流れを制御することで、高度 に組織化された化学プラントを構築している。

タンパク質に埋め込まれた色素分子の相対配置 や結合様式は最適化されており、光合成光反応の 効率は非常に高い。そのおかげで、太陽光の光量 が少ない弱光環境(何かの物陰に隠れたり、曇り の日など)であっても安定して光合成を行える。 一方で、直射日光を浴びるような強光環境下では 光反応効率の高さが逆に仇となり、過剰に吸収さ れた光エネルギーにより様々な酸化ストレスが 引き起こされ、系自身が損傷してしまう。このよ うな光阻害に対処するため、光合成系には NPQ と呼ばれる光保護機構が備わっている。鍵となる のがカロテノイド (Car) 分子であり、Chl から光 エネルギーを受け取ると熱として散逸し、エネル ギーを捨て去ることができる。つまり、Car は光 化学反応を抑制するブレーキとしての役割を 担っている。人が車を運転する際には、周囲の状 況を注意深く観察しながらアクセルとブレーキ のバランスを調整し、一定の速度で安定に走行す る。では、色素分子・タンパク質・生体膜・細胞 媒質から構成させる生体系では、どのようにバラ ンスを維持しているのだろうか?。この問いに答 えるには、Chl と Car 間での光エネルギーのやり

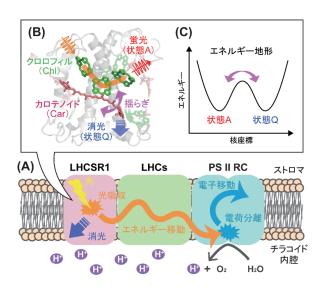


図 2. (A) 緑藻やコケ類で生じる酸素発生型光合成反応の模式図。 (B) 光捕集アンテナ LHCSR1 の構造モデル。Chl-Car 近傍の構造揺らぎを桃色矢印で示した。 (C) タンパク質構造のポテンシャルエネルギー地形の概略図。

熱エネルギーにより、2つの準安定状態(Active, A と Quench, Q) の間で確率的な遷移が生じる。

取りを観察できる実験アプローチが必要となる。 そこで、Chl-Car 近傍の局所的な構造状態を調べ られる単一分子分光法を用いて解析を行った 21。 緑色植物では NPO 制御因子として PsbS タンパ ク質が機能している22。緑藻やコケ類においても PsbS は保存されているが 23-24、NPQ への寄与は 小さい 25-26。代わりに NPQ 制御の主要因子とし て LHCSR1 が機能している <sup>25, 27</sup>。8 個の Chl と 4 個の Car を結合する光捕集アンテナタンパク質 であり 28-29、強光環境下で過剰に発現して光保護 機能に関与する <sup>27, 30-31</sup>。 そこで、LHCSR1 に His タグを付け、ガラス基板上に修飾した Ni リン カーと結合させることで、タンパク質を1粒子ず つ基板上に固定した(図 3A)。共焦点顕微鏡で 蛍光イメージを測定すると複数の輝点が確認で きた(図3B)。これらの輝点1つ1つが LHCSR1 タンパク質粒子に対応している。そこで、各々の 輝点位置で蛍光の経時変化を測定した。時間相関 単一光子計測器 (TCSPC) を用いることで、蛍光 の強度と寿命の時間的な揺らぎを同時に測定で きる。例の1つを図3Cに示す。励起光を照射す ると同時に蛍光が観測され、時間とともに強度が 乱高下を繰り返す(青線)。それと同期して蛍光 寿命も大きく変動した(橙線)。そのため、時間 帯ごとに蛍光強度と寿命の2つのパラメータを 見積もることができる。これらを強度と寿命の 2次元グラフ上にプロットすると、蛍光特性の 統計的な分布マップを得ることができる(図 4A) 左)。 蛍光強度が大きく寿命が長い状態 A と、 強度が小さく寿命が短い状態 Q の 2 つが観測さ れた。さらに、刻一刻と変動する蛍光強度と寿命 の変化量の二次元分布を求め、状態間での遷移 の頻度を可視化した(図 4A 右)。グラフ右上の 分布は正方向の変化を示しており、O→A の状態 遷移に対応する。逆に、グラフ左下の負方向の変 化を示す分布は A→Q の遷移に対応する。つま り、蛍光特性が状態 A と Q の間で激しく変動す るダイナミクスを定量化できたことに相当する。 このように、タンパク質が取り得る状態の統計 分布を解析できるのが単一分子分光の強みであ る。通常の溶液測定では大量のタンパク質粒子

の平均的な状態しか解析できないのに比べ、得られる情報が格段に増える。

ここで、蛍光信号の揺らぎの由来について考え てみる。単離されたアンテナタンパク質では、吸 収した光エネルギーは最終的にエネルギー準位 が低い Chl から蛍光として放出される(図 2B)。 もし Car が近接していたら、Chl→Car のエネル ギー移動が生じ、Carで熱に変換されて散逸され る。結果として、蛍光強度が大幅に減少する。さ らに、蛍光放出過程と Car へのエネルギー移動過 程の2つが競合するため、蛍光の寿命も大きく減 少することになる。実際のタンパク質内では熱的 な構造揺らぎの影響で Chl と Car の相対配置が 絶えず変動しており、それが蛍光の強度と寿命の 時間的な揺らぎとして直接観測されたと解釈で きる。 蛍光強度が大きく寿命が長い状態 A は、 Chl と Car 間の距離が長く、Car へのエネルギー 移動が競合しない光反応活性が Active な状態で ある。一方で、蛍光強度が小さく寿命が短い状態 Q は、Car が Chl に近づいて熱散逸が生じる Quench 状態となる。タンパク質構造のエネル ギー地形を考えた場合、これら2つの構造状態は ポテンシャルエネルギーの山で仕切られている

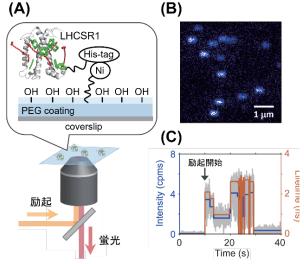


図 3. (A) 共焦点顕微鏡を用いた単一 LHCSR1 タンパク質の分光測定。タンパク質はガラス基板表面にリンカーを介して固定した。 (B) LHCSR1 タンパク質粒子の蛍光イメージ。 (C) 単一 LHCSR1 粒子で測定した蛍光の強度(青)と寿命(橙)の経時変化。

文献21より改変して転載。

が、熱エネルギーの助けを借りてある確率で行き来する(図 2C)。これが構造揺らぎであり、蛍光特性の揺らぎを調べることでChl-Car 近傍で生じる確率的な構造状態の遷移を解析できる。

## 3. pH および Car 組成の変化が構造揺らぎ特性に及ぼす影響

強光が照射された際の生体内では、光エネル ギーが大量に PS II に輸送されて水の酸化反応が 促進されるため、チラコイド内腔の pH が低下す る(図2A)。このpH低下がNPQのトリガーに なると考えられている。そこで、低 pH 条件で LHCSR1 の蛍光揺らぎを解析したところ、より蛍 光強度が小さく寿命が短い状態に分布がシフト した(図4B左)。さらに顕著な変化として、状 態間の遷移がほとんど生じなくなった(図4B右)。 構造揺らぎが抑制された硬い構造に変化したこ とを示している。アンテナタンパク質のチラコイ ド内腔側にはアスパラギン酸やグルタミン酸と いったプロトン化し易い酸性アミノ酸残基が配 置されており、pH 変動に応答してタンパク質の 骨格構造が変化することが示唆されている%。こ のような骨格構造の変化に伴い、Chl-Car 近傍の 局所的な構造も変化し、Q状態が安定化すること で、光エネルギーを熱として捨て去る防御モード に移行したと考えられる。pH 応答性については 酸性アミノ酸部位を欠損させた変異体の解析も 進められている 32-33。 さらに、MD 計算を用い、 pH 変化に伴う構造変化のシミュレーション解析 も行われており、詳細構造を基にした分子機構の 議論も可能になってきている34。

強光下で誘起される pH 低下に伴い、Car の分子組成も変化する。キサントフィルサイクルと呼ばれる光保護機構であり、pH 変化で Car 変換酵素が活性化することで、中性 pH で機能する Violaxanthin (Vio)が低 pH では Zeaxanthin (Zea)に変換される。そこで、Zea が結合した LHCSR1を解析した。低 pH 条件では Q 状態がさらに安定化し、分布がより Q 状態側にシフトした(図 4C)。一方で、中性 pH にすると構造揺らぎが生じるようになり、それに伴い A 状態の分布も回復した(図 4D)。それでも尚、Vio 結合条件(図 4A)

と比べると Q 状態側に分布が偏っており、構造 揺らぎの頻度も少ない。Zea は Vio よりも疎水的 な分子であり <sup>35</sup>、タンパク質とより強く結合する ことで NPO 効果を高めていると考えられる。

## 4. 生体内で Systematic に機能する光合成光保 護機構

以上のように、光強度が変化してチラコイド内腔のpHが変動すると、①タンパク質の骨格構造の変化と②Carの分子組成の変化、という2つの応答機構が作動する。ここで、①はpH変化で直接誘起される速い応答であるのに対し、②はCar変換酵素の活性変化を経由する遅い応答である点が重要である。時間差で発動するこれら2つの応答機構を考慮することで、太陽光環境の変化に対する卓越した適応機構が見えてくる。

まず、弱光環境下では Vio が結合しており(図 4A)、Chl-Car 近傍の構造が激しく揺らいでいる が、A状態側に分布が偏っているため、光エネル ギーは効率良く RC へ輸送される。ここで突然強 光に曝されると、すぐにチラコイド内腔の pH が 低下し、それに応答する形で光捕集タンパク質の 骨格構造が変化する(図4B)。それによりQ状 態が安定化するので、NPQ 効率が強化され、急場 を凌ぐことができる。その後すぐに弱光環境にな れば、初期状態(図 4A)に戻る。一方で、強光 状態が継続した場合は、2つめの防御システムと して Car の分子組成変化が生じる(図 4C)。つ まり、低pHでCar変換酵素が活性化し、Vioが Zea に変換され、Q 状態がより安定化されて NPQ 効率が最大となる。盤石の態勢を整えることで、 長時間にわたる強光照射にも耐えることができ

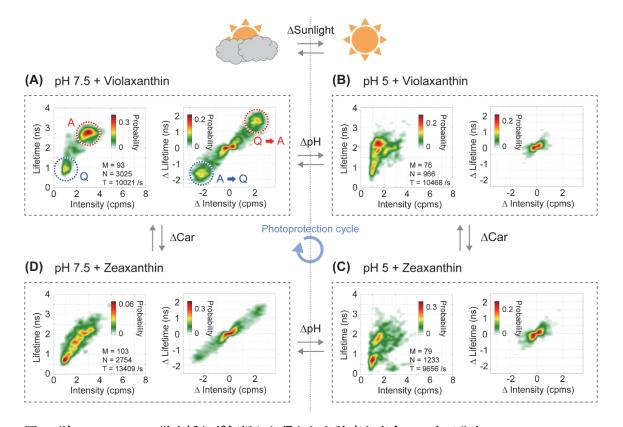


図 4. 単一 LHCSR1 の蛍光揺らぎ解析から得られた強度と寿命の 2 次元分布。

溶液の pH および結合する Car の分子組成を次のように変化させて解析した。(A) pH7.5+Vio、(B) pH5+Vio、(C) pH5+Zea、(D) pH7.5+Zea。それぞれの条件で得られた蛍光強度と寿命の分布(左)と揺らぎに伴う変化量の分布(右)を示す。解析に用いた単一タンパク質の総粒子数(M)、総状態数(N)、観測時間の総計(T)を示した。pH の変化( $\Delta$ pH)、Car の分子組成変化( $\Delta$ Car)、光環境の変化( $\Delta$ Sunlight)を灰色矢印で表した。pH7.5 は弱光環境、pH5 は強光環境に対応する。文献  $^{21}$  より改変して転載。

る。その後、もし弱光環境に移行して pH が上昇すれば、まずは応答の速いタンパク質の骨格構造が元に戻り (図 4D)、防御態勢を一部解除して様子を窺う。その後も継続して弱光環境が続けば、遅い応答である Car の分子組成変化が進行し、初期状態 (図 4A) に帰ってくる。このように、時間スケールの異なる 2 段階の応答機構を組み合わせることで、安全に光環境変化に対応することができる。

このような光合成光保護機構は、ネガティブ フィードバックの制御回路と対応付けて理解で きる ( $\boxtimes 5$ )  $^{36-37}$ 。つまり、光捕集アンテナで吸 収された光エネルギーはRCへ輸送されて電荷分 離を誘起し、電子を放出する。電荷分離は水の酸 化と連動しており、チラコイド内腔の pH が変化 する。ここで、pH変化を「フィードバック信号」、 アンテナタンパク質のpH感受性アミノ酸残基を 「検出素子①」、タンパク質の構造揺らぎ特性を 「制御素子」、RCへのエネルギー伝達量を「操 作量」、RCを「制御対象」とする closed-loop フィー ドバック制御機構が機能し、「制御量」であるシ ステム全体の出力(電子の放出量)を安定化する。 さらに、Car変換酵素を「検出素子②」とする別 の回路が並列する形で機能しており、時間差を付 けた二段構えの応答を実現している。ここで、「検 出素子①」を経由する回路は、pH 変化に対して 直接的かつ素早く応答する1次の時間積分回路 と言える。対して、「検出素子②」を経由する回 路は、Car 変換酵素の活性変化を経由する応答の 遅い2次の時間積分回路に相当する。このように、 応答時間の異なる 2 つの回路を並列に機能され ることで、PID(比例-積分-微分)フィードバッ ク制御のように系の出力が素早く安定化するよ うに工夫されている。

生体内では光捕集アンテナタンパク質が複数集まり超複合体を形成しており、そのうちの1つが光を吸収すると、光エネルギーは数十~数百 psの超短時間で近接するアンテナタンパク質間を次々と移動していき、最終的に RC まで運ばれる 38-39。アンテナタンパク質は A 状態と Q 状態の間で変動しており、光エネルギーが Q 状態のものに1回でも渡ると消失する。つまり、A 状態と Q

状態はシステムの ON と OFF の状態に対応する ことになる。したがって、アンテナタンパク質が 複数集まった超複合体レベルの光反応系は、ON と OFF の切替スイッチが直列に繋がった論理積 (AND) 回路と見なすことができる。ON と OFF の間をランダムに揺らぐスイッチが集まること で、システム全体として ON となる割合が減少し、 光保護機能はより一層強化されると考えられる。 以上、構造状態の分布を可視化できる蛍光揺ら ぎの解析結果について解説した。光環境の変化に 付随した生体内のpH変化をトリガーにしてタン パク質の骨格構造や Car の分子組成が変化し、 Chl-Car 近傍で生じる局所的な構造揺らぎの特性 が調整され、光捕集タンパク質全体の光反応活性 が制御されることが分かった。しかし、光捕集タ ンパク質には Chl-Car が複数結合しているため、 局所的な構造揺らぎも複数の成分が含まれてい るはずである。また、本手法では構造揺らぎの頻 度を解析できた一方で、揺らぎの時定数などの定 量評価は難しかった。そこで、蛍光光子1つ1つ の相関をとる別の解析アプローチも行っており、 LHCSR1 で生じる構造揺らぎの成分数や、各揺ら ぎ成分の時定数および A 状態と Q 状態間での自 由エネルギー差、の定量解析に成功している 20。 紙幅の都合で詳細は他の記事に譲るが40、単一分 子分光法を用いた蛍光揺らぎ解析により、光捕集 タンパク質の動的な振る舞いの議論が可能に なってきた。時々刻々と変動する太陽光環境に適 応するために光合成系が長い年月をかけて進化 させてきた緻密な戦略が明らかになりつつある。

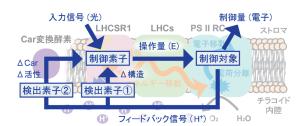


図 5. 色素分子・タンパク質・生体膜・細胞媒質が巧みに連動する光合成光反応のフィード バック制御機構

### 5. 光合成反応中心タンパク質の単一分子分光 解析:電子伝達系のChl a

前項までは、光合成光捕集タンパク質における 構造揺らぎと光反応活性の相関解析について議 論し、太陽光環境に応じてRCへ輸送する光エネ ルギーの量が調整されることが分かった。では、 光エネルギーを受け取ったRCでは構造揺らぎが どのような作用をもたらすのであろうか?。RC は多数の色素分子を結合し、光エネルギー輸送か ら電荷分離、電子移動までの光電変換反応の一切 を制御しており、光捕集タンパク質と比較しても より複雑で多機能な色素タンパク質である。この ような複雑な系における構造揺らぎの影響や役 割を調べるため、光合成細菌へリオバクテリアの 反応中心タンパク質(hRC)の単一分子分光解析 を行った 41-42。

hRC は完全対称な二量体構造をしており、主要色素として 58 個のバクテリオクロロフィル g (Bchl g) と 2 個のクロロフィル a (Chl a) を結合している (図 6)  $^{43}$ 。円周状に配置された Bchl g の 1 つが光を吸収すると、Bchl g 色素分子間で光エネルギーが移動し、中央部分の電子伝達系へと集められる。電子伝達系には Bchl g 二量体であるスペシャルペア P800 が配置され、光エネルギーを受け取って電荷分離を誘起する。この時に放出された電子は Chl a へと渡され、その後の物

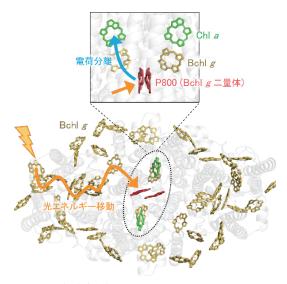


図 6. 光合成細菌ヘリオバクテリアの反応中心タンパク質 (hRC) における色素分子配置光化学過程を矢印で表した。

質還元反応へと繋がっていく。このように、hRC に 2 分子だけ存在する Chla は電子伝達系に配置されて第一電子受容体として機能している。hRC の主要色素である Bchlg の  $Q_y$  吸収ピークが 780 nm 付近にあるのに対し、Chla の  $Q_y$  吸収ピークは 670 nm 付近にあり、波長選択的に区別して励起することが可能である。そのため、Chla は電子伝達系で生じる構造揺らぎの寄与を調べるためのプローブとして利用できる。そこで、hRC に結合する Chla の単一分子分光解析を行うことにした。

分子構造を考慮すると Chl a が Car のように大 きく動くとは考えにくい。しかし、近傍のアミノ 酸残基の配置が揺らぐことでエネルギー準位が 大きく変動するため、電荷分離過程に大きな摂動 が加わると考えられる。ここで、エネルギー準位 の変動を調べるにはスペクトル情報が重要だが、 解析可能な程度の信号-ノイズ比でスペクトルを 得るには秒スケールの積算時間が必要となる。色 素分子近傍の構造揺らぎは ns スケールで生じる と考えられ18、信号積算中にも激しく状態が揺ら ぐために情報が時間的に平均化されてしまい、折 角の単一分子測定が台無しになってしまう。そこ で、揺らぎを抑制するために極低温まで冷却した 44-46。これに加え、Chl a の解析を行う上でもう1 つの障害があった。通常の単一分子分光測定では 信号-ノイズ比に優れる蛍光検出を行うが、hRC の Chla を光励起してもよりエネルギー準位の低 い Bchlgへと光エネルギーが流れてしまうため、 Chl a の蛍光信号は観測できない。そこで、励起 スペクトル測定を行った。具体的には、Chl aの 吸収ピーク波長である 670 nm 付近で励起光の波 長を掃引しながら蛍光強度をプロットし、励起ス ペクトルを得た。Chl a に吸収される光の量が増 えれば、放出される蛍光量も増えるため、励起ス ペクトルは吸収スペクトルを反映したものにな る。以上のように、hRCを極低温まで冷却し1粒 子ごとに励起スペクトル測定を行うことで、電子 伝達担体として機能する Chla の単一分子スペク トルを得ることができる。

6 K で hRC の 1 粒子励起スペクトルを測定した 42。670 nm 付近に 2 つの吸収ピークを観測した (図 7A、青線)。それぞれのピーク波長で励起 光の偏光方向を回転させながら信号強度の変化 をプロットすると、異なる依存性を示した(図 7E)。ピーク1の波長で長時間励起したところ、 部分的な光退色が生じてピーク 2 のみが観測さ れるようになった(図 7A、緑線)。これらの結 果は、2つのピークがそれぞれ別々の分子に由来 することを示しており、hRC に結合する 2 つの Chla分子と同定できる。他のhRC粒子でも2つ の Chla ピークが観測されたが、ピーク波長や形 状は異なっていた(図7B)。稀にChlaピークが 1 つだけ観測される場合もあったが(図7C)、こ れは2つのChlaのピークが近接していたために 重なって観測された結果、1つのピークに見えた と考えられる。ここで、700 nm 付近から短波長 に渡って観測されるブロードな信号は Bchlgの 振電バンドに由来する。そこで、Bchlgのピーク 波長 (i と iii の桃矢印) と Chl a のピーク波長 (ii の緑矢印) で励起光強度を変えながら信号強度を プロットし、各ピークの飽和特性を調べた(図 7F)。Bchlgピーク(i と iii) は今回の強度範囲 では飽和しなかったが、Chlaピーク(ii)は高強 度領域で信号強度が一定となる飽和現象が見ら れた  $^{47-48}$ 。これは、Chl a からエネルギーが移動 できる Bchl g 色素分子の数が限られており 49-51、 Chl a 励起の際にエネルギー移動が生じる色素 プールのサイズが小さいために、励起状態の対消 滅が生じやすくなったと考えられる52-53。このよ うに、670 nm 付近に観測されたピークは明らか に Bchl g 信号と異なった飽和特性を示しており、 Chl a 由来であることを裏付ける結果となった。

常温下では熱的な揺らぎの影響でhRCの構造は 絶えず変動しているが、極低温に冷却すると揺ら ぎが抑制され、hRC 粒子ごとに異なる構造状態に トラップされる。Chl a 近傍の局所的な構造状態 も僅かずつ異なることになり、それによってピー ク波長や形状がバラついて観測される。 さらに、 hRC 粒子ごとのバラつきだけでなく、1 つの hRC 内の 2 つの Chl a のピークも別々に観測されたこ とから、完全対称型の hRC と言えども構造揺ら ぎの影響で局所的に対称性が崩れており、2つの Chl a が異なるエネルギー準位を取ることが分かる。複数の hRC 粒子で Chl a のピーク波長を見積もり、分布を調べたところ、670 nm 付近を中心に~20 nm(~450 cm-1 または~55 meV に相当)の幅でバラついていた(図 7D、橙)。つまり、構造揺らぎの影響で Chl a のエネルギー準位が~55 meV 程度は変動する。マーカス理論を基に電荷分離反応への寄与を概算したところ、速度が 10%程度は変動し得ることが分かった 42。ただし、この見積もりは様々な仮定や単純化を含んでいるため、より詳細に定量的な議論を行うにはさらなる研究が必要である。

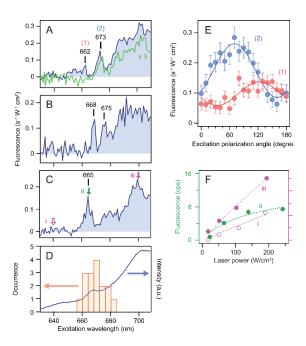


図 7. (A-C) 6 K で測定した hRC の 1 粒子励起 スペクトル。

それぞれ異なる hRC 粒子で測定した。(A)の緑色のスペクトルは、ピーク 1 の波長位置で長時間励起して光退色を生じさせた後に得られた結果である。(D) Chl a のピーク波長の分布(橙)。多数の hRC 粒子を含む溶液試料で得られたスペクトル(青)を重ねて表示した。(E) Chl a ピークの励起偏光依存性。(A)のピーク 1 と 2 に対応する波長位置で測定した。(F) 励起光強度に対する Chl a (ii, 緑) および Bchl g (i と iii, 桃)のピーク強度の変化。飽和関数を用い  $^{47-48}$ 、フィッティング解析を行った結果を点線で示す。文献  $^{42}$  より改変して転載。

以上のように、hRC の極低温 1 粒子測定を行う ことで、電子伝達系の第一電子受容体として機能 する Chl a の単一分子分光解析に成功した。RC 内部のタンパク質環境も構造揺らぎの影響でか なり不均一になっていることが分かった。一方で、 多数の hRC 粒子を対象にした通常の溶液スペク トル (図 7D、青線) でもピーク線幅を解析すれ ば、図7Dに示したピーク波長のバラつきと同様 の情報を得ることが可能である。真に単一分子分 光の力が発揮されるのは、1粒子のRCで電荷分 離などの反応速度と機能分子のピーク波長や形 状を同時に測定し、それらを1対1で対応づけて 相関解析を行う時だろう。つまり、生体系に普遍 的に生じる構造揺らぎを局所的かつ過渡的なラ ンダム変異と見なし利用することで、これまでタ ンパク質の変異体を用いて行ってきた反応系へ の摂動実験を変異無しで進められる。これにより 機能分子近傍の局所的な構造状態と反応速度の 相関関係が明らかとなり、光合成系の構造最適化 機構や構造揺らぎの生理学的な意義を議論でき る。このように、揺らぎと言う乱雑さの中で人知 れず機能する生体系の反応制御機構を明らかに していきたい。現状は hRC 内の Chl a の単一分子 ピークを分離するにとどまっているが、将来的に は超高速の電荷分離過程を 1 分子レベルで観測 したいと考えている。最近我々のグループでは高 感度の過渡吸収顕微鏡を開発しており、光合成光 捕集アンテナのエネルギー移動を 1 粒子レベル で解析できるまでになってきた。 電荷分離の1分 子観測はさらに難易度の高い挑戦的な課題であ るが、近い将来に本誌でも報告できるよう目下研 究を進めている。

## 6. 光合成反応中心タンパク質の単一分子分光 解析:光捕集アンテナ系の red-Bchl g

hRC には複数の Bchl g が結合しており、吸収した光エネルギーを中央部の P800 に集める光捕集アンテナとして機能する (図 6)。これまでに様々な分光解析が行われ  $^{49,54-57}$ 、結晶構造を基にした理論計算から光励起ダイナミクスも解析されている  $^{58-60}$ 。放射状に配置された各 Bchl g のエネルギー準位が、中心に近くなる程低くなるように調

整され、外から中心へと階段を下るように光エネ ルギーが集められる。この場合、BchlgはP800 よりもエネルギー的に高い準位になっている必 要がある。しかし実際は、P800よりもエネルギー 準位が低く、吸収が長波長側にシフトした red-Bchl g と呼ばれる色素が存在する 51,61。このよう な長波長色素は他の RC でも確認されており、光 が過剰に吸収された際のエネルギー散逸パスと して機能する光保護機構が提案されている 62。生 理学的な存在意義については未だに不明な点も 多いが、単一分子分光解析を行う上では重要な役 割を担う。何故なら、極低温下で hRC を励起す ると光エネルギーは最低エネルギー準位の red-Bchlgに集まり、そこから蛍光が放出される。さ らに、完全対称型の hRC には red-Bchl g が 2 つ 存在するため、hRC 内で対称的に配置された2つ の蛍光プローブとして利用できる。hRC の光エネ ルギー移動ネットワークは多数の色素で構築さ れた非常に複雑なものだが、2つの red-Bchl g を 蛍光指標に用いれば動的な振る舞いについても 調べられる。

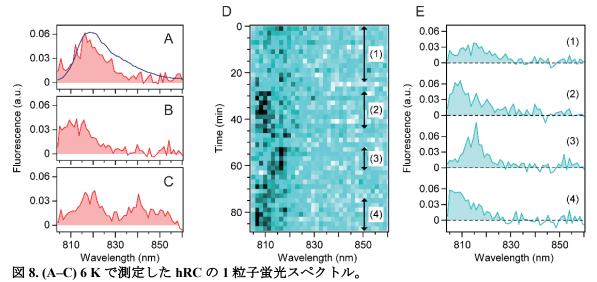
6KでhRCの1粒子蛍光スペクトルを測定した <sup>41</sup>。ある hRC 粒子では 820 nm 付近に red-Bchl g 由来と考えられる蛍光ピークが観測されたが、多 数の粒子で測定した通常の蛍光スペクトルとほ とんど同じ形状をしていた(図8A)。別のhRC 粒子では、より短波長側にシフトしたスペクトル が得られた(図8B)。前項で議論したChlaの励 起スペクトルと同様に、red-Bchlgの蛍光スペク トルも hRC ごとに不均一にバラつくことが分か る。2つの red-Bchl g が別々の蛍光ピークとして 観測される場合もあった(図8C)。これも Chla の場合と同様に、構造揺らぎの影響で hRC に結 合する2つのred-Bchlgのエネルギー準位が不均 一になっていることを示している。このように、 hRC 内の光捕集アンテナ系でも構造揺らぎが大 きな摂動となっている。

動的な振る舞いをより直接的に調べるため、図 8B の蛍光スペクトルの経時変化を解析したところ、時間経過とともにスペクトルのピーク位置や強度が変動していた(図 8D)。時間領域を 4 つに区切り、それぞれの領域で平均したスペクトル

を比較すると(図 8E)、測定開始直後は広い波 長域でピークが確認されたが (領域1)、その後 は短波長側(領域2)、長波長側(領域3)、短 波長側(領域4)の順にピーク位置が交互にシフ トしていた。図8Cで示したように、hRC内の2 つの red-Bchl g は局所的な構造不均一によりピー ク位置や形状が異なることを考慮すると、今回交 互に観測された短波長側と長波長側の 2 つの ピークは各々異なる red-Bchlg に由来すると考え られる。この場合、図 8E に示した経時的なピー クシフトは以下のように説明される。まず、アン テナ系の Bchl g は red-Bchl g へのエネルギー移動 の通り道となるため、Bchlg近傍で構造揺らぎが 発生してエネルギー準位が変化すると、エネル ギーの流れる経路が変わる。これにより、2つの red-Bchl g へ流れ込む光エネルギーの量比が変動 し、2つの red-Bchl g が交互に発光した結果、図 8E のようなピークシフトが観測されたと解釈で きる。このような光エネルギー移動経路の動的な 変化は他のRCでも報告されており63、複数の色 素から成る複雑な光反応系において普遍的な現 象と考えられる。

#### 7. おわりに

本稿では光合成系の動的な挙動に焦点を当て、 単一分子分光法を用いた揺らぎ解析の結果につ いて概説した。光捕集アンテナタンパク質の項目 では、蛍光強度と寿命の揺らぎ解析を紹介し、太 陽光環境に応じて Chl-Car 近傍の構造揺らぎを巧 みに調整する光合成活性のフィードバック制御 機構について解説した。続く RC タンパク質の項 目では、より局所的な構造揺らぎの影響を調べる ために極低温下でスペクトル解析を行い、光エネ ルギー移動や電荷分離などの光化学過程におけ る構造揺らぎの寄与について解説した。構造生物 学の目覚ましい発展に伴い、詳細な構造情報を基 に光反応機構を議論できるようになったが、単一 分子レベルで観察してみると光合成系は想像以 上にガチャガチャ動いている。揺らぎの起源につ いては様々な議論がなされているが 64-65、その分 子機構は未だによく分かっていない。膨大な構造 自由度を持つ生体系において、反応系の揺らぎは 時間的・空間的・エネルギー的に幅広い階層性を 含んでおり、各階層で生理学的な意義も異なって くると思われる。これを一つ一つ明らかにしてい くには、技術的な進歩が欠かせない。特に、以下 の2つの課題を乗り越える必要がある。1つ目が、 fs~ps という超短時間スケールで生じる光反応 過程を、単一分子レベルで時間分解するのが困難



それぞれ異なる hRC 粒子で測定した。(A)の青色のスペクトルは、多数の hRC 粒子を含む溶液試料で得られた結果を表す。 (D) 蛍光スペクトルの経時変化。(B)で示した 1 粒子スペクトルの時間変化である。 (E) 時間領域  $1\sim4$  でそれぞれ平均化した蛍光スペクトル。文献  $^{41}$  より改変して転載。

な点である。光合成光反応における構造揺らぎや 構造変化の役割を理解するには、やはり反応速度 や効率を定量評価する必要がある。しかし、これ までは技術的なバリアが大きかった。そこで最近 は fs 時間分解単一分子分光法の開発にも取り組 んでおり <sup>66</sup>、光捕集アンテナ・アロフィコシアニ ン (APC) の1粒子解析にも成功している <sup>67</sup>。し かし、この手法は蛍光検出に頼った方法であり <sup>68</sup> 心、電荷分離や酸化還元反応などの非蛍光性の反 応過程には適用できない。これが2つ目の課題で あり、光合成光化学反応の動的な挙動を解明する には、単一分子レベルの過渡吸収測定が必要不可 欠となる。世界的に見てもまだ誰も達成できてい ない高難易度の挑戦的な課題だが、今後実現して いきたい。

#### 謝辞

本稿で解説した研究は、MIT の Gabriela Schlau-Cohen 博士、Verona 大学の Roberto Bassi 博士、Alberta Pinnola 博士、東京工業大学の松下道雄博士、藤芳暁博士、田邊大明氏、新井峻氏、東邦大学の武藤梨沙博士、大阪大学の大岡宏造博士、栗栖源嗣博士らとの共同研究であり、ここに感謝申し上げます。また、JST・さきがけ(JPMJPR18G7)、JSPS 科研費(19H02665、22H02030)、MEXT 卓越研究員事業の支援を受けており、重ねて感謝申し上げます。

Received Apr 4, 2024; Accepted Apr 8, 2024; Published Apr 31, 2024

#### 参考文献

- 1. Shibata, Y. *et al.* Photosystem II does not possess a simple excitation energy funnel: Time-resolved fluorescence spectroscopy meets theory. *J. Am. Chem. Soc.* **135**, 6903-6914 (2013).
- 2. Adolphs, J. *et al.* Structure-based calculations of optical spectra of photosystem I suggest an asymmetric light-harvesting process. *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 3331–3343 (2010).
- Higashi, M. & Saito, S. Quantitative evaluation of site energies and their fluctuations of pigments in the Fenna–Matthews–Olson complex with an efficient method for generating a potential

- energy surface. *J. Chem. Theory Comput.* **12**, 4128-4137 (2016).
- Liguori, N., Croce, R., Marrink, S. J. & Thallmair, S. Molecular dynamics simulations in photosynthesis. *Photosynth. Res.* 144, 273-295 (2020).
- Liguori, N. et al. Different carotenoid conformations have distinct functions in lightharvesting regulation in plants. Nat. Commun. 8, 1994 (2017).
- Liguori, N., Periole, X., Marrink, S. J. & Croce, R. From light-harvesting to photoprotection: Structural basis of the dynamic switch of the major antenna complex of plants (LHCII). Sci. Rep. 5, 15661 (2015).
- Zhang, L. et al. Dynamic protein conformations preferentially drive energy transfer along the active chain of the photosystem II reaction centre. Nat. Commun. 5, 4170 (2014).
- Hofmann, C., Aartsma, T. J., Michel, H. & Köhler, J. Direct observation of tiers in the energy landscape of a chromoprotein: A singlemolecule study. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 15534–15538 (2003).
- 9. Liguori, N. et al. Regulation of light harvesting in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: The C-terminus of LHCSR is the knob of a dimmer switch. *J. Am. Chem. Soc.* **135**, 18339-18342 (2013).
- Navakoudis, E., Stergiannakos, T. & Daskalakis,
   V. A perspective on the major light-harvesting complex dynamics under the effect of pH, salts, and the photoprotective PsbS protein. *Photosynth. Res.* 156, 163-177 (2023).
- 11. Kim, E. Light quality as a driver in adapting photosynthetic acclimation to niche partitioning. *J. Exp. Bot.* **74**, 6413-6416 (2023).
- Ghosh, D., Mohapatra, S. & Dogra, V. Improving photosynthetic efficiency by modulating non-photochemical quenching. *Trends Plant Sci.* 28, 264-266 (2023).
- 13. Ruban, A. V. & Wilson, S. The mechanism of non-photochemical quenching in plants: Localization and driving forces. *Plant Cell Physiol.* **62**, 1063-1072 (2021).
- 14. Pinnola, A. & Bassi, R. Molecular mechanisms involved in plant photoprotection. *Biochem. Soc. Trans.* **46**, 467-482 (2018).

- 15. Wagie, H. E. & Geissinger, P. Hole-burning spectroscopy as a probe of nano-environments and processes in biomolecules: A review. *Appl. Spectrosc.* **66**, 609-627 (2012).
- Jankowiak, R. et al. Site selective and single complex laser-based spectroscopies: A window on excited state electronic structure, excitation energy transfer, and electron-phonon coupling of selected photosynthetic complexes. Chem. Rev. 111, 4546-4598 (2011).
- 17. Purchase, R. & Völker, S. Spectral hole burning: Examples from photosynthesis. *Photosynth. Res.* **101**, 245-266 (2009).
- Shibata, Y., Kurita, A. & Kushida, T. Real-time observation of conformational fluctuations in Znsubstituted myoglobin by time-resolved transient hole-burning spectroscopy. *Biophys. J.* 75, 521-527 (1998).
- Otosu, T., Ishii, K. & Tahara, T. Microsecond protein dynamics observed at the singlemolecule level. *Nat. Commun.* 6, 7685 (2015).
- 20. Kondo, T. *et al.* Microsecond and millisecond dynamics in the photosynthetic protein LHCSR1 observed by single-molecule correlation spectroscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **116**, 11247-11252 (2019).
- 21. Kondo, T. *et al.* Single-molecule spectroscopy of LHCSR1 protein dynamics identifies two distinct states responsible for multi-timescale photosynthetic photoprotection. *Nat. Chem.* **9**, 772–778 (2017).
- 22. Li, X. P. *et al.* A pigment-binding protein essential for regulation of photosynthetic light harvesting. *Nature* **403**, 391-395 (2000).
- 23. Alboresi, A. *et al.* In *silico* and biochemical analysis of *Physcomitrella patens* photosynthetic antenna: Identification of subunits which evolved upon land adaptation. *PloS one* **3**, e2033 (2008).
- 24. Bonente, G. *et al.* The occurrence of the psbS gene product in *Chlamydomonas reinhardtii* and in other photosynthetic organisms and its correlation with energy quenching. *Photochem. Photobiol.* **84**, 1359-1370 (2008).
- 25. Alboresi, A. et al. Physcomitrella patens mutants affected on heat dissipation clarify the evolution of photoprotection mechanisms upon land colonization. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 107, 11128-11133 (2010).

- Tibiletti, T., Auroy, P., Peltier, G. & Caffarri, S. Chlamydomonas reinhardtii PsbS protein is functional and accumulates rapidly and transiently under high light. Plant Physiol. 171, 2717-2730 (2016).
- 27. Peers, G. *et al.* An ancient light-harvesting protein is critical for the regulation of algal photosynthesis. *Nature* **462**, 518-521 (2009).
- 28. Pinnola, A. *et al.* Electron transfer between carotenoid and chlorophyll contributes to quenching in the LHCSR1 protein from *Physcomitrella patens. Biochim. Biophys. Acta* **1857**, 1870-1878 (2016).
- Guarnetti Prandi, I. et al. Structure of the stressrelated LHCSR1 complex determined by an integrated computational strategy. Commun. Biol. 5, 145 (2022).
- 30. Maruyama, S., Tokutsu, R. & Minagawa, J. Transcriptional regulation of the stress-responsive light harvesting complex genes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiol*. **55**, 1304-1310 (2014).
- 31. Kosuge, K. *et al.* LHCSR1-dependent fluorescence quenching is mediated by excitation energy transfer from LHCII to photosystem I in *Chlamydomonas reinhardtii. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **115**, 3722-3727 (2018).
- 32. Troiano, J. M. *et al.* Identification of distinct pHand zeaxanthin-dependent quenching in LHCSR3 from *Chlamydomonas reinhardtii*. *eLife* **10**, e60383 (2021).
- Camargo, F. V. et al. The role of acidic residues in the C terminal tail of the LHCSR3 protein of Chlamydomonas reinhardtii in non-photochemical quenching. J. Phys. Chem. Lett. 12, 6895-6900 (2021).
- 34. Pedraza-González, L. *et al.* How the pH controls photoprotection in the light-harvesting complex of mosses. *J. Am. Chem. Soc.* **145**, 7482-7494 (2023).
- Ruban, A. V. & Johnson, M. P. Xanthophylls as modulators of membrane protein function. *Arch. Biochem. Biophys.* 504, 78-85 (2010).
- 36. Zaks, J., Amarnath, K., Sylak-Glassman, E. J. & Fleming, G. R. Models and measurements of energy-dependent quenching. *Photosynth. Res.* **116**, 389-409 (2013).

- 37. Zaks, J. *et al.* A kinetic model of rapidly reversible nonphotochemical quenching. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109**, 15757-15762 (2012).
- 38. Chmeliov, J. *et al.* The nature of self-regulation in photosynthetic light-harvesting antenna. *Nat. Plants* **2**, 1-7 (2016).
- 39. Caffarri, S., Broess, K., Croce, R. & van Amerongen, H. Excitation energy transfer and trapping in higher plant photosystem II complexes with different antenna sizes. *Biophys. J.* **100**, 2094-2103 (2011).
- 40. 近藤徹 単一タンパク質分光でみえる光合成の光反応制御に関わる複数のタンパク質構造揺らぎ 日本物理学会誌 76,17-22 (2021).
- 41. Kondo, T. *et al.* Energy transfer fluctuation observed by single-molecule spectroscopy of red-shifted bacteriochlorophyll in the homodimeric photosynthetic reaction center. *J. Chem. Phys.* **156**, (2022).
- 42. Kondo, T. *et al.* Cryogenic single-molecule spectroscopy of the primary electron acceptor in the photosynthetic reaction center. *J. Phys. Chem. Lett.* **11**, 3980-3986 (2020).
- 43. Gisriel, C. J. *et al.* Structure of a symmetric photosynthetic reaction center–photosystem. *Science* **357**, 1021–1025 (2017).
- 44. van Oijen, A. M. et al. Spectroscopy of individual light-harvesting 2 complexes of *Rhodopseudomonas acidophila*: Diagonal disorder, intercomplex heterogeneity, spectral diffusion, and energy transfer in the B800 band. *Biophys. J.* **78**, 1570–1577 (2000).
- 45. Jelezko, F. *et al.* Single-molecule spectroscopy on photosystem I pigment-protein complexes. *J. Phys. Chem. B* **104**, 8093–8096 (2000).
- 46. van Oijen, A. M. *et al.* Spectroscopy of single light-harvesting complexes from purple photosynthetic bacteria at 1.2 K. *J. Phys. Chem. B* **102**, 9363–9366 (1998).
- 47. Wiącek, D. & Kozankiewicz, B. Non-planar distortion of single molecules revealed by vibronic fluorescence excitation: Terrylene in *p*-terphenyl and naphthalene crystals. *Chem. Phys. Lett.* **462**, 280–283 (2008).
- 48. Kozankiewicz, B. & Orrit, M. Single-molecule photophysics, from cryogenic to ambient conditions. *Chem. Soc. Rev.* **43**, 1029–1043 (2014).

- 49. Neerken, S., Aartsma, T. J. & Amesz, J. Pathways of energy transformation in antenna reaction center complexes of *Heliobacillus mobilis*. *Biochemistry* **39**, 3297–3303 (2000).
- Lin, S., Kleinherenbrink, F. A. M., Chiou, H. C. & Blankenship, R. E. Spectral heterogeneity and time-resolved spectroscopy of excitation energy transfer in membranes of *Heliobacillus mobilis* at low temperatures. *Biophys. J.* 67, 2479–2489 (1994).
- van Dorssen, R. J., Vasmel, H. & Amesz, J. Antenna organization and energy transfer in membranes of *Heliobacterium chlorum*. *Biochim*. *Biophys. Acta* 809, 199–203 (1985).
- 52. Vos, M. *et al.* Singlet-singlet annihilation at low temperatures in the antenna of purple bacteria. *Biochim. Biophys. Acta* **850**, 501–512 (1986).
- 53. Paillotin, G., Swenberg, C. E., Breton, J. & Geacintov, N. E. Analysis of picosecond laser-induced fluorescence phenomena in photosynthetic membranes utilizing a master equation approach. *Biophys. J.* **25**, 513–533 (1979).
- 54. Kojima, R. *et al.* Energy transfer and primary charge separation upon selective femtosecond excitation at 810 nm in the reaction center complex from *Heliobacterium modesticaldum. J. Photochem. Photobiol., A* **401**, 112758 (2020).
- Sarrou, I. et al. Purification of the photosynthetic reaction center from Heliobacterium modesticaldum. Photosynth. Res. 111, 291–302 (2012).
- Oh-oka, H. Type 1 reaction center of photosynthetic heliobacteria. *Photochem. Photobiol.* 83, 177–186 (2007).
- 57. Heinnickel, M. & Golbeck, J. H. Heliobacterial photosynthesis. *Photosynth. Res.* **92**, 35–53 (2007).
- 58. Kimura, A., Kitoh-Nishioka, H., Shigeta, Y. & Itoh, S. Comparison between the light-harvesting mechanisms of type-I photosynthetic reaction centers of heliobacteria and photosystem I: Pigment site energy distribution and exciton state. *J. Phys. Chem. B* **125**, 3727-3738 (2021).
- Kitoh-Nishioka, H., Shigeta, Y., Itoh, S. & Kimura, A. Excitonic coupling on a heliobacterial symmetrical type-I reaction center: Comparison with photosystem I. *J. Phys. Chem.* B 124, 389-403 (2019).

- 60. Kimura, A. & Itoh, S. Theoretical model of exciton states and ultrafast energy transfer in heliobacterial type I homodimeric reaction center. *J. Phys. Chem. B* **122**, 11852-11859 (2018).
- 61. Neerken, S. & Amesz, J. The antenna reaction center complex of heliobacteria: composition, energy conversion and electron transfer. *Biochim. Biophys. Acta* **1507**, 278–290 (2001).
- 62. Shibata, Y. et al. Kinetically distinct three red chlorophylls in photosystem I of *Thermosynechococcus elongatus* revealed by femtosecond time-resolved fluorescence spectroscopy at 15 K. J. Phys. Chem. B 114, 2954–2963 (2010).
- 63. Brecht, M., Radics, V., Nieder, J. B. & Bittl, R. Protein dynamics-induced variation of excitation energy transfer pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106**, 11857–11861 (2009).
- 64. Brecht, M. *et al.* Spectral diffusion induced by proton dynamics in pigment-protein complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 17487–17493 (2008).
- Baier, J. et al. Determination of the spectral diffusion kernel of a protein by single-molecule spectroscopy. *Phys. Rev. Lett.* 100, 018108 (2008).

- Moya, R., Kondo, T., Norris, A. C. & Schlau-Cohen, G. S. Spectrally-tunable femtosecond single-molecule pump-probe spectroscopy. *Opt. Express* 29, 28246-28256 (2021).
- Moya, R., Norris, A. C., Kondo, T. & Schlau-Cohen, G. S. Observation of robust energy transfer in the photosynthetic protein allophycocyanin using single-molecule pump-probe spectroscopy. *Nat. Chem.* 14, 153-159 (2022).
- van Dijk, E. M. *et al.* Single-molecule pumpprobe detection resolves ultrafast pathways in individual and coupled quantum systems. *Phys. Rev. Lett.* 94, 078302 (2005).
- Van Dijk, E., Hernando, J., García-Parajó, M. & Van Hulst, N. Single-molecule pump-probe experiments reveal variations in ultrafast energy redistribution. J. Chem. Phys. 123, (2005).
- 70. Brinks, D. et al. Ultrafast dynamics of single molecules. Chem. Soc. Rev. 43, 2476-2491 (2014).

# Dynamic behaviors unveiled in photosynthetic systems by fluctuation analysis using single-molecule spectroscopy

Toru Kondo

Exploratory Research Center on Life and Living Systems, National Institute for Basic Biology

## 解説

## 緊縮応答による時間スケールの葉緑体代謝・植物の生長制御草

東京工業大学 生命理工学院 根本 岳忠、増田 真二\*

生物は変動する外部環境に代謝を適応させ生育する。光合成生物の場合、昼夜はもちろん日中の変動光に応答し、代謝を調節する必要がある。緊縮応答とは、特殊な核酸分子グアノシン4リン酸(ppGpp)がセカンドメッセンジャーとして働く細菌の普遍的な飢餓応答として有名であるが、近年植物の光環境に応じた代謝制御や C/N バランスの維持、さらには植物の病虫害応答に関わることが示された。本稿では植物やシアノバクテリアにおける ppGppの働きとその生理的役割について最新の知見を交えて解説する。

#### 1. はじめに

グアノシン4リン酸 (ppGpp) はアミノ酸飢餓に 晒した大腸菌内で蓄積する核酸として 1969 年に 発見された<sup>1</sup>。その後、ppGpp は ATP の β-γ 位の 2リン酸が GTP もしくは GDP の 3'位に付加す ることで合成されることや(図1)、この反応を 触媒する酵素 RelA (relaxed) と SpoT (spotless) が 明らかにされた(図2)。RelAとSpoTはパラロ グと考えられるが、それぞれのドメイン構成を反 映し、RelA はppGpp 合成のみを、SpoT は合成・ 分解の両方を触媒する。RelA はリボソームに結 合し、アミノ酸飢餓時にアミノアシル化されてい ない tRNA がリボソームに取り込まれるとその ppGpp 合成能が活性化される 2-6。SpoT はアミノ 酸欠乏には応答せず7、炭素・鉄・リン酸・脂肪 酸欠乏などでppGpp合成・分解能が活性化され、 ppGpp 濃度を独自にコントロールする 8-12。合成 された ppGpp は、RNA ポリメラーゼや様々な酵 素の活性をアロステリックに制御する。またGタ ンパク質の GTP 結合を競合阻害することも知ら れている 6,13-15。RelA-SpoT のホモログは細菌の ゲノムに普遍的にコードされており、緊縮応答は

細菌にとって最も重要な環境適応機構の一つと 考えられている。

2000年に、シロイヌナズナの核ゲノムにコードされている relA-spoT のホモログ遺伝子が報告された <sup>16</sup>。その後多くの植物からも同様の遺伝子が発見されたことから、ppGpp による代謝制御が植物でも広く保存されていることがわかってきた。

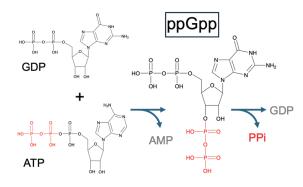


図 1. ppGpp の合成・分解経路

<sup>\*</sup>解説特集「多様な時間スケールから見る光合成生物」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: shmasuda@bio.titech.ac.jp

## 2. シアノバクテリアの緊縮応答による代謝制 御

20年前、筆者らは光従属栄養的に生育する紅色 細菌の光合成遺伝子発現が栄養状態に依存して 変化すること、またその制御に ppGpp を介した 緊縮応答が関わることを明らかした17。一方、光 独立栄養的に生育するシアノバクテリアにおけ る緊縮応答の役割は当時不明な点が多かった。し かし近年、シアノバクテリアを明条件から暗条件 へ移すと、ppGpp の迅速な蓄積が観察され、約3 時間後にその量は元のレベルに戻ることが報告 された 18,19。この結果は、シアノバクテリアの緊 縮応答が栄養状態ではなく光環境に応じて駆動 することを示している。光合成電子伝達を薬剤に より阻害した場合にも ppGpp が蓄積することか ら <sup>18,19</sup>、光に応じた ppGpp 量の変化は光合成電子 伝達に依存すると考えられる。ppGpp の蓄積は遺 伝子発現を負に制御し、タンパク質量や細胞サイ ズなど、シアノバクテリアの様々な活動に影響を 及ぼした <sup>19</sup>。ppGpp 合成/分解酵素である Rel(図 2) を欠損させたシアノバクテリア変異株 ΔRel は、ppGpp 量が恒常的に減少し、明暗を繰り返す 条件での生育が不全になった 18,19。これらの結果 から、暗所における ppGpp に依存した代謝の適 切な抑制が、昼と夜が24時間で1回ずつ訪れる 地球上でのシアノバクテリアの生育に必須であ ることが示された。

最近シアノバクテリアにおけるppGppの過剰蓄積は、アコニターゼ活性を低下させ、複数のアミノ酸や 2-オキソグルタル酸(2-OG)などの代謝物の減少を引き起こすことが報告された <sup>20</sup>。この 2-OG の減少は、窒素同化のマスター転写因子NtcA を不活性化し、窒素同化の抑制を引き起こす <sup>20</sup>。 ARel 株は野生型に比べ L-グルタミン酸の蓄積量が顕著に増加することが確認され <sup>20</sup>、シアノバクテリアの緊縮応答は窒素同化効率の向上に寄与することが明らかとなった。

#### 3. 緊縮応答による植物の光合成制御

シロイヌナズナの RelA/SpoT Homolog (RSH) は 4 つある  $^{16,21}$  (図 2)。それらは一次構造の違いから、RSH1、RSH2/3、Ca<sup>2+</sup>-dependent RSH (CRSH)

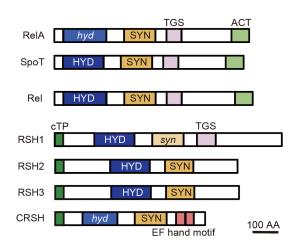


図 2. 大腸菌の RelA と SpoT、 シアノバクテリアの Rel、シロイヌナズナの RSH の一次構造 32

HYD: ppGpp 分解ドメイン

SYN: ppGpp 合成ドメイン

hyd: ppGpp 分解類似ドメイン(活性に必須の

アミノ酸が欠損している)

syn: ppGpp 合成類似ドメイン(活性に必須の

アミノ酸が欠損している) cTP: 葉緑体移行シグナル

TGS: Thr-tRNA synthase GTPase SpoT ドメイン

EF hand motif: Ca<sup>2+</sup>結合ドメイン

の三種類に分類され、系統解析の結果から RSH1 と CRSH は Deinococcus-Thermus 門、RSH2/3 は Cvanobacteria 門の細菌からの水平伝播により植 物細胞にもたらされたと考えられる 16,22-25。それ らは全て葉緑体移行シグナル配列を有し、実際に 葉緑体に局在することが実験的に確かめられて いる <sup>26-28</sup>。CRSH は C 末端に EF hand (Ca<sup>2+</sup>結合) ドメインを持ち、試験管内で Ca<sup>2+</sup>依存的に ppGpp 合成能を発揮する<sup>29</sup>。葉緑体ストロマの Ca<sup>2+</sup>濃度 は明->暗移行時に一時的に上昇し 30,31、CRSH は この Ca<sup>2+</sup>濃度上昇時に ppGpp の合成を触媒する 32 (図3)。rsh1-rsh2-rsh3の3重変異体は、暗所 移行後の短い時間スケールで ppGpp 蓄積が WT に比べ過剰に引き起こされることから、夜間に蓄 積した ppGpp は ppGpp 分解ドメインをもつ RSH1/RSH2/RSH3(図2)によって分解されると 考えられる <sup>32,33</sup> (図 3)。*rsh1-rsh2-rsh3* 三重変異 体は、明暗を繰り返す条件下での生育が抑制され たことから 32、夜間に蓄積した ppGpp は葉緑体 遺伝子の発現を負に制御し、その制御が昼夜を

24 時間で繰り返す地球上での植物の生育に重要であることが明らかとなった。

光合成の暗反応(カルビン-ベンソン-バシャム回路)に関わるいくつかの酵素の活性は、 $Ca^{2+}$ によって抑制されることが知られている  $^{34-36}$ 。このことから暗所における葉緑体内の一過的な  $Ca^{2+}$  濃度の上昇は、暗反応を翻訳後レベルで抑制するために必要と考えられている  $^{37}$ 。シアノバクテリアでは、明反応と暗反応に関わる遺伝子は単一のゲノムにコードされており、ppGppを介した緊縮応答でそれらを協調的に制御することが可能である(図3)。一方、植物細胞内の多くの暗反応に関わる酵素は核にコードされており、ppGppによる遺伝子発現レベルの制御は行うことができない。そこで植物細胞は、暗所において一過的に葉緑体内の  $Ca^{2+}$ 濃度を上昇させることで暗反応

をタンパク質翻訳後レベルで抑制していると考えられる。同時に CRSH によって Ca<sup>2+</sup>依存的に 暗所で ppGpp を合成し、合成した ppGpp によって明反応を遺伝子発現レベルで抑制することで、暗反応と明反応の抑制のタイミングを同調させることが可能になったと考えられる(図3)。

葉緑体におけるppGpp結合タンパク質はほとんど未解明である。しかし、ppGppが試験管内で葉緑体内の転写や翻訳を阻害することが示されていることから 38,39、細菌同様に RNA ポリメラーゼや翻訳開始因子などが ppGpp のターゲットになっている可能性は高い。また ppGpp の結合により、葉緑体局在型グアニル酸キナーゼ GKpmの活性が抑制され、この調節は葉緑体の初期の発達に重要であることも示唆されている 40。ppGpp は転写や翻訳開始に必要な GTP プールの調節に必

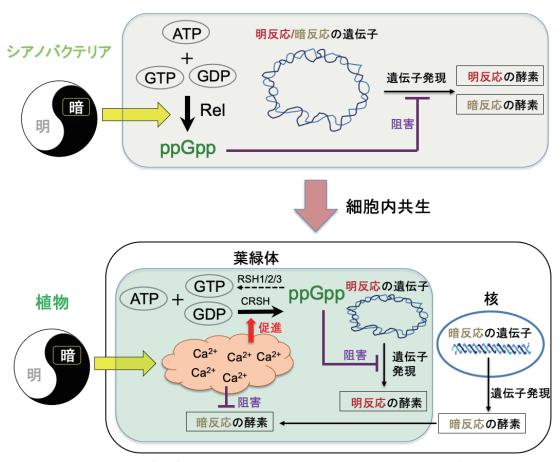


図 3. シアノバクテリアと葉緑体における ppGpp による明反応と暗反応の制御

シアノバクテリアでは、明->暗移行時に Rel が活性化し ppGpp 量が上昇することで、明反応(光合成電子伝達による NADPH と ATP の合成)と暗反応(カルビン-ベンソン-バシャム回路)が遺伝子発現レベルで抑制を受ける。一方葉緑体では、明->暗移移行時にストロマ内の Ca²+濃度が上昇し暗反応の酵素が活性阻害を受ける。同時に CRSH が ppGpp を合成し、明反応を遺伝子発現レベルで抑制する。

要との報告もあり <sup>41</sup>、ppGpp が GTP 量を介して間接的に遺伝子発現を制御する可能性も示唆されている。近年細菌内の ppGpp が結合するタンパク質や RNA アプタマーが網羅的に明らかにされた <sup>15,42–44</sup>。今後同様の解析を葉緑体に対して行うことで、植物における ppGpp のターゲットの詳細が明らかになると思われる。

シロイヌナズナ内でppGppを過剰に蓄積させるとチラコイド膜構造が変化することが示された<sup>27,45</sup>。ヒメツリガネゴケにおいても、ppGpp の過剰蓄積によりチラコイド膜のスーパーグラナが形成され、これが非光化学的消光(NPQ)の誘導を過剰に引き起こす要因になる可能性が報告された<sup>45</sup>。ppGpp の過剰蓄積によりチラコイド膜構造が変化する仕組みは不明であるが、GTPase 活性を有するチラコイド膜形成因子 VIPP1<sup>46</sup> がppGpp の制御下にあるのかもしれない。いずれに

しても、ppGpp 量は日周変動することから <sup>47</sup>、葉 緑体遺伝子の発現制御のみならず、チラコイド膜 構造の変化を通じて、光合成活性を光環境に応じ て調節している可能性が考えられる。

#### 4. 葉緑体の緊縮応答による植物の生育制御

細菌における緊縮応答は、アミノ酸飢餓時に代謝を抑えるために必須であることから、植物内のppGppも同様の生理作用をもつと予想される。実際、葉緑体内のppGpp量は窒素飢餓時に一過的に上昇することや、ppGpp過剰蓄積体や低蓄積体はWTと異なる窒素感受性を示すことが報告されている<sup>27,48-52</sup>。我々のグループと Sugliani らはそれぞれ、ppGpp量がWTと比較して約2.5倍および7倍蓄積するRSH3過剰発現体を単離・解析した。興味深いことに、これら2つのグループの作出した植物体の表現型は大きく異なり、我々は

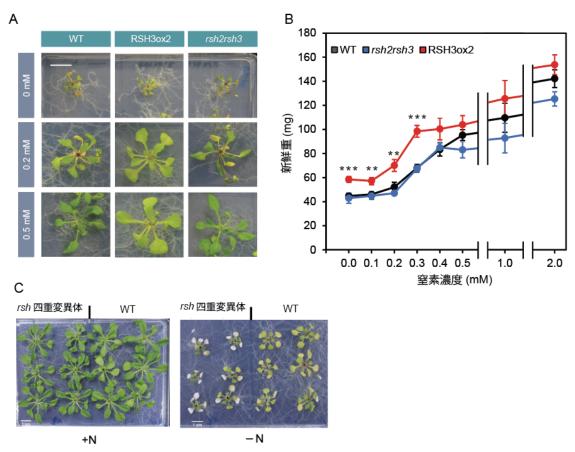


図 4. シロイヌナズナの ppGpp 蓄積体(RSH3ox2)、RSH の二重変異体(rsh2rsh3)と rsh 四重変異体の表現型

(A, B) 通常の培地で 14 日生育後に様々な窒素濃度培地へ移し 10 日目の表現型と新鮮重。データは平均値( $\pm$ SE)( $n=6\sim24$ )。\*P<0.05; \*\*P<0.01; \*\*\*P<0.001 (t-test, compared to WT) $^{49}$ 。(C) 通常の培地で 14 日生育後に通常培地(+N)と窒素欠乏培地(-N)へ移し 10 日目の表現型  $^{50}$ 。

WT と比べて個体サイズが大きくなる結果を、 Sugliani らは小さくなる結果を報告した <sup>27,53</sup>。お そらく ppGpp 蓄積が一定の範囲内であれば植物 体のサイズを大きくする効果があるものの、ある 閾値を超えると個体サイズをむしろ小さくする と考えられる。このことを踏まえると、ppGpp は 葉緑体内だけでなく、葉緑体外の代謝にも間接的 に影響を与えていると考えられる。実際我々が単 離した ppGpp 蓄積株 (RSH3ox2) の遊離アミノ酸 量はWTよりも増大しており、植物細胞全体の窒 素利用効率が改善されていた48。RSH3ox2は窒素 飢餓条件における枯死が抑制され 27、新鮮重量の 有意な増加が見られたことから(図4A,B)、葉 緑体内の ppGpp 量は適切な C/N バランスの維持 に重要であり、窒素飢餓時に炭素固定を適切に保 つために貢献することが示唆された 27,48。

一方で、RSH の機能の冗長性から rsh の単独変 異体は WT と同様の ppGpp 蓄積を示し、ppGpp の蓄積抑制による表現型の変化は今まで未知で あった。しかしながら近年、分解ドメインのみを 持つ RSH1 を過剰発現させた ppGpp 低蓄積体や、 RSH を全て欠損させた rsh 四重変異体が作出さ れ 50,51、いずれも WT に比べて窒素欠乏への耐性 が減少しており、早期の枯死を示すことが報告さ れた(図4C)。これらの低 ppGpp 蓄積体は、窒 素欠乏条件下において活性酸素種 (ROS) を過 剰に蓄積し、同時にサリチル酸やピペコリン酸な ど、植物の病虫害応答に関与する代謝物の蓄積が 促進されていることも判明した 50,51。rsh 四重変 異体では Gln プールが WT に比べ減少しており、 これは葉緑体局在かつ ROS に対して高感受性の グルタミン合成酵素の活性低下によるものと考 えられた 50。また GSH と GSSG の比率は ROS の 蓄積に関係し、GSH/GSSG が高いほど ROS を効 果的に消去できる54。rsh 四重変異体ではその値 が WT よりも 2 倍以上低く 50、ROS 蓄積の原因 の一つになっていると考えられる。さらに rsh 四 重変異体は、上述した ppGpp 過剰蓄積体とは逆 に、NPOの誘導が顕著に抑制された50。この低い GSH/GSSG 比と NPQ 誘導の不全が rsh 四重変異

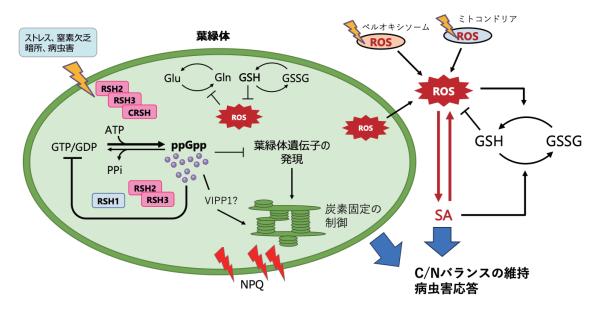


図 5. ppGpp による葉緑体代謝制御と ROS を介した病虫害応答のモデル図

シロイヌナズナ葉緑体内の ppGpp 量は、RSH2/RSH3/CRSH の合成活性と RSH1/RSH2/RSH3 の分解活性より協調的に制御される。ppGpp は葉緑体遺伝子の発現とチラコイド膜構造変化を通じて  $CO_2$  固定と非光化学消光 (NPQ) を適切に制御する。この制御が破綻すると活性酸素種 (ROS) が蓄積し、GIn の合成抑制や C/N バランスが影響を受けるなどで GSH/GSSG 比が低下し ROS 蓄積がさらに誘導される。ROS は他のオルガネラ由来の ROS と共に SA 合成を誘導する。それぞれの RSH は異なるシグナルによりその発現が制御される。病虫害応時、RSH2/RSH3 の発現上昇と  $Ca^{2+}$ に依存した CRSH の活性化により PDGpp 量が上昇する。

体内の ROS 蓄積を過剰に誘導し、サリチル酸やピペコリン酸に依存した過敏感細胞死を引き起こすと考えられた(図 5)。最近、植物病原菌 Pseudomonas syringae やフラジェリン flg22 の合成ペプチドをシロイヌナズナに接種するとppGpp の合成が誘導され、この誘導は RSH2-RSH3 依存であることが示された  $^{55}$ 。また RSH2/RSH3 の発現は ABA やジャスモン酸とその前駆体により発現誘導を受けることも報告されている  $^{56,57}$ 。これらのことからも、葉緑体のppGpp に依存した緊縮応答は ROS を介した植物の病虫害応答に関与することが裏付けられる(図 5)。

### 5. 真核生物における ppGpp の機能

ppGpp が大腸菌で発見されて以降、動物におけ る ppGpp の存在が半世紀にわたり調べられてき たが、その存在は示されてこなかった。しかし近 年、我々は液体クロマトグラフィーと質量分析計 を組み合わせた検出系を駆使することで、ヒト細 胞やショウジョウバエからの ppGpp 検出に初め て成功した 58。ショウジョウバエにおける ppGpp の過剰蓄積は、代謝の変化と発生不全、さらには 細胞死を引き起こすこともわかった。これらの事 実は、動物においても ppGpp が細胞の恒常性維 持に重要な役割を担う可能性を示唆している。一 方で、動物においては ppGpp の加水分解ドメイ ンを持つ Mesh1 は発見されているものの 59,60、 RSH の ppGpp 合成ドメインを有する酵素は見つ かっておらず、未知の ppGpp 合成酵素が存在す る可能性が示唆されている。上述したシロイヌナ ズナの RSH を全て欠損した rsh 四重変異体にお いても微量の ppGpp が確認されていることから、 動物の ppGpp 合成機構は植物においても保存さ れており、葉緑体外で機能している可能性が考え られた。真核生物における ppGpp の機能に関す る更なる研究の進展が望まれる。

#### 謝辞

本解説記事執筆の機会をいただいた第 13 回年 会シンポジウム 1 のオーガナイザーである名古 屋大学の藤田祐一先生、山本治樹先生と、古本強 先生をはじめとした本誌編集委員の方々に感謝いたします。本研究は JST 次世代研究者挑戦的研究プログラム JPMJSP2106 と科研費 22K06276 の支援を受けたものです。本稿の図の一つを作成してくれた稲津匡貴氏に感謝いたします。

Received Mar 31, 2024; Accepted Apr 17, 2024; Published Apr 31, 2024

#### 参考文献

- Cashel, M. & Gallant, J. Two Compounds implicated in the Function of the RC Gene of Escherichia coli. *Nature* 221, 838–841 (1969).
- 2. Avarbock, D., Avarbock, A. & Rubin, H. Differential regulation of opposing Rel(Mtb) activities by the aminoacylation state of a tRNA·Ribosome·mRNA·Rel(Mtb) complex. *Biochemistry* **39**, 11640–11648 (2000).
- 3. Gropp, M., Strausz, Y., Gross, M. & Glaser, G. Regulation of Escherichia coli RelA requires oligomerization of the C-terminal domain. *J. Bacteriol.* **183**, 570–579 (2001).
- 4. Haseltine, W. A. & Block, R. Synthesis of Guanosine Tetra- and Pentaphosphate Requires the Presence of a Codon-Specific, Uncharged Transfer Ribonucleic Acid in the Acceptor Site of Ribosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **70**, 1564–1568 (1973).
- Ramagopal, S. & Davis, B. D. Localization of the Stringent Protein of Escherichia coli on the 50S Ribosomal Subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 71, 820–824 (1974).
- 6. Loveland, A. B. *et al.* Ribosome•RelA structures reveal the mechanism of stringent response activation. *eLife* 5, e17029 (2016).
- 7. Gentry, D. R. & Cashel, M. Mutational analysis of the Escherichia coli spoT gene identifies distinct but overlapping regions involved in ppGpp synthesis and degradation. *Mol. Microbiol.* **19**, 1373–1384 (1996).
- Xiao, H. et al. Residual guanosine 3',5'-bispyrophosphate synthetic activity of relA null mutants can be eliminated by spoT null mutations. J. Biol. Chem. 266, 5980–5990 (1991).
- 9. Vinella, D., Albrecht, C., Cashel, M. & D'Ari, R. Iron limitation induces SpoT-dependent

- accumulation of ppGpp in Escherichia coli. *Mol. Microbiol.* **56**, 958–970 (2005).
- Bougdour, A. & Gottesman, S. ppGpp regulation of RpoS degradation via anti-adaptor protein IraP. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 12896–12901 (2007).
- Seyfzadeh, M., Keener, J. & Nomura, M. spoTdependent accumulation of guanosine tetraphosphate in response to fatty acid starvation in Escherichia coli. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90, 11004–11008 (1993).
- 12. Lee, J.-W., Park, Y.-H. & Seok, Y.-J. Rsd balances (p)ppGpp level by stimulating the hydrolase activity of SpoT during carbon source downshift in Escherichia coli. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 115, E6845–E6854 (2018).
- Paul, B. J. et al. DksA: A Critical Component of the Transcription Initiation Machinery that Potentiates the Regulation of rRNA Promoters by ppGpp and the Initiating NTP. Cell 118, 311– 322 (2004).
- Perederina, A. et al. Regulation through the Secondary Channel—Structural Framework for ppGpp-DksA Synergism during Transcription. Cell 118, 297–309 (2004).
- 15. Wang, B. *et al.* Affinity-based capture and identification of protein effectors of the growth regulator ppGpp. *Nat. Chem. Biol.* **15**, 141–150 (2019).
- van der Biezen, E. A., Sun, J., Coleman, M. J., Bibb, M. J. & Jones, J. D. G. Arabidopsis RelA/SpoT homologs implicate (p)ppGpp in plant signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97, 3747– 3752 (2000).
- 17. Masuda, S. & Bauer, C. E. Null Mutation of HvrA Compensates for Loss of an Essential relA/spoT-Like Gene in Rhodobacter capsulatus. *J. Bacteriol.* **186**, 235–239 (2004).
- Hood, R. D., Higgins, S. A., Flamholz, A., Nichols, R. J. & Savage, D. F. The stringent response regulates adaptation to darkness in the cyanobacterium Synechococcus elongatus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, E4867–E4876 (2016).
- Puszynska, A. M. & O'Shea, E. K. ppGpp Controls Global Gene Expression in Light and in Darkness in S. elongatus. *Cell Rep.* 21, 3155– 3165 (2017).
- Hidese, R. et al. ppGpp accumulation reduces the expression of the global nitrogen homeostasismodulating NtcA regulon by affecting 2-

- oxoglutarate levels. *Commun. Biol.* **6**, 1–12 (2023).
- 21. Takahashi, K., Kasai, K. & Ochi, K. Identification of the bacterial alarmone guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate (ppGpp) in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **101**, 4320–4324 (2004).
- Givens, R. M. et al. Inducible Expression, Enzymatic Activity, and Origin of Higher Plant Homologues of Bacterial RelA/SpoT Stress Proteins in Nicotiana tabacum. J. Biol. Chem. 279, 7495–7504 (2004).
- Atkinson, G. C., Tenson, T. & Hauryliuk, V. The RelA/SpoT Homolog (RSH) Superfamily: Distribution and Functional Evolution of ppGpp Synthetases and Hydrolases across the Tree of Life. PLOS ONE 6, e23479 (2011).
- Suzuki, K. & Miyagishima, S. Eukaryotic and Eubacterial Contributions to the Establishment of Plastid Proteome Estimated by Large-Scale Phylogenetic Analyses. *Mol. Biol. Evol.* 27, 581– 590 (2010).
- Masuda S (2012) The stringent response in phototrophs. In: Najafpour M (ed) Advances in photosynthesis. In Tech, Rijeka, pp 487–500.
- Chen, J. et al. AtObgC-AtRSH1 interaction may play a vital role in stress response signal transduction in *Arabidopsis*. Plant Physiol. Biochem. 74, 176–184 (2014).
- 27. Maekawa, M. *et al.* Impact of the plastidial stringent response in plant growth and stress responses. *Nat. Plants* **1**, (2015).
- 28. Masuda, S. *et al.* The Bacterial Stringent Response, Conserved in Chloroplasts, Controls Plant Fertilization. *Plant Cell Physiol.* **49**, 135–141 (2008).
- 29. Tozawa, Y. *et al.* Calcium-activated (p)ppGpp Synthetase in Chloroplasts of Land Plants. *J. Biol. Chem.* **282**, 35536–35545 (2007).
- Johnson, C. H. *et al.* Circadian Oscillations of Cytosolic and Chloroplastic Free Calcium in Plants. *Science* 269, 1863–1865 (1995).
- Sai, J. & Johnson, C. H. Dark-Stimulated Calcium Ion Fluxes in the Chloroplast Stroma and Cytosol. *Plant Cell* 14, 1279–1291 (2002).
- 32. Ono, S. *et al.* Plastidial (p)ppGpp Synthesis by the Ca<sup>2+</sup>-Dependent RelA–SpoT Homolog Regulates the Adaptation of Chloroplast Gene

- Expression to Darkness in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* **61**, 2077–2086 (2020).
- 33. Mehrez, M., Romand, S. & Field, B. New perspectives on the molecular mechanisms of stress signalling by the nucleotide guanosine tetraphosphate (ppGpp), an emerging regulator of photosynthesis in plants and algae. *New Phytol.* **237**, 1086–1099 (2023).
- 34. Portis, A. R. & Heldt, H. W. Light-dependent changes of the Mg<sup>2+</sup> concentration in the stroma in relation to the Mg<sup>2+</sup> dependency of CO<sub>2</sub> fixation in intact chloroplast. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* **449**, 434–446 (1976).
- Hertig, C. & Wolosiuk, R. A. A dual effect of Ca<sup>2+</sup> on chloroplast fructose-1,6-biphophate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 97, 325–333 (1980).
- 36. Rocha, A. G. *et al.* Phosphorylation of *Arabidopsis* transketolase at Ser428 provides a potential paradigm for the metabolic control of chloroplast carbon metabolism. *Biochem. J.* **458**, 313–322 (2014).
- 37. Wang, Q., Yang, S., Wan, S. & Li, X. The Significance of Calcium in Photosynthesis. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 1353 (2019).
- 38. Nomura, Y. *et al.* ppGpp inhibits peptide elongation cycle of chloroplast translation system in vitro. *Plant Mol. Biol.* **78**, 185–196 (2012).
- Sato, M. et al. Bacterial Alarmone, Guanosine 5'-Diphosphate 3'-Diphosphate (ppGpp),
   Predominantly Binds the β' Subunit of Plastid-Encoded Plastid RNA Polymerase in
   Chloroplasts. ChemBioChem 10, 1227–1233
   (2009).
- 40. Nomura, Y. *et al.* Diversity in Guanosine 3',5'-Bisdiphosphate (ppGpp) Sensitivity among Guanylate Kinases of Bacteria and Plants. *J. Biol. Chem.* **289**, 15631–15641 (2014).
- 41. Ito, K. *et al.* Regulation of ppGpp Synthesis and Its Impact on Chloroplast Biogenesis during Early Leaf Development in Rice. *Plant Cell Physiol.* **63**, 919–931 (2022).
- 42. Zhang, Y., Zborníková, E., Rejman, D. & Gerdes, K. Novel (p)ppGpp Binding and Metabolizing Proteins of Escherichia coli. *mBio* **9**, 10.1128/mbio.02188-17 (2018).
- 43. Sherlock, M. E., Sudarsan, N., Stav, S. & Breaker, R. R. Tandem riboswitches form a

- natural Boolean logic gate to control purine metabolism in bacteria. *eLife* 7, e33908 (2018).
- 44. Jagodnik, J., Tjaden, B., Ross, W. & Gourse, R. L. Identification and characterization of RNA binding sites for (p)ppGpp using RNA-DRaCALA. *Nucleic Acids Res.* 51, 852–869 (2023).
- 45. Harchouni, S. *et al.* Guanosine tetraphosphate (ppGpp) accumulation inhibits chloroplast gene expression and promotes super grana formation in the moss Physcomitrium (Physcomitrella) patens. *New Phytol.* **236**, 86–98 (2022).
- Ohnishi, N., Zhang, L. & Sakamoto, W. VIPP1 Involved in Chloroplast Membrane Integrity Has GTPase Activity in Vitro. *Plant Physiol.* 177, 328–338 (2018).
- 47. Ihara, Y., Ohta, H. & Masuda, S. A highly sensitive quantification method for the accumulation of alarmone ppGpp in Arabidopsis thaliana using UPLC-ESI-qMS/MS. *J. Plant Res.* **128**, 511–518 (2015).
- 48. Goto, M., Imamura, S., Takaya, K. & Masuda, S. Significance of the plastidial stringent response for plant growth on soil. *Plant Growth Regul.* (2024) doi:10.1007/s10725-023-01109-7.
- Goto, M., Oikawa, A. & Masuda, S. Metabolic changes contributing to large biomass production in the Arabidopsis ppGpp-accumulating mutant under nitrogen deficiency. *Planta* 255, 48 (2022).
- 50. Inazu, M. *et al.* Complete Loss of RelA and SpoT Homologs in Arabidopsis Reveals the Importance of the Plastidial Stringent Response in the Interplay between Chloroplast Metabolism and Plant Defense Response. *Plant Cell Physiol.* pcad136 (2023) doi:10.1093/pcp/pcad136.
- 51. Romand, S. *et al.* A guanosine tetraphosphate (ppGpp) mediated brake on photosynthesis is required for acclimation to nitrogen limitation in Arabidopsis. *eLife* **11**, 1–22 (2022).
- 52. Honoki, R., Ono, S., Oikawa, A., Saito, K. & Masuda, S. Significance of accumulation of the chloroplasts alarmone (p)ppGpp in controlling photosynthesis and metabolite balance during nitrogen starvation Arabidopsis. Photosynth. Res. 135, 299-308 (2018).
- 53. Sugliani, M. *et al.* An Ancient Bacterial Signaling Pathway Regulates Chloroplast

- Function to Influence Growth and Development in Arabidopsis. *Plant Cell* **28**, 661–679 (2016).
- 54. Herrera-Vásquez, A., Salinas, P. & Holuigue, L. Salicylic acid and reactive oxygen species interplay in the transcriptional control of defense genes expression. *Front. Plant Sci.* **6**, (2015).
- 55. Qiu, D. *et al.* Bacterial Pathogen Infection Triggers Magic Spot Nucleotide Signaling in Arabidopsis thaliana Chloroplasts through Specific RelA/SpoT Homologues. *J. Am. Chem. Soc.* **145**, 16081–16089 (2023).
- 56. Yamburenko, M. V., Zubo, Y. O. & Börner, T. Abscisic acid affects transcription of chloroplast genes via protein phosphatase 2C-dependent activation of nuclear genes: repression by guanosine-3'-5'-bisdiphosphate and activation by sigma factor 5. *Plant J.* **82**, 1030–1041 (2015).

- 57. Mizusawa, K., Masuda, S. & Ohta, H. Expression profiling of four RelA/SpoT-like proteins, homologues of bacterial stringent factors, in Arabidopsis thaliana. *Planta* **228**, 553–562 (2008).
- 58. Ito, D. *et al.* ppGpp functions as an alarmone in metazoa. *Commun. Biol.* **3**, (2020).
- Sun, D. et al. A metazoan ortholog of SpoT hydrolyzes ppGpp and functions in starvation responses. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 17, 1188–1194 (2010).
- 60. Zhu, M. & Dai, X. Growth suppression by altered (p)ppGpp levels results from non-optimal resource allocation in Escherichia coli. *Nucleic Acids Res.* 47, 4684–4693 (2019).

# Control of chloroplast metabolism and plant growth by the bacterial second messenger ppGpp

Takanari Nemoto and Shinji Masuda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Life Science and Technology, Tokyo Institute of Technology

## 宇宙生物学的視点から捉える光合成生物と地球の共進化 ‡

<sup>1</sup>名古屋大学大学院理学研究科 <sup>2</sup>京都大学大学院人間・環境学研究科 <sup>3</sup>名古屋大学高等研究院

松尾 太郎 <sup>1,3\*</sup>、藤井 悠里 <sup>2</sup>、武田 真之介 <sup>2</sup>、三輪 久美子 <sup>1,3</sup>、新井 千紘 <sup>1</sup> 菅野 里美 <sup>3</sup>、宮下 英明 <sup>1</sup>

太古代に誕生したと考えられる最初の酸素発生型光合成生物であるシアノバクテリアは、地球の表層を段階的に酸化し、真核生物の誕生を促した。多様な生態系の礎を築いたシアノバクテリアの誕生と進化に対する理解は十分に進んでいない。とりわけ、なぜシアノバクテリアが集光性色素にクロロフィルと異なるビリン色素を採用したのだろうか?クロロフィルと異なる色素を利用することは、効率の良い光エネルギーの伝達のために複数のアンテナ色素タンパク質複合体が必然的に必要となる。さらにアンテナ色素タンパク質複合体を採用したフィコビリソームは、植物の集光性タンパク質に比べて、4から6倍のアミノ酸が必要なため、巨大な集光アンテナの形成につながった。

本論では、現存の光合成生物の集光性色素と光環境の相関に着目し、地球の時間スケールにおける光環境の変遷について検討した。その変遷に基づき、シアノバクテリア誕生当時の光環境と光合成生物の進化の関係について論じる。また将来の宇宙生命探査において、この地球の時間スケールでの光環境の変遷がどのような意味を持つのかを考える。

#### 1. 背景

1995 年に太陽系外で恒星の周りを公転している惑星(系外惑星)が発見されて以来<sup>1</sup>、5000 を超える惑星が報告されている<sup>2</sup>。2009 年に打ち上げられた Kepler 宇宙望遠鏡によって系外惑星の半径を調べた結果、その多くが地球あるいは地球の 2 倍程度の惑星であることが分かった<sup>3</sup>。つまり、私たちの宇宙は小さな惑星でありふれているのである。

次の大きなマイルストーンは、小さな系外惑星からの光を直接捉え、その惑星の表層環境を調べることである。究極的には、惑星表層の中に生命活動に関する痕跡の有無を調べることである。しかし、系外惑星は遠くにあるので、太陽系内の惑星や衛星のようにその場で探査することはでき

ない。では、一体どのように遠方の惑星において、 生命活動の有無を判断できるのだろうか?

本節では初めに、生命を宿す地球のような系外 惑星がどのように見えるのかを「Pale Blue Dot」 を例に説明する。次に、その場で探査できないリ モート観測から生命活動の有無をどのように調 査するのかについて従来のアプローチを交えて 紹介する。

#### 1.1 Pale Blue Dot

惑星科学者であり、SF 小説家でもあった Carl Sagan は、太陽系の外縁探査の任務後に太陽系から離れる Voyager 1 号に地球の写真を撮るように指令を出した。Sagan は、地球から 60 億 km 離れた Voyager 1 号から撮影された写真の中にある地

<sup>\*</sup>解説特集「多様な時間スケールから見る光合成生物」

<sup>\*</sup>連絡先 E-mail: matsuo@u.phys.nagoya-u.ac.jp

球を"Pale Blue Dot(淡く青い点)"と表現した。同時期に出版された著書 <sup>4</sup>「Pale Blue Dot: A Vision of the Human Future in Space」の中で、写真の中にある地球を次のように表現している: From this distant vantage point, the Earth might not seem of any particular interest. But for us, it's different. Consider again that dot. That's here. That's home. That's us. On it everyone you love, everyone you know, everyone you ever heard of, every human being who ever was, lived out their lives...(以下略)。

広大な宇宙の中で地球は点に過ぎないが、私たち人類・そして生命にとって、その写真に写った点こそが全てであると表現した。なお、現在においても地球から最も離れた地点から撮影された地球の写真である。太陽系の中から地球を観測したとしても点のように観測されるのである。もし、太陽系外に地球のような惑星が存在すれば、このような淡く青い点として観測されることが期待されるのである。地球のような生命を育む「第2の地球」と呼ばれる惑星の観測が2040年代に始まろうとしており、その惑星を象徴するフレーズとして"Pale Blue Dot"が今も使われている。

"Pale Blue Dot"が私たちに教えてくれることは、太陽系外にある惑星は点であること、そして、点の色を観測することで遠くにある惑星上の生命活動を探査できる可能性があることである。 生命を育む惑星の色の象徴として、「青」がある。 この青は、大気のレーリー散乱、そして海から来るものである。ここで一つの疑問が浮かぶ。地球生命史を通して、地球の色は青色だったのだろうか?

#### 1.2 宇宙生物学的視点から捉える光合成生物

どんなに近くの太陽系外の惑星でも点としてし か観測されないので、地球からの観測で捉えるこ とができるのは全球規模で起こる現象に限定さ れる。つまり、遠方にある惑星上の生命活動を捉 えるには、生命活動によって引き起こされた全球 規模での環境変化を観測することになる。

では、このような全球規模の環境変化を引き起こすことのできる生物とは一体どのような生物 だろうか?それこそが光合成生物である。光合成 生物は唯一、光エネルギーを生物が利用できる化学エネルギーに変換する生物である。とりわけ、酸素発生型光合成生物は、水と二酸化炭素だけが光合成に必要なので、太陽光が届く表層に生息域を広げることができる。他方、嫌気的環境に生息する光合成生物は、地球の表層環境に限定すれば、局所的に存在する化合物(例えば、硫化水素)や量的に限られた化合物(有機酸など)を光合成の電子供与体に利用するため、全球規模で大規模に生息することができない。地球のような惑星を仮定する場合、光合成によって全球規模の環境変化を引き起こすことのできる生物こそが酸素発生型光合成生物である。なお、基礎生産は小さいものの、光合成細菌の代謝によって地球大気にインパクトを与えた可能性が指摘されている 6%。

最初の酸素発生型光合成生物である、シアノバクテリアの誕生によって地球表層は段階的に酸化された 10-12。これは、水の酸化によって光合成の副産物として酸素が発生したからである。シアノバクテリアの生息する水環境から酸化が始まり、その後、陸や大気が酸化された。大気や陸が酸化される大酸化イベントの前に海底や浅瀬で形成された縞状鉄鉱床とも矛盾しない。まさに約23億年前の大酸化イベントは、陸や大気が急激に酸化された全球規模の環境変化である。

将来における宇宙生命探査計画では、惑星からの光を分光することで大気の組成を推定する。惑星大気に含まれる酸素は、遠方の惑星における生命活動の可能性として捉えることができる。さらに酸素に加えて、還元的なメタンも同時に検出されれば、大気は熱的に非平衡な状態にあり、酸素とメタンが常に大気に供給されていることを意味する<sup>13</sup>。

Sagan は、Galileo 衛星によって取得された地球のスペクトルから地球の大気が熱的に非平衡な状態にあることを示した <sup>14</sup>。現在の地球表層は、嫌気的な環境と好気的な環境が共存し、それぞれの環境に生息する生物の代謝によって熱的に非平衡な状態が作られている。つまり、酸素とメタンの共存は生命活動の有力な指標として現在も考えられている <sup>15</sup>。光合成細菌によるメタンの吸収線は検出可能であるものの <sup>16</sup>、肝心の酸素の吸収線は検出可能であるものの <sup>16</sup>、肝心の酸素の吸

収線は、酸素濃度がおよそ 10 %以上でないと検 出が難しく、5 億年から 7 億年前の間に起こった 二回目の酸化イベント以降において限定される <sup>17</sup>。地球の地球生命史 40 億年のうち、わずか 5 分 の 1 にすぎない。さらに、二回目の酸化イベント が起こった原因は依然として不明であり、地球と 生命の進化が進んだ生命活動のシグナルは、探査 をより困難にするだろう。

なお、酸素の副産物であるオゾンは、波長 9.6 μm に吸収線を形成し、大酸化イベント以降のわずかな酸素濃度でも深い吸収線を形成する。大酸化イベントを経験した大気を判定できる可能性がある。それでも、シアノバクテリアが水中で誕生してから少なくとも数億年は経過しており、大気組成のみで生命活動を予測するには限界がある。これまでに提案された惑星の大気組成に加えて、新たな生命活動の指標構築は将来の宇宙生命探査において極めて重要である。

#### 2. 光合成生物の進化

大酸化イベントは、好気性生物の誕生を促し、その結果、生物の多様性を促した <sup>18</sup>。大酸化イベントの中心的な役割を果たしたシアノバクテリアの誕生と進化は、依然として謎に包まれている。とりわけ酸素発生型光合成生物の進化という点において、光化学系 I および II は保存しているのに対して、その集光アンテナは大きく変化している。

本節では、シアノバクテリアと植物が利用する 集光アンテナの違いに着目しながら、集光アンテナの多様性を育む要因として生息環境における 光環境を取り上げる。

#### 2.1 集光アンテナの多様性

シアノバクテリアの集光アンテナは、チラコイド膜に結合した集光性色素とタンパク質の複合体によって形成される超分子複合体(フィコビリソーム)である <sup>18</sup>。他方、植物の集光アンテナはチラコイド膜を貫通した膜貫通型の集光性タンパク質 (LHC: Light Harvesting Complex)である。注目すべきは集光性色素である。植物が LHC の集光色素としてクロロフィルを利用しているの

に対し、シアノバクテリアはフィコビリソームの 集光色素としてビリン色素を利用している。前者 が青と赤色の光を吸光するのに対し、後者は緑から橙色の光を吸光する。これらの吸収波長帯は相 補的である <sup>19</sup>。ここで、光化学系ではクロロフィルが利用されるので、集光された緑や橙色の光は 複数のアンテナ色素タンパク質複合体を介しながら、光エネルギーを光化学系に伝達する。さらに、LHC とフィコビリソームのタンパク質に対する色素の含量を比較すると、LHC に比べて、フィコビリソームは色素当たりで 4 から 6 倍の アミノ酸を要求する。その結果、フィコビリソームは LHC に比べて巨大となり、およそ 10 倍の質量にもなる <sup>18</sup>。

最初の酸素発生型光合成生物であるシアノバクテリアは、高等植物と比べて集光アンテナに力を注いでいることが分かる。この大きな要因は、集光アンテナにクロロフィルの代わりに、ビリン色素を採用したことである。その結果、光エネルギーの伝達を工夫しなければならなかった。

ではなぜ、シアノバクテリアは集光性色素にビリン色素を採用したのだろうか?この問いに答えることこそ、酸素発生型光合成生物の誕生から大酸化イベントを引き起こすまでの間の進化の理解を進めることになるだろう。

#### 2.2 光環境による自然選択圧

太古代における光合成生物の進化を考える上で、現在の光合成生物の集光性アンテナの色素の選択について理解することは重要だろう。なぜなら、光合成生物の集光性色素の選択は、長い時間スケールで進化と見なすことができるからである。つまり、生物のランダムな選択が自然環境の選択圧によって選別され、生き残ったものが種として確立する。光合成生物において自然環境の選択圧として考えられ得るのが光環境と元素環境である。例えば、光環境がある色に限定されれば、その色を集光できる種が優勢になるだろう。先行研究において<sup>20</sup>、光環境の波長と光合成生物の誕生に関係があることが指摘されている。同様に、光合成生物において必須元素である窒素やリンの

利用が限定的な環境において、効率よく取り込める種が優勢になるだろう。

先述のように、集光性アンテナは種によって異 なる集光色素を使う。この一つの理由は、光環境 にあると考えられている。シアノバクテリアにお いては、複数のアンテナ色素タンパク質複合体を 利用する。緑の光 (520-570 nm) を吸光するフィ コエリスリン、橙の光 (580 - 630 nm) を吸光す るフィコシアニン、赤の光 (600 - 660 nm) を吸 光するアロフィコシアニンである。複数の色素を 利用して蛍光共鳴によってエネルギーを伝達さ せることで、その効率を90%以上に高めることが できる 21。一方で、現生のすべてのシアノバクテ リアがこれらすべてのアンテナ色素タンパク質 を有しているわけではなく、フィコエリスリンを もたず緑の光を効率的に吸収できない種も多数 存在する。また、一部の種では、その環境で利用 できる光の波長に合わせて、フィコエリスリンと フィコシアニンの量を調整する補色適応の能力 を有する。なお、全ての種において、クロロフィ ルの吸収波長に近い、アンテナ色素タンパク質複 合体のアロフィコシアニンやフィコシアニンを 利用する。

このように、シアノバクテリアの中でも色素の使い分けが起こっており、これが光環境によって引き起こされていると考えられている。先行研究によれば、海洋、透明な湖、濁った湖の光環境を調べると、前者から後者に向かって、有機物や無機物が多く含まれる結果、水中での透過光スペクトルが青色から赤色に変化することが分かった<sup>22</sup>。これは、水に含まれる有機物と無機物の量が多くなる結果である。

透過光スペクトルは、水と、水中の有機物あるいは無機物の透過率スペクトルの掛け算で決定される<sup>23</sup>。一部の有機物と無機物は、短波長側の光(青から緑にかけて)を吸収するので、水に含まれる有機物や無機物の量が多いと、青や緑の光が吸収されて赤の光環境が形成される<sup>22</sup>。逆に、これらの量が少ないと、水が最もよく透過する青の光環境が形成される。

海洋は湖に比べて相対的に有機物や無機物が少ないので青の光環境が形成され、湖や濁った湖で

は、緑から赤の光環境が形成される。シアノバクテリアの生息分布と光環境の相関をとると、橙から赤の光環境が形成される濁った湖では、フィコエリスリンを持たない緑色のシアノバクテリアが、海洋や透明な湖では緑の光を吸収する赤色のシアノバクテリアがそれぞれ卓越することが示された<sup>23,24</sup>。

また陸上植物は、周辺集光アンテナの色素にクロロフィル a とクロロフィル b を利用する。大気の散乱スペクトルは、およそ 480 nm にピークがあり、他のクロロフィル系の色素に比べて、クロロフィル b の吸収スペクトルと良い相関があることが示された  $^{25}$ 。つまり、集光に利用する色素の選択は、光環境の影響を受けている可能性があることが示された。

#### 3. 地球生命史における光環境の変遷

酸素発生型光合成生物の集光アンテナの進化は、 地球生命史における光環境の変遷による可能性 がある。地球生命史を俯瞰すると、還元的な表層 から酸化的な表層へ遷移する間、海の酸化還元環 境の観点から主に4つの時代に分けられる<sup>26</sup>。

- 1. 太古代初期(30億年以前): 還元的な鉄が海洋全体に広がった嫌気的環境
- 2. 太古代後期 (30 億年 25 億年前): 有光層 の部分的な好気的環境(海洋表層)と還元的 な鉄が豊富な嫌気的環境(海洋深層)
- 3. 原生代(25 億年 5 億 4 千万年前): 有光層 の部分的な好気的環境(海洋表層)と硫化水 素/還元的な鉄が豊富な嫌気的環境(海洋深層)
- 4. 顕生代(5 億 4 千万年以降):海洋全体が酸化された好気的環境

地球は形成当時、全ての表層(海洋・大陸・大 気)が還元的であった。酸化鉄を含む縞状鉄鉱床 の多くが、大気の酸素レベル上昇で特徴づけられ る大酸化イベントが起こる以前に海底や浅瀬で 形成されたことを踏まえれば<sup>27</sup>、陸や大気よりも 前に水環境から酸化が進行したと考えられる。こ れは、最初の酸素発生型光合成生物であるシアノ バクテリアの酸化が一つの要因である。これが「2」 番目の時代である。その後、原生代初期の大酸化 イベント以降に大気や大陸が酸化されて、陸から 硫酸イオンが海に流れ込むようになり、大陸縁辺 部を中心に 28、海の深層では硫化水素が豊富となり、「3」番目の時代へと遷移した 29。最終的に、5から7億年前に起こった2回目の酸化イベント (新原生代酸化イベント)によって海洋全体が酸化されて、ほぼ鉄元素が海洋から除去された。本節では、海洋の酸化・還元状態を踏まえて、私たちの計算結果を交えつつ、光合成生物の進化の選択圧になり得る海洋での光環境について俯瞰する。以下で紹介する図1から3は、現在投稿中の未出版のものを改変したオリジナルなデータに基づいている。

本論では、還元的な鉄の酸化が主にシアノバクテリアの生成する酸素によって間接的に起こるとして議論を進める。しかし、還元的な鉄の酸化には、還元的な鉄を電子供与体として用いる光合成細菌(photoferrotrophs)による直接酸化<sup>30,31</sup>や紫外線による光酸化<sup>32</sup>がある。この場合、シアノバクテリアの誕生以前に酸化鉄が生成されたことになる。本論では、省略するが、光合成細菌の還元的な鉄の酸化生成速度に基づけば<sup>33</sup>、緑の光

環境を形成するのに十分な酸化鉄濃度が生成されることがわかっている。この場合、緑の光環境がシアノバクテリアの誕生そのものに大きく関係した可能性がある。

#### 3.1 太古代初期の光環境

シアノバクテリアの誕生環境は、完全に嫌気的である。他方、シアノバクテリアの誕生以降、光合成の副産物としての酸素が周囲の水環境を酸化し、大酸化イベントを経て表層は酸化された。その結果、大気にはオゾン層が形成され、有害な紫外線が遮蔽されて生態系が陸地まで拡大したと考えられる。したがって、シアノバクテリアが誕生・進化した時代と、陸上植物が誕生した時代の表層環境は大きく異なり、その光環境も異なるだろう。

シアノバクテリアの誕生以前は、波長 300 nm より短い紫外線を吸収するオゾン層はなく 34,35、大気中の二酸化炭素が波長 200 nm より短波長の光を吸収するだけである。したがって、DNA の吸収スペクトルと一致する、波長 200 から 260 nm の光は地上に降り注ぐ可能性がある 36,37。

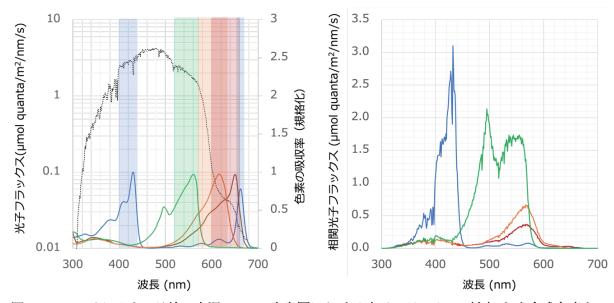


図 1. シアノバクテリア以前の水深 20 m の生息圏における光子フラックス(左)と光合成色素との相関フラックス(右)。

左図の黒線が水酸化鉄のない水深 20 m の生息圏に届く光子フラックスを示す。青がクロロフィル、緑・橙・赤は色素タンパク質複合体であるフィコエリスリン、フィコシアニン、アロフィコシアニンの吸収スペクトル(左)と相関光子フラックス(右)を示す。 なお、この透過光フラックスは、実際の遠洋域の消散係数 41 に基づいた計算である。

海は紫外線を定常的に遮蔽できるので、生息圏 が水中に広がる可能性がある。海だけで紫外線を 現在のレベルまで遮蔽するには、20から30mの 水深が必要であり、これよりも深いところでは生 息圏が広がっていた可能性がある38。この水深は、 現在の海中の光合成生物が生息する水深とも十 分に一致する<sup>39,40</sup>。現在の光合成生物は、深層か ら供給される栄養素が獲得できる領域と、光が届 く領域のバランスで決定しており、水深が深すぎ れば光量が制限され、水深が浅ければ、栄養素が 制限される。水深 20 m の領域における透過光ス ペクトルは図1左の通りであり、水中で最もよく 透過する青を含む幅広い波長領域が広がってい る。この透過光を吸収できる色素がクロロフィル やバクテリオクロロフィルであり、この光環境が 光合成生物の土台を築いた可能性がある。図1の 右は、水深20mへ入射する光子フラックスと各 色素の相関を示す。本論で導入する相関光子フ ラックスとは、入射光子フラックスと色素の吸収 率を波長ごとに掛け算したものであり、 各色素 が利用可能な光子フラックスを表す. ただし、こ こで利用した各色素の吸収率は規格化されたも のであり、本来は種によってフィコエリスリンと フィコシアニンの吸収率は異なるため、図1の右 の相関フラックスは概算値であることに注意が 必要である。図1の右に示すように、クロロフィ ルの吸収スペクトルと透過光スペクトルの間に 非常に良い相関がある。現状において仮説の段階 であり、光合成生物の誕生において青の光環境が 寄与し得るのかは検証が必要である。本研究では、 クロロフィルをベースとする光合成生物が初め に誕生したという仮定の下で議論を進める。

### 3.2. シアノバクテリア誕生後の光環境

酸素発生型光合成生物の誕生後、生息環境は徐々に酸化された。海の構造を踏まえれば、拡散係数の高い混合層で酸素濃度が一様になり、密度躍層を境界として、上層では好気的、下層では嫌気的な環境が広がっていることが予想される。この描像は複数の先行研究とも一致する<sup>33,42</sup>。

ここで、着目するのは鉄元素である。鉄元素は還元的な環境では、水に溶解し、酸化的な環境で

は酸素と反応して酸化鉄となり微粒子として析出する。酸化が始まる以前の海洋は、還元的な二価の鉄が熱水噴出孔から供給され、現在の1万倍以上の濃度の鉄が海洋全体に広がっていたと考えられる。シアノバクテリアの誕生以降、酸素が混合層に薄く一様に広がると、下層から供給された還元的な二価の鉄が密度躍層において酸素と反応し、酸化鉄が生成される。図2は、一次元の拡散方程式に基づいて、還元的な鉄、酸素、酸化鉄の分布を示す。このシミュレーションでは、先行研究で計測された太平洋の構造 43,44 に基づいた計算となっている。

図 2 に示すように、水深 50 m に設定された密度躍層において、酸化的な環境と嫌気的な環境が分かれている。海の拡散係数が高いために、酸化鉄は混合層全体に一様に広がっている。酸化鉄の濃度は、密度躍層への還元的な鉄の供給量で決定しており、太古代の海洋における還元的な鉄の濃度と密度躍層より下層の拡散係数の掛け算で決まる。還元的な鉄濃度と下層の拡散係数の平均的な数値を使えば、およそ 10 μM の酸化鉄濃度になる。還元的な鉄濃度や拡散係数の変化によって、酸化鉄濃度は 1 から 50 μM の範囲を取り得るものの、透過光スペクトルのピーク波長は大きく変わらない。

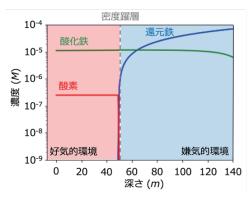


図 2. シアノバクテリア誕生以降の酸素 (赤)・還元的な鉄(青)・酸化鉄(緑) の濃度分布

太平洋の拡散係数 43,44 に基づいて計算。

酸化鉄の濃度を踏まえて、光の透過スペクトルを計算したものが図3の左である。透過光スペクトルは、海の吸収係数と酸化鉄の吸収係数に基づいて計算された。図3右に示すように、水深20

m の生息圏に到達する透過光の波長帯は 500 - 600 nm なので、緑の光を吸収するフィコエリスリンの吸収スペクトルと非常に良い相関がある。対して、クロロフィルの吸収波長帯は、酸化鉄や水の吸収によって届かない。クロロフィルではなく、色素タンパク質複合体のフィコエリスリンやフィコシアニンが光合成において有効である。したがって、ビリン色素を集光性アンテナ色素に利用したシアノバクテリアが緑の光環境でも繁栄することができたことが予想される。大酸化イベント以前に酸化鉄の生成に伴って作られた緑の光環境が選択圧として働いた可能性がある。

この透過光スペクトルの計算で用いた酸化鉄のモル吸光係数の計測では、実験室で生成した酸化鉄を用いた。この係数は、紫外線においては粒子径に大きく依存するが、可視光域では粒子径や生成方法にはほぼ依存しない。つまり、酸化鉄のモル濃度が決まれば、一意に透過光スペクトルが決定する。先行研究のモル吸光係数の計測とも一致する45。

論文投稿中のため割愛するが、独自に行った系 統樹解析に基づけば、シアノバクテリアの共通祖 先は、橙の光を吸収する色素タンパク質複合体の フィコシアニンだけでなく、緑の光を吸収する フィコエリスリンを有している可能性が高いこ とが分かった。さらに、実験室での光合成生物の 進化模擬実験によって、緑の光環境とフィコエリ スロビリンと非常に強い相関があることが分 かった。以上より、共通祖先のシアノバクテリア は非常に早い段階で緑の光環境を経験して、緑色 を吸光するフィコエリスリンを発達させた可能 性がある。

#### 3.3 太古代初期の光環境

この大酸化イベント前の類似環境が現在の地球上に複数存在する。代表的な湖としては、Lake La Cruz<sup>46</sup>、Lake Paul<sup>47</sup>、Lake Matano<sup>42</sup>、Lake Pavin<sup>48</sup>がある。これらの類似環境は、海洋においては、好気的な環境と嫌気的な環境の明確な境界はないが、火山島の周りの浅瀬に広がる熱水噴出孔から供給される還元的な鉄が酸化されて、海の表層に酸化鉄が含まれていることが確認されている。日本では、九州の薩南諸島にある硫黄島周辺海域が該当する <sup>49</sup>。私たちは、硫黄島周辺海域が該当する <sup>49</sup>。私たちは、硫黄島周辺海域での透過光スペクトルを計測した結果、水深 5.5 m において緑を中心とした光環境が形成されているこ

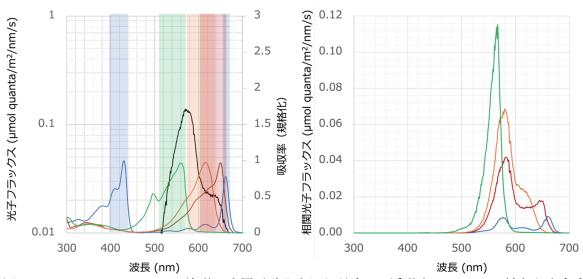


図3.シアノバクテリアにより海洋の表層が酸化された環境での透過光スペクトル(左)と光合成 色素との相関フラックス(右)

図2の酸化鉄の分布に基づいて、透過光スペクトルを導出。左図の黒線が酸化鉄のある条件下で水深20mの生息圏に届く光子フラックスを示す。青がクロロフィル、緑・橙・赤は色素複合タンパク質のフィコエリスリン、フィコシアニン、アロフィコシアニンの吸収スペクトル(左)と相関フラックス(右)を示す。

とを確認した。さらに、緑の透過光スペクトルに合致するように、緑の光を吸収するフィコエリスリンを持つシアノバクテリアが海の水面と比べて、豊富に存在することが分かった。これは、海の水面が可視光全域の青から赤までに利用できるのに対して、水深 5.5 m では主に緑の光が利用できるからだろう。

#### 3.4 原生代以降の光環境

原生代初期に起こった大酸化イベント以降、大 気にはオゾン層が形成され、表層は酸化された。 当時、大気中の酸素濃度は 0.001 から 0.1 PAL (PAL: present atmosphere level)であったが、現在と 同程度のオゾン層が形成されたと考えられてお り、水の表層まで生息圏が拡大した可能性がある。 また、大酸化イベント以降、大陸の酸化によって 生成された硫酸イオンが海に流れ込むように なった。その結果、大陸縁辺部や湧昇流を中心に 28、硫酸イオンが海の表層の酸化的環境に広がり、 海の下層の嫌気的環境では硫化水素として存在 した29。還元的な鉄との反応で、硫化鉄が生成さ れ、還元的な鉄が密度躍層に流れ込む量が減少し、 光合成生物の生息圏における酸化鉄の濃度も減 少した可能性がある。実際、縞状鉄鉱床の出現頻 度は大酸化イベントを境に急激に減少した。した がって、大酸化イベント前に形成された緑の光環 境から現代の海の光環境に近い状態に近づいた 可能性がある。生息圏が水面から深い所まで拡大 した結果、水面では青から赤までの可視光全域の 光環境が、水深の深い所では青の光環境が形成さ れて、その光環境に最適化された光合成生物が発 達しただろう。

#### 4. 地球生命の理解から宇宙生命探査へ

最後に、これまでの光合成生物と表層の光環境との共進化に関する知見を宇宙生命探査へ展開させる。1節で述べたように、最初の宇宙生命探査は、太陽系外の遠い惑星からの微弱なシグナルを観測するため、生命活動によって引き起こされる全球規模の環境変化を捉えることができる。

3 節で詳述したように、地球表層はシアノバク テリアの誕生以降、段階的に酸化された。現代の 海に含まれない微粒子を含んだ結果、海中の光環境も変遷した。この光環境の変遷は、海の外から見れば、海の色の変化として捉えることができる。現代の海洋の青は、水が長波長の赤から緑の光が青い光に比べて相対的に吸収されやすいために起こる。水深によって海の色も変わる。例えば、水深の浅い海では、赤い光だけが吸収されるため、青と緑の光が混じったエメラルドグリーンになる。

では、太古代や原生代における海の色も現代の 海洋と同じ青だったのだろうか?その謎を解く ヒントこそが段階的な酸化によって生じた、海の 表層に含まれる酸化鉄や硫酸イオンである。太古 代には、密度躍層で生じた酸化鉄の微粒子が海の 水面下まで広がることを述べた。酸化鉄の微粒子 は、青の光が吸収されるため、緑の光が海洋中に 残り、微粒子によって散乱される。その結果、海 は青から緑色に変わり、さらに現代の海洋と比べ て反射率も高くなる。現代の海洋は、青の波長帯 でおよそ5%の反射率に対して、太古代の海洋で は緑の波長帯ではその数倍だった可能性がある。 これは硫黄島の周辺海域における海の散乱スペ クトルの結果とも一致する50。ただし、酸化鉄が 非常に濃くなれば、緑の光まで吸収され、水の表 層で散乱された橙から赤色が混ざった色が海の 色になることが予想される。

原生代初期に起こった大酸化イベント以降、陸の酸化によって、海洋に大量の硫酸イオンが流れ込むようになり、大陸縁辺部や湧昇流を中心に酸化鉄の代わりに、硫黄酸化物の微粒子に置き換わったと考えられる。硫黄酸化物の微粒子は酸化鉄よりも波長の短い紫の光を中心に吸収し、表層の透過光を同様に散乱するので、反射率が高くなるだろう。その結果、原生代における海の色は青白い色になる。発生メカニズムは異なるものの、青潮もまた表層の浮遊した硫黄酸化物の微粒子によって青白い色となる51。なお、この硫酸イオンが全球的に生じていたのか、あるいは、大陸縁辺部のみに限定されるのかは今後の検討課題である。先行研究では、海の深層では硫化水素では

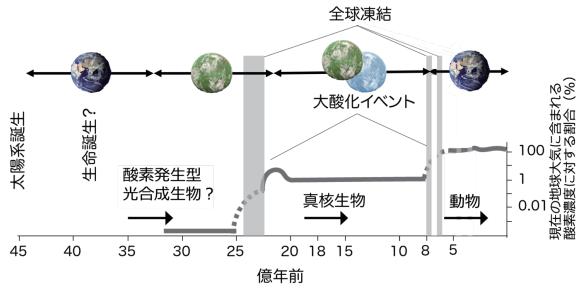


図 4. 惑星大気の酸素濃度と海の色の変遷

地球大気の酸素量の変遷は先行研究<sup>7</sup>に基づいて描画。なお、大酸化イベント前後に灰色で塗られた時代は全球凍結が起こった可能性を示す時代である。この時代は氷で覆われていたため、氷のアルベドで定義される白色になる.原生代の海の色は、酸化鉄が継続的に形成されて緑色の時代だったか、あるいは青白い色の時代だったかは今後の研究課題である.

なく、還元的な鉄が豊富であったことが指摘されており<sup>27</sup>、海の色は青白い色あるいは緑色のどちらの可能性も残されている。

以上、図4に惑星大気の酸素濃度の推移と海の 色の変遷について示す。以下はその4つの時代で ある。

- 1. 太古代初期: 現代の海洋とほぼ同じ青色
- 2. 太古代後期:酸化鉄濃度に応じた緑/赤茶色
- 3. 原生代: 大陸縁辺部や湧昇流を中心に青潮 のような青白い色、あるいは酸化鉄が継続 的に形成された緑色
- 4. 顕生代: 現代の海洋の青色

青とは異なる海の色は、海洋が完全に還元的あるいは酸化的ではなく、その中間的な状態にある可能性がある。さらに、この中間状態の海洋に含まれる微粒子が海洋の反射率を高めるために、現代の低い反射率の海に比べて検出の可能性を高めるかもしれない。したがって、海洋中の段階的な酸化こそが生命活動の一つの指標になり得るかもしれない。

他方、惑星表層に占める海洋の面積が小さければ、海の色を測定することが困難である。 さら

に、そもそも非生物による海洋の酸化の可能性があれば、海の色の変化と生命活動の指標を直接結びつけることができない。今後、海の色の変化がどのような表層環境において起こり得るのか、また非生物的にも海の色の変化が起こり得るのかを考えることは重要である。

#### 筘犥

初めに、本論を詳細に見ていただいた 2 名の査 読いただいた先生に感謝を申し上げます。より正 確な内容になり、誤解を生まない文章となりまし た。本論は、地球と光合成生物の共進化に焦点を 当てた「緑の海仮説」という投稿中の論文を宇宙 生物学的な視点から書き直したものになります。 本仮説の共同提案者であり、共著者である、星野 洋輔氏、藤田祐一氏、増田真二氏、藤本和宏氏、 柳生毅氏、辻梨緒氏、加藤祐樹氏には深くお礼を 申し上げます。また、第 13 回日本光合成学会シ ンポジウムのオーガナイザーである藤田祐一先 生および山本治樹先生には、発表の機会を与えて いただきましたこと、改めてお礼を申し上げます。

Received Mar 23, 2024; Accepted Apr 10, 2024; Published Apr 31, 2024

#### 参考文献

- Mayor, M. & Queloz, D. A Jupiter-mass companion to a Solar-type star, *Nature* 378, 355 – 359 (1995).
- 2. http://www.exoplanet.eu/
- 3. Howard, A. W. et al. Planet Occurrence within 0.25 AU of Solar-type Stars from Kepler, *Astrophys. J. Suppl.* **201**, 15 (2012).
- 4. Sagan, C. Pale blue dot: a vision of the human future in space. *New York: Random House* (1994).
- 5. 松尾太郎. 宇宙から考える生命とは何か? (河出書房新社, 2023).
- Kharecha, P., Kasting, J. & Siefert, J. A coupled atmosphere–ecosystem model of the early Archean Earth. *Geobiology* 3, 53-76 (2005).
- Canfield, D. E., Rosing, M. T. & Bjerrum, C. Early anaerobic metabolisms. *Phil. Trans.* R. Soc. B 361, 1819-1836 (2006).
- 8. Ozaki, K., Tajika, E., Hong, P. K., Nakagawa, Y. & Reinhard, C. T. Effects of primitive photosynthesis on Earth's early climate system. *Nature Geoscience* **11**, 55–59, (2018).
- 9. Sauterey, B., Charnay, B. et al. Coevolution of primitive methane-cycling ecosystems and early Earth's atmosphere and climate. *Nature Comm.* **11**, 2705 (2011)
- 10. Holland, H. D. The oxygenation of the atmosphere and oceans. *Phil. Trans. R. Soc. B* **361**, 903 915 (2006).
- Lyons, T. W., Reinhard, C. T. & Planavsky,
   N. J. Nature 506, 307 315 (2014).
- 12. Reinhard, C. T. & Planavsky, N. J. The history of ocean oxygenation. *Annu. Rev. Mar. Sci.* **14**, 331-353 (2022).
- Lovelock, J. E. A Physical Basis for Life Detection Experiments. *Nature* 207, 568 – 570 (1965).
- Sagan, C., Thompson, W. R., Carlson, R., Gurnett, D. & Hord, C. A search for life on Earth from the Galileo spacecraft. *Nature* 365, 715 – 721 (1993).
- 15. Kasting, J. F., Kopparapu, R., Ramirez, R. M. & Harman, C. E. Remote life-detection criteria, habitable zone boundaries, and the frequency of Earth-like planets around M and late K stars. PNAS 111, 12641 –

- 12646 (2014).
- 16. Thompson, M. A., Krissansen-Totton, J. et al. The case and context for atmospheric methane as an exoplanet biosignature. *PNAS* 119, e2117933119 (2022).
- Rugheimer, S. & Kaltegger, L. Spectra of Earth-like Planets through Geological Evolution around FGKM stars. Astrophys. J. 854, 19 (2018).
- Glazer, A. N. Light harvesting by phycobilisomes. Annu. Rev. Biophys. Biophys Chem. 14, 47-77 (1985).
- 19. Dagnino-Leone, J., Figueroa, C. P., Castaneda, M. L. *et al.* Phycobiliproteins: structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* **20**, 1506–1527 (2022).
- Nisbet, E. G. Cann, J. R. & van Dover, C. L.
   Origin of photosynthesis. *Nature* **373**, 479 480 (1995).
- 21. David, L. Prado, M. Arteni, A. A. *et al.* Structural studies show energy transfer within stabilized phycobilisomes independent of the mode of rod-core assembly. *Biochim. Biophys. Acta* **1837**, 385 395 (2014).
- 22. Stomp, M., Huisman, J. Voros, L. *et al.* Colourful coexistence of red and green picocyanobacterial in lakes and seas. *Ecology Letters* **10**, 290 298 (2007).
- 23. Babin, M. Stramski, D. Ferrari, G. M. *et al.*Variations in the light absorption coefficients of phytoplankton, nonalgal particles, and dissolved organic matter in coastal waters around Europe. *J. of Geophy. Res. Oceans* **108**, 3211 (2003).
- 24. Stomp, M. Huisman, J., de Jongh, F. *et al.*Adaptive divergence in pigment composition promotes phytoplankton biodiversity. *Nature* **432**, 104 107 (2004).
- 25. Kume, A., Akitsu, T. & Nasahara, K. N. Why is chlorophyll *b* only used in light-harvesting systems? *J. Plant Research* **131**, 961 972 (2018).
- Camacho, A., Walter, X. A., Picazo, A. & Zopfi, J. Photoferrotrophy: Remains of an ancient photosynthesis in modern environments, *Front. Microbiol.* 8, 323

- (2017).
- 27. Konhauser, K. O., Planavsky, N. J., Hardisty, D. S., *et al.* Iron formations: a global record of Neoarchean to Paleoproterozoic environmental history, *Earth-Science Review* **172**, 140 177 (2017).
- 28. Poulton, S.W. & Canfield, D.E. Ferruginous Conditions: A dominant feature of the ocean through Earth's history. *Elements* 7, 107-112 (2011).
- 29. Canfield, D. E. A new model for Proterozoic ocean chemistry, *Nature* **396**, 450 453 (1998)
- 30. Widdel, F. et al. Ferrous iron oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria. *Nature* **362**, 834 836 (1993).
- 31. Beukes, N. Early options in photosynthesis. *Nature* **431**, 522 523 (2004).
- 32. Tabata, H., Sekine, Y., Kanzaki, Y. & Sugita, S. An experimental study of photo-oxidation of Fe(II): Implications for the formation of Fe(III) (hydro)oxides on early Mars and Earth. *Goechimica et Cosmochimica Acta* **299**, 35 51 (2021).
- 33. Kappler, A., Pasquero, C., Konhauser, K. O. & Newman, D. K. Deposition of banded iron formations by anoxygenic phototrophic Fe(II)-oxidizing bacteria. Geology 33, 865 – 868 (2005).
- 34. Farquhar, J., Bao, H. & Thiemens, M. Atmospheric influence of Earth's earliest sulfur cycle. *Science* **289**, 756 758 (2000).
- 35. Ohmoto, H., Watanabe, Y., Ikemi, H., Poulson, S. R. & Taylor, B. E. Sulphur isotope evidence for an oxic Archean atmosphere. *Nature*, **442** 908 911 (2006).
- 36. Ranjan, S. & Sasselov, D. D. Constraints on the early terrestrial surface UV environment relevant to prebiotic chemistry. *Astrobiology* 17, 169 – 204 (2017).
- 37. Rugheimer, S. A., Segura, L., Kaltenegger, L. & Sasselov, D. UV surface environment of Earth-like planets orbiting FGKM stars through geological evolution. *Astrophys. J.* **806**, 137 (2015).
- 38. Cockell, C. S. Ultraviolet radiation and the photobiology of Earth's early oceans. *Orig.*

- *Life Evol. Biosph.* **30**, 467 500 (2000).
- 39. Brown, Z. W., Lowry, K. E., Palmer, M. A. et al. Characterizing the subsurface chlorophyll a maximum in the Chukchi Sea and Canada, Basin. Deep. Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 118, 88 104 (2015).
- 40. Martin, J., Tremblay, J.-E., Gagnon, J. *et al.* Prevalence, structure and properties of subsurface chlorophyll maxima in Canadian Arctic waters, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **412**, 69 84 (2010).
- 41. Smith, C. R. & Baker, K. S. Optical properties of the clearest natural waters (200 800 nm). *Applied Optics* **20**, 177 184 (1981).
- 42. Crowe, S. A., Jones, C.-A., Katsev, S. *et al.* Photoferrotrophs thrive in an Archean ocean analogue, *PNAS* **105**, 15938 15943 (2008).
- Itoh, S., Kaneko, H., Kouketsu, S. et al. Vertical eddy diffusivity in the subsurface pycnocline across the Pacific, J. of Oceanogr. 77, 185 – 197 (2021).
- 44. Ledwell, J. R., Watson, A. J. & Law, C. S. Evidence for slow mixing across the pycnocline from an open-ocean tracerrelease experiment. *Nature* **364**, 701 703 (1993).
- 45. Babin, M. & Stramski, D. Variations in the mass-specific absorption coefficient of mineral particles suspended in water, *Limnol. Oceanogr.* **49**, 756 (2004).
- 46. Walter, X. A., Picazo, A., Miracle, M. R., et al. Phototrophic Fe(II)-oxidation in the chemocline of a ferruginous meromictic lake, Frontiers in Microbiology 5, 713 (2014).
- 47. Taillefert, M. & Gaillard, J.-F. Reactive transport modeling of trace elements in the water column of a stratified lake: iron cycling and metal scavenging, *J. of Hydrology* **256**, 16 34 (2002).
- 48. Bura-Nakic, E., Viollier, E., Jezequel, D., Thiam, A. & Ciglenecki, I. Reduced sulfur and iron species in anoxic water column of meromictic crater Lake Pavin, *Chemical Geology* 266, 311 – 317 (2009).
- 49. Kiyokawa, S., Kuratomi, T., Hoshino, T., Goto S. & Ikehara, M. Hydrothermal

- formation of iron-oxyhydroxide chimney mounds in a shallow semi-enclosed bay at Satsuma Iwo-Jima Island, Kagoshima, Japan. *GSA Bulletin* **133**, 1890 1908 (2021).
- 50. Urai, M. & Machida, S. Discolored seawater detection using Aster reflectance products: A case study of Satsuma-Iwojima, Japan. *Remo. Sens. Environ.* 99, 95 104 (2005).
- 51. Higa, H., Sugahara, S., Salem, S. I., Nakamura, Y. & Suzuki, T. An estimation

method for blue tide distribution in Tokyo Bay based on sulfur concentrations using Geostationary Ocean Color Imager (GOCI). *Estuarine, Coast. Shelf Sci.* **235**, 106615 (2020).

# Coevolution of photosynthetic organisms and Earth from an astrobiological perspective

Taro Matsuo<sup>1,2</sup>, Yuri I. Fujii<sup>3</sup>, Shinnosuke Takeda<sup>3</sup>, Kumiko Miwa<sup>1,2</sup>, Chihiro Arai<sup>1</sup>, Satomi Kanno<sup>2</sup>, Hideaki Miyashita<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Science, Nagoya University
 <sup>2</sup> Institute of Advanced Research, Nagoya University
 <sup>3</sup> Graduate School of Human and Environmental Studies, Kyoto University

## 表紙の紹介

## 光合成水分解・酸素発生反応の機構を映画のコマ送りのように見る

岡山大学異分野基礎科学研究所 沈 建仁、菅 倫寛

光合成の水分解・酸素発生反応は、Kok サイクルと呼ばれる S 状態遷移モデルに従って進行することが知られている。このモデルにおいて、触媒の状態が暗黒で安定な  $S_1$  状態から、1 閃光照射ごとに順次  $S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow (S_4) \rightarrow S_0$  状態に遷移し、 $S_3 \rightarrow (S_4) \rightarrow S_0$  遷移において分子状酸素が放出されることになる。水分解触媒の正体が  $Mn4CaO_5$  クラスターであり、その  $S_1$  状態での構造は、高分解能 X 線結晶構造解析  $^1$  や X 線自由電子レーザーを用いた無損傷構造解析  $^2$  により、歪んだイス型であることが明らかになっている。この構造において、5 つの酸素原子のうち、O5 と呼ばれる酸素原子は周りの Mn イオンとの結合距離が長く、結合が弱いので、反応の過程で切り出されて、分子状酸素を形成するための基質酸素原子の一つである可能性が示唆された。さらに X 線自由電子レーザーを用いた、ポンプープローブ実験により、1 または 2 閃光照射 5-10 ミリ秒後の、 $S_2$ ,  $S_3$  状態の構造が解析され  $^{3.4}$ 、それによれば、2 閃光照射後 O5 の近傍に新たな酸素原子である O6 の挿入が観察され、O5 との間で酸素一酸素結合を形成しうることが示された。しかし、 $S_2$  や  $S_3$  状態が形成される過程で、どのような過渡的な構造変化が起きているかについては明らかになっていなかった。

表紙の図は、Li らが報告した論文の結果  $^5$  を漫画的に示したものである。この研究は、1 または 2 閃光照射によって  $S_2$  または  $S_3$  状態がどのような構造変化を経て形成されるかを、フェムト秒の X 線自由電子レーザーを用いて 20 ナノ秒から 5 ミリ秒の時間範囲でポンプープローブ実験によって明らかにしたものである。各時点での構造を繋ぐと、あたかも一連の構造変化を映画のコマ送りのように見ることができる。この研究によれば、1 閃光照射後、電子供与体である  $Y_Z$ の酸化、 $Y_Z$ からのプロトンの移動、 $M_1$ 4 からの電子供給、電子受容体側の  $Q_A$ 0 還元、等に伴う構造変化が時分割的に進行することが見えるが、基質酸素の挿入などは見えなかった。一方、裏表紙で示しているように、2 閃光照射後は上記の構造変化に加えて、早い時間(1 マイクロ秒一30 マイクロ秒)で、本来の  $O_6$  はまだ見えないが、アミノ酸  $O_6$ 1 で、本来の  $O_6$ 2 はまだ見えないが、アミノ酸  $O_6$ 3 付近に新たな酸素原子(水分子) $O_6$ 4が出現し、 $O_6$ 4のマイクロ秒以降、 $O_6$ 5の電子密度が徐々に増え、それに伴って  $O_6$ 5の電子密度が弱くなり、最終的に  $O_6$ 7 に関うしたことが示された。このことは、 $O_6$ 6が  $O_6$ 6 の前駆体であり、時間とともに  $O_6$ 6 の位置に移動したことを示している。これに伴い、 $O_6$ 7 の $O_6$ 7 の一連の他の部位やプロトンチャンネル、水チャンネルで大きな構造変化が観察され、 $O_6$ 8 クラスター及びその周りのタンパク質環境が協同で酸素の基質となる水の輸送、プロトンの放出等の一連の反応を完成させていることを示している。

#### 参考文献

- 1. Umena Y., Kawakami K., Shen J.-R. & Kamiya N. Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. Nature. **473**, 55-60 (2011).
- 2. Suga, M. et al. Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses. Nature. **517**, 99-103 (2015).
- 3. Suga, M. et al. Light-induced structural changes and the site of O=O bond formation in PSII caught by XFEL. Nature. **543**, 131-135 (2017).
- 4. Suga, M. et al. An open-cubane oxyl/oxo mechanism for O=O bond formation in PSII revealed by XFEL. Science. **366**, 334-338 (2019).
- 5. Li, H. et al. Oxygen-evolving photosystem II structures during S<sub>1</sub>-S<sub>2</sub>-S<sub>3</sub> transitions. Nature. **626**, 670-677 (2024).

## 若手の会特別企画:若手研究者のキャリアパスレポート!

## 第18回 「北米の国から」

## 関西学院大学 生命環境学部 生物科学科 西村 健司



関西学院大・宗景研究室 助教の西村健司と申します。若手の会会長で同じ学科の同僚の嶋川銀河先生から本企画のお誘いを頂き、書かせていただくことになりました。私のようなアンダーグラウンドな研究者はやや場違いかなとも思いましたが、せっかくの機会ですので有難くお引き受けいたしました。私の専門は植物生化学で、葉緑体のタンパク質分解に興味を持って研究を行っています。2010 年に奈良先端大で学位を取得し、そのまま同大で半年ほど博士研究員として働いた後、2011 年 6 月~2015年3月まで米国ニューヨーク州イサカにあるコーネル大学の Klaas van Wijk 研究室で博士研究員として研究留学していました。PIの van Wijk 教授は、質量分析計による植物プロテオミクス研究の第一人者のひとりで、同手法を用いて葉緑体プロテアーゼの機能解析を精力的に進めるとともに、20年近く前から葉緑体プロテオームのデータベース (PPDB)を公開し、近年はモデル植物のプロテオームデータの統合データベース (Arabidopsis PeptideAtlas)の構築にも貢献されています。帰国して10年近く経っているせいか既に記憶がおぼろげですが、当時を振り返って米国留学中のことをご報告いたしますので、なんとなくその雰囲気を分かって頂けたら幸いです。

コーネル大学のメインキャンパスがあるイサカは、ニューヨークの中心部から飛行機で1時間、車やバスで4~5時間ほど離れた田舎町で、カナダの国境の方が近いこともあって真冬は気温が−20℃まで下がります(図1)。また大学を中心とした町といった感じで、学期中は賑やかですが夏や冬の休暇シーズンは学生が帰省するため閑散とし、特にクリスマスシーズンは店もほとんどやってないためゴーストタウン化していました。大学の敷地は広大で、学内には湖や滝、渓谷などもあり、渓谷に架かるつり橋には飛び込み防止の高いフェンスが設置されていました。コーネル大学はアイビーリーグの1つの私立大学ですが、いくつかの学部学科はニューヨーク州のサポートを受けているため一部



図 1. キャンパス内にある湖 (2015年冬)

州立大学といった形で運営されています。私が所属していた van Wijk ラボは当時 Department of Plant Biology に属しており、こちらの学科もその 1 つでした。同じ建物には June Nasrallah 教授はじめ著名な PI が十数名在籍していました。私が在籍していた頃の研究室のメンバー(図 2)は大体 10 人前後で、同じ学科の中では多い方だったと思います。ラボメンバーのバックグラウンドは様々でした。PI のvan Wijk 教授は出身がオランダで、その奥さんは mass spec のスペシャリストでイタリア出身、ポスドクは韓国、ロシア、バングラデシュ、中国、大学院生は中国、アメリカ、カナダという状態のところに私が加わり、その後メンバーの異動や卒業等がありながらドイツやインド、韓国、台湾などからもポスドクや院生がやってくる感じでした。また毎年夏には国内の大学の学部 2、3 年生がインターンでラボに短期滞在していました。彼らはみな大学院進学希望で、そのためには推薦状が 2~3 通必要なため、学部の早いうちからこうした他大学のインターンに参加してネットワークを作っていました。この時期はボスが夏季休暇で不在となるため、ポスドクが毎年持ち回りでメンターをしていました。私は 2013年にコロンビア大学の学部 2 年生のメンターをやりました。

在籍当時の van Wijk ラボは 3 つほどのチーム編成で、葉緑体 Clp プロテアーゼの解析チーム、C4 maize 解析チーム(オレゴン大の Alice Barkan ラボとの共同研究)、mass spec 専門のチームからなり、それ ぞれポスドク 2 名と院生 1 名前後という構成でした。また各メンバーは半独立のプロジェクトを少な くとも 3 つ並行して進めていて、できない実験は他のメンバーに任せるなどの共同研究が基本でした。 私は Clp 解析チームの生化学実験担当で、Clp の NSF グラントで雇用されていました。実験手法は日

本で身に付けたことをアップデートしていった感じでした。ラボの勤務時間は決まってなかったと思いますが、平日は皆大体 10 時~18 時まで実験、ラボミーティングは水曜の 10 時過ぎ~正午で、終わったらポスドク・学生みんなで学食に行って 2 時間近くランチ (6 ドルの食べ放題)を食べ、午後はダラダラ実験するか早めにさっさと帰る人もいました。ボスはディナーで一旦帰宅してからまたラボに戻って深夜まで働いていました。ラボミーティングは毎週 2 時間弱で発表者は 1 人ですのでデータはそれなりに必要でした。またプレゼン中は質問や助言、補足説明などあればその都度話を止めながら進行する形式で、私がいた頃は基本的にプログレスのみでした。ちなみに発表者はクッキー等を持参して振舞うのが慣例でした。

在籍中の研究は比較的順調に進んでくれてラッキーでした。最初のころは Clp と関係ないものまで手を広げて、細かいものも併せて 7 つぐらいプロジェクトがあって大変でしたが、1 年ほど経過した辺りで本業に集中するためにそれ以外を全部終了するよう方針が変わったことで、やることがはっきりしました。 聞けばラボの同僚も最初の 1 年は様子見の期間で、同じような経験をしていたようです。そしてそこからは 10 年分のデータが蓄積していた Clp サブユニットの研究内容をまとめるところや、その内容から派生した新規サブユニットの研究もやりました。また米国のグラントプロポーザルの準備段階も少し経験させて貰って、充実していました。今思えばこの時期が私の研究生活のピークだったかもしれません。

米国滞在中は基本的には淡々と過ごしていましたが、たまにハロウィンや妊婦さんを激励する会などの集まりや、まれにボブ・ディランがコーネルに来たら同僚とライブに行くなどしていました。イサカ近辺は大自然に囲まれて釣りやトレッキングには最高だそうですが、インドア派ですので全然でした。日本には年に2回ほど帰っていました。ビザの更新が毎年ありましたので休暇を兼ねて夏に1回、クリスマス時期に1回帰省していました。日本のお盆時期は米国のバケーションシーズンではないため航空券は安かったです。ちなみに渡米直後は適当で住むところもない状態でした。幸い、現地の先輩ポスドクの方々のお陰で、引き払う前の空き部屋に寝泊りさせて頂けましたし、シェアハウスの一室を数カ月サブレットで借りることができて、まともに生活できました。印象的だったのが、有難かったので何か恩返しをしたいと伝えたところ、みなさんロ々に自分もこれまで同じように助けられたので恩返しは新しく来る人にしてあげて下さい、とおっしゃられることでした。同じことを私も言いたかったですが、結局その機会はありませんでした。サブレット終了後は、同じシェアハウスを通年契約して院生2、3名と住んでいましたが、毎週金曜と土曜の夜に家で60人規模のパーティーを開催していて地獄みたいでした。結局、この家は諸事情により1年で大家さんに全員追い出されたため、その後は郊外の静かなアパートの半地下物件で生活しました。ここは裏庭の芝生一面にホタルが大発生したこともあって良いところでした。

3年半ほど留学しましたが、英語はそれほど上達しなかったです。日本で学位を取ったバングラデシュ人ポスドクとしょうもない話ばかりしていたからか、退職直前に受けた TOEIC テストの点数は渡米前と比べて 50 点しか上がってなかったです。渡米直後、飲食店の店員さんに「for here (or) to go?」と聞かれて「yes.」と答えていましたので、それよりは成長したと思いますが、日常会話はなかなか慣れず、学食の麺コーナーでは最後まで wheat noodles の発音が通じず、オーダーしても rice noodles しか出てきませんでした。ところが不思議なことに、大事な場面では意外と通じているので人体はうまくできているなと思います。これは身近な日本人の友達や先輩も同様の体験をしていました。例えば van Wijk

教授との採用面接の際、電話口では何を言っているのかよく聞き取れなかったのですが、肝心なところは意思疎通ができていたようですし、銀行口座を開設するときも行員の説明が早口にもかわらず思ったよりも理解して契約できていました。また私自身は英語が下手なことは必ずしも悪いことばかりではないと思っていました。英語ド言だから仕方がないということで余計なけったともありましたし、余計な一言が言えませんので同僚の愚痴にも気持ちよりできたこともありましたし、余計なら付き合ってあげられたのではないでしょうか。聞き流す能力も備わったかもしれません。ただ、英語は下手なりに敬語など分相応の言動は心がけていました。渡米したら突然上司に友達口調にな

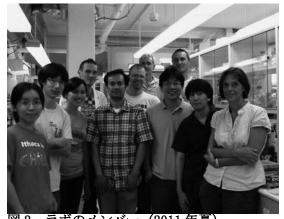


図 2. ラボのメンバー (2011年夏)

るのも不自然ですし、英語を喋り始めたら急に動作が欧米化して身振り手振りが派手になることも求められていないと思い、日本人らしく普通にしていました。

2011年に van Wijk ラボに来たときは、同じ学部に日本人は私含めて 4 人いましたが、年々いなくなって留学最後の年には日本人は私 1 人でした。コーネルの日本人コミュニティーに関しても、私の在籍当時で既に昔に比べたらかなり減ったという話をよく聞きました。また大学前のカレッジタウンというところに日本人が経営している飲食店があり、留学中の日本人は大体そこに行っていて、私もそこでシャバシャバの豚キムチなどを食べていましたが、そのお店もパンデミックの頃に閉店していました。今回の記事の話を頂いたときに、最近は光合成分野でも留学経験がある若手研究者が減っているとお聞きしました。もし海外留学に興味がある方がこの記事を目にする機会があって、日本とそんなに変わらないな、自分でも出来そうだなと前向きな気持ちになって貰えたら嬉しいですし、イサカでお世話になった恩返しにもなるかもしれません。最後になりましたが、こうして米国留学という貴重な経験ができましたのは、受け入れてくださった van Wijk 教授や奈良先端大での指導教員であった横田明穂教授、推薦してくださった先生をはじめ多くの方々のお陰ですので、この場を借りてお世話になった皆様全員に感謝申し上げます。

## Taiwan-Japan Joint Seminar on Photosynthesis Research 2023 開催報告

## 京都大学大学院 農学研究科 伊福研究室 博士後期課程 2 年 今泉 滉

2023年10月16日に国際若手の会セミナー「Taiwan-Japan Joint Seminar on Photosynthesis Research 2023」を台湾の国立台湾大学にて開催いたしました。本セミナーは、日本植物生理学会と台湾植物学会の合同国際会議 Taiwan-Japan Plant Biology 2023に合わせて、日本光合成学会若手の会と学術変革領域研究 A「光合成ユビキティ」が企画しました。

セミナーには日本と台湾の両国から合わせて 50 名近い参加者が集まり、両国から若手研究者 5 名ずつが口頭発表しました。日本からは、嶋川銀河先生(関西学院大)、神保晴彦先生(東大)、小川由さん(岡山大)、亀尾辰砂さん(北大)、大波千恵子さん(京大)にご発表いただきました。発表内容は C4 植物の遺伝子から紅藻の光合成電子伝達制御まで多岐にわたり、温かい雰囲気ながらも時に鋭い質問も飛び交いました。日本人の学生も積極的に挙手して英語で質問していたことが印象的でした。皆様のおかげで大変良い会になったと感じております。セミナーの様子については、小川由さんに参加報告記事を執筆していただきましたので、そちらをご覧ください。本セミナーを開催して何より嬉しかったのが、日本と台湾の若手研究者間でたくさんの友情が芽生えたこと



写真 1. **オーガナイザー** (左から順に吉田先生、私、Ho 先生、Fu 先生)

です。台湾側もこのような交流の場を喜んでくださり、次につながる会になったと思います。これからも、日本の光合成学会若手の会が率先して、若手光合成研究者の国際的な交流を促進できるよう、活動していければと考えております。

最後になりましたが、本セミナーの発表者の皆様と参加してくださった皆様に心より感謝申し上げます。また、本セミナーを一緒にオーガナイズしてくださった吉田啓亮先生(東工大)、Ming-Yang Ho 先生(National Taiwan Univ.)、Han-Yi Fu 先生(National Sun Yat-sen Univ.)、本セミナーをオーガナイズする機会をくださった嶋川先生、本セミナーの開催を最初に提案してくださった坂本亘先生(岡山大)に深く御礼申し上げます。さらに、至れり尽せりの会場準備をしてあたたかく迎え入れてくださった Ho 先生のラボの皆様に厚く御礼申し上げます。そして、本セミナーは日本光合成学会、学術変革領域研究 A「光合成ユビキティ」、College of Life Science, National Taiwan University、Taiwan Society of Plant Biologistsの共催により実現いたしました。関係者の皆様にこの場をお借りして深く感謝申し上げます。



写真 2. **集合写真**: 全員で光合成(?)のポーズ

# Taiwan-Japan Joint Seminar on Photosynthesis Research 2023 に参加して

## 岡山大学 資源植物科学研究所 坂本研究室 博士後期課程3年(参加当時) 小川 由

日本植物生理学会と台湾植物学会の合同国際会議 Taiwan-Japan Plant Biology 2023 の後、日本と台湾の光合成のメンバー(若手多数)で集まり、Taiwan-Japan Joint Seminar on Photosynthesis Research 2023 が開催されました。植物研究全体の大きな学会では正直光合成の詳しい話に興味を持って下さる方が少ないように感じているので、ありがたい企画だと思いました。また、講演者は若手のみ、となりました。通常の国際学会では若手研究者は数人がショートトーク、ということが多いですが、今回は一人持ち時間 15 分で各国から 5 人ずつ、続けて 10 人話す、という新鮮なプログラムでした。自分と同年代の海外の光合成研究者のトークを対面で聞くのは思えば初めてだったかもしれません。台湾側の講演者も、こちら側と同様、学年(ポジション) も性別もバラバラの 5 人でしたが、どことなく似たような人たちで、親近感の感じる国際セミナーでした。時々笑いもありました。研究発表も光合成生物の環境適応・進化、光合成システムの品質管理、電子伝達、と様々で、普段の学会に劣らず充実した内容になっておりました。セミナー後の交流会でも皆さん発表内容に関して話したり、一方で、意外な共通の知り合いがいて話が弾んだり、近くのお勧めのバーの話をしたり、と大いに盛り上がりました。

個人的な話ですが、私は講演者の一人として参加させていただき、コロナ禍もあって D3 にして初めての海外学会現地参加、二回目の対面式口頭発表となりました。そのため学会中はずっと気の抜けない状態でしたが、自分のしていること、考えていることを二国の光合成研究者にぶつけてみる、フィードバックをもらう、というのは、本当に貴重な体験で嬉しかったです。内容のクオリティは別として...。ただ、今後はもっと気楽な気持ちで楽しめるようになりたいな、とも思いました。

以下、プログラム外の話なので、ここに書いていいのかよく分かりませんが、台湾側のオーガナイザーの方々がとても親切で、最後まで残った日本人メンバーを連れて、自分たちの研究室の中や、国立台湾大学の博物館、植物園などの各施設、最後には大学近くの夜市まで案内して下さいました。そして私たちはその後もさらに観光・食事を楽しみ、セミナー自体は14時台に終わったにもかかわらず、結局遊びは夜遅くまで続きました。個人的にはこれまでで一番楽しい学会となりました。

今回、講演者として呼んでいただき、このような素晴らしい機会をいただいたのは、自分の研究内容というより、光合成学会若手の会を通した人脈のお陰だったと思います(そもそも研究内容があまり知られていなかったかと思います)。数年前まで立食パーティーはとりあえず逃げ、孤独のグルメに走っていた自分がこのような機会に恵まれるなど思ってもみなかったことです。研究室に籠り切らず、何か集まりがあればとりあえず参加してみる、数人とでも話してみる、少しでも発言してみる、人に知ってもらう、というのが本当に大事だな、と実感しました。最後に、このセミナーを主催していただき、本稿の執筆の機会を与えて下さった吉田啓亮先生(東工大)、今泉滉さん(京都大)にこの場をお借りして深く感謝申し上げたいと思います。

## 光合成学会 若手の会 第28回セミナー開催報告

大阪公立大学大学院 理学研究科 博士後期課程2年 吉原 晶子

2023 年 11 月 11, 12 日に伊豆高原にて、合宿形式の第 28 回光合成若手の会セミナーを開催しました。 今回は、1 つのテーマについて議論を深める目的で、「機能的な葉緑体がどのようにつくられるのか?」 というセミナーテーマを設定しました。参加申し込みでは早々に定員に達し、様々な分野から34名の 方が参加して下さいました。学生が参加者の大部分を占め、大変活気のあるセミナーとなりました。 1日目の講演では、本テーマに関連付けながら、基礎生物学研究所のキムウンチュル先生が主に光化 学系-集光装置超複合体について、静岡大学の粟井光一郎先生がチラコイド膜脂質について、東京大学 の増田建先生がテトラピロール色素について、わかりやすいイントロダクションを含めたこれまでの ご研究内容を紹介して下さいました。さらに、経験談を交えて、若手に向けた沢山のアドバイスやメッ セージをくださいました。質疑応答では参加者から多くの質問が集まり、会場が一体となって盛り上 がりました。また、1日目の最後には、村田紀夫先生が若手研究者に向けて、研究者としての心得や研 究を発信するためのテクニックについてご講演して下さいました。私を含め多くの参加者にとって大 変深く感銘を受けるお話だったと思います。是非今後に活かしていきたいと思いました。2日目は、4 人の学生が自身の研究について発表し、私も葉緑体形成における酸性脂質の重要性について発表させ て頂きました。千葉大学の砂田友輝さんが概日リズムに応答した葉緑体遺伝子の発現制御について、 名古屋大学の臼井健太朗さんがシアノバクテリアの光合成色素分泌システムについて、岡山大学の小 川由さんがチラコイド膜リモデリングタンパク質の最新の概説を含めたご自身の研究について発表し て下さいました。質疑応答では活発な議論が展開され、私も発表者の一人として、研究の発展に繋がる 有意義な時間となりました。総合討論では、本テーマについて興味深い質問が飛び交い、最後まで盛り 上がってセミナーを締めくくることができました。

開催後のアンケート調査では、「充実した内容で大変勉強になった」、「次回も参加したい」などの声が多数寄せられました。お忙しい中ご講演を快く引き受けて下さった発表者の皆様に心より感謝申し上げます。そして、積極的にセミナーを盛り上げて下さった参加者の皆様、サポートして下さった若手の会幹事の皆様、誠にありがとうございました。また、参加報告記事を執筆して下さった京都大学の立花諒さんに再度お礼申し上げます。最後になりましたが、本セミナーの開催は、松浦克美先生が代表を務めておられる代謝初期進化研究所、公益財団法人中辻創智社、公益財団法人サントリー生命科学財団に助成して頂きました。おかげさまで、学生参加者の経済的負担を軽減することができました。改めて厚く御礼申し上げます。光合成若手の会は今後も様々なイベントを企画して参ります。一人でも多くの方々のご参加を心よりお待ちしております。



第28回光合成若手の会セミナーの参加者の皆様

## 光合成学会 若手の会 第28回セミナーに参加して

京都大学大学院 生命科学研究科 博士課程後期3年 立花 諒

2023年11月11日から12日にかけて、「光合成学会若手の会第28回セミナー」が静岡県伊東市にて合宿形式で開催されました。初日は、参加者による研究紹介フラッシュトーク、キムウンチュル先生(基礎生物学研究所)、栗井光一郎先生(静岡大学)、増田建先生(東京大学)によるご講演、村田紀夫先生による特別講演があり、夕食ではバーベキューを楽しみました。二日目は、学生4名による研究発表の後、白熱した総合討論が展開されました。初めて参加した合宿形式の若手の会でしたが、日中の研究発表だけではなく、夜遅くまで研究・若手の会についての議論や牌を通じた交流(?)が各所で行われ、活気に満ち溢れた良いセミナーだったと感じました。

本セミナーは、「機能的な葉緑体がどのようにつくられるのか?」という大きな疑問を軸に進められました。葉緑体の主要な構成要素であるタンパク質、色素、脂質の役割と、それらによって葉緑体の発生(biogenesis)、成形(shape)、維持(maintenance)が制御される分子メカニズムが各参加者の立場から議論されました。キムウンチュル先生、粟井光一郎先生、増田建先生には、先生方の研究の歴史もまみえながら、「集光タンパク質複合体」「チラコイド膜を構成する膜脂質」「テトラピロール色素」に関するご講演をしていただきました。私が「葉緑体の発達制御」を研究していることもあり、どの講演も私にとって非常に勉強になるものでした。私の専門から遠い分野の発表では、これまでになかった視点に触れることで思考の幅が広がり、一方で自身の専門に近い分野の発表では、これまでの理解をより深く精密に進化させることができました。加えて、自分と同年代の方の研究を通常の学会発表よりも濃い密度で聴き、良き仲間と共に科学を前に進めていきたいという思いがつのり、研究の意欲が一層高まりました。

本セミナーでは研究発表だけではなく、村田紀夫先生による若手企画講演「一流の研究をしよう。一流の研究者になろう。」も行われました。講演は、立候補した参加者との質疑を交えながら進められ、僭越ながら私が立候補させていただき、村田先生と議論させていただくという貴重な経験ができました。「研究」とは新しい概念(コンセプト)を創造し、それを世界に広めることであり、洗練されたシンプルな問いに対してシンプルな答えを導くことの重要さを説いていただきました。実際、私も含めた多くの参加者は、自身の研究が知らず知らずのうちに複雑で細かすぎる傾向に陥っていたことに気づかされました。また、自身の研究をどのように論文として世界に広めるか、そして論文にするだけではまだ道半ばであり、書いた論文をどのようにセールスするか、という内容もご講演いただけました。研究の考え方に関する部分からスライドの作り方のようなtips まで丁寧にご説明いただき、大変示唆に富む内容でした。得た学びを今後の自身の研究活動に反映していきたいと思います。

本セミナーでは、興味深い発表を多く聴くことができたと共に、先生方、同世代の若手研究者とこれまでにない近い距離感で交流することができ、大変刺激になりました。コロナ禍ではできなかった密な交流により、今まで以上に光合成若手の会の良さを感じることができました。今回のセミナーで得た縁を大切にし、良き仲間と共に今後も互いの研究を高め合っていきたいと思います。最後になりましたが、このような素晴らしいセミナーを開催していただき、本稿を執筆する機会を与えてくださいました大阪公立大学の吉原晶子さんをはじめ、セミナー関係者の方々、セミナーを盛り上げてくださいました参加者の方々にこの場をお借りして心より感謝申し上げます。

## 集会案内

# 第14回日本光合成学会年会と第2回アジア・オセアニア国際光合成会議(AOICP)の合同開催

今年の第14回日本光合成学会年会は、9/18-9/21 に神戸で開催される第 2 回アジア・オセアニア国際光合成会議(AOICP)と合同開催いたします。学生・ポスドクを対象とした Best Presentation Award も企画しています。 AOICP の演題登録の締切は 5/31 までとなっております。 下記 URL からぜひご登録ください。

https://aoicp2024.symposium-hp.jp/

なお、日本光合成学会の 2024 年度の総会は、5 月下旬にオンラインで開催することを予定しています。詳細は追ってお知らせします。

どうぞよろしくお願いいたします。

期日:2024年9月18日から21日まで

場所:神戸ファッションマート

(https://www.kfm.or.jp/en/access/)

日本光合成学会事務局

## 集会案内

## 第31回「光合成セミナー2024:反応中心と色素系の多様性」の開催案内

期日:2024年6月29日(土)午後2時から30日(日)午後4時まで

場所:龍谷大学深草キャンパス22号館

(https://www.ryukoku.ac.jp/about/campus traffic/fukakusa.html)

(アクセス) 京阪本線「龍谷大前深草」駅から徒歩3分、京都市営地下鉄烏丸線「くいな橋」駅から徒歩7分、JR 奈良線「稲荷」駅から徒歩8分

開催の目的:光合成に関して、物理学、化学、生物学を融合した討論を行う。光合成の進化、物質変換、人工 光合成などについても討論する。第一線の研究者に専門分野の解説をしていただくとともに、参 加者の口頭・ポスター発表を行う。

協賛:日本光合成学会

共催: 龍谷大学 革新的材料・プロセス研究センター

内容:1. 講演会

谷 一寿(筑波大学)「(演題未定)」 藤井律子(大阪公立大学)「(演題未定)」

- 2. 口頭発表 (討論を含めて、一人 10 分から 15 分を予定)
- 3. ポスター発表 (2 分程度のポスタープレビューも併せて行う)

申込:参加・発表申し込み締め切り 2024年6月6日(木)

参加費:一般 1,000 円、学生 無料

懇親会費:一般 4,000 円(予定)、学生 3,000 円(予定)

世話人: 秋本誠志(神戸大学)、大岡宏造(大阪大学)、大友征宇(茨城大学)、佐賀佳央(近畿大学)、

出羽毅久(名古屋工業大学)、永島賢治(神奈川大学)、宮武智弘(龍谷大学)

申し込み・問い合わせ先: 龍谷大学先端理工学部応用化学課程 宮武智弘

(E-mail: miyatake@rins.ryukoku.ac.jp, Tel: 077-543-7467)

プログラムおよび今後の案内などの情報は、下記ホームページに随時、掲載します。

http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~ohoka/photosyn\_seminar/index.html

その他: 光合成生物の進化も含めた光反応・色素系の基礎から応用までを幅広く議論し、異分野の学生・研究者が楽しく交流できる場を提供していきたいと考えています。また新しい研究テーマや方向性のヒントが得られることも期待しています。今後の運営・内容等に関してご意見等がありましたら、遠慮無くメール(上記メールアドレス宛)をいただければ幸いです。

## 集会案内

## 第12回光合成および水素エネルギー国際会議へのご案内

第12回「光合成および光合成に関連する水素エネルギーの国際会議」の開催をお知らせいたします。この会議は、歴史と文化が融合する都市、トルコのイスタンブールにて開催されます。昨年同様、イスタンブールでの開催となりますが、昨年に引き続き、皆様の温かいご支援とご参加に心から感謝申し上げます。

本年度は John Allen 氏(英国)、Eva-Mari Aro 氏(フィンランド)、Ibrahim Dincer 氏(カナダ)、堂面一成先生 (日本)、Elizabeth Gantt 氏(アメリカ合衆国)、Andrey Rubin 氏(ロシア)といった、各国を代表する著名な研究者たちへの敬意を表する特別なセッションも予定されています。

当会議は、2004年の第1回大会以来、日本からの多くの参加者を迎え、若手研究者の顕著な活躍があります。

今年も、口頭発表及びポスター発表を通じて、充実したディスカッションの場となることを期待しております。大学院生やポスドクの方々の参加も特に歓迎いたします。参加登録および要旨の提出の締切は9月20日です。討論セクションでは、光合成の初期過程から二酸化炭素固定、環境応答、光制御、水素発生に至るまで、幅広いテーマが取り上げられます。なお、日本からトルコへの渡航に際しては、3ヶ月以内の滞在であればビザは不要です。

また、現在のトルコの経済状況を鑑みれば、円安でも比較的低予算でも充分に滞在を楽しむことが可能です。 会議に関する詳細情報は、下記のウェブサイトをご参照ください。皆様の積極的なご参加を心よりお待ちして おります

#### 【開催日程·場所】

2024 年 10 月 13 日-10 月 19 日 @イスタンブール、バチェシェヒシュ大学南キャンパス(トルコ) 詳細については以下のサイトを参照してください。

https://phrs-conference.com/

ご質問などは鞆(東京理科大学)までお願いします。

E-mail:tomo@rs.tus.ac.jp

## 事務局からのお知らせ

#### ★発行回数の変更

本年から4月と10月の年2回発行と変更になっております。ご承知おきください。

#### ★入会案内

本会へ入会を希望される方は、会費(個人会員年会費:¥1,500、賛助法人会員年会費:¥50,000)を郵便振替(加入者名:日本光合成学会、口座番号:00140-3-730290)あるいは銀行振込(ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290 名前:ニホンコウゴウセイガッカイ)にて送金の上、次ページの申し込み用紙、または電子メールにて、氏名、所属、住所、電話番号、ファックス番号、電子メールアドレス、入会希望年を事務局までお知らせください。

#### ★会費納入のお願い

学会の運営は、皆様に納めていただいております年会費によりまかなわれております。当該年度の会費が未納の場合、光合成研究が送られてくる封筒に、会費未納が印字されています。ご都合のつくときに、会費を納入ください。1年間会費を滞納された場合、次年度よりお名前が会員名簿から削除され、光合成研究は届かなくなります。再入会される場合は、未納の分もあわせてお支払いいただきます。会費納入状況などにつきましては、ご遠慮なく事務局 (awai.koichiro@shizuoka.ac.jp) までお問い合わせください。会員の皆様のご理解とご協力をお願い申し上げます。

## 日本光合成学会会員入会申込書

	年	月	F			
日本光合成学会御中						
私は日本光合成学会の趣旨に賛同し、年より会員として入会を申し込みます。						
[ ]内に会員名簿上での公開 <b>非承諾</b> 項目に×印をつけてください						
振り仮名 氏名 <b>(必須)</b> 漢字表記 ローマ字表記						
[ ] 所属						
[ ] 所属住所(学生の方は、なるべく研究室名までお願いします) 〒						
会誌送付先住所 (必須)  □ 所属先住所と同じ □ 以下の住所に送付  [ ] 〒						
[ ] 連絡先電話番号						
[ ] E-mail (必須)						
	日日					
個人会員年会費 1,500 円 (会誌、研究会、ワークショップなどの案内を含む) 賛助法人会員年会費 50,000 円 (上記と会誌への広告料を含む) (会員資格は1月1日~12月31日を単位とします) * 複数年分の会費を先払いで振り込むことも可能です。その場合、通信欄に (何年度~何年度分) とお書き下さい。						
連絡先 〒700-8530 岡山市北区津島中 3-1-1 岡山大学 異分野基礎科学研究所 沈建仁研究室内 日本光合成学会						

TEL: 086-251-8502, FAX: 086-251-850, ホームページ: http://photosyn.jp/ 郵便振替口座 加入者名:日本光合成学会 口座番号:00140-3-730290

銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店(ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290

名前:ニホンコウゴウセイガッカイ

## 日本光合成学会会則

#### 第1条 名称及び所在地

本会は日本光合成学会(The Japanese Society of Photosynthesis Research)と称する。会の住所を会長の所属所在地とする。

#### 第2条 目的

本会は光合成の基礎および応用分野の研究発展を促進し、研究者相互の交流を深めることを目的とする。

#### 第3条 事業

本会は前条の目的を達成するために、シンポジウム開催、学術誌の発行などの事業を行う。

#### 第4条 会員

#### 1. 定義

本会の目的に賛同する個人は、登録手続を経て会員になることができる。また、団体、機関は、賛助会員になることができる。

#### 2. 権利

会員および賛助会員は、本会の通信および刊行物の配布を受けること、本会の主催する行事に参加することができる。会員は、会長を選挙すること、役員に選出されることができる。

会員および賛助会員は本会の定めた年会費を納めなければならない。

#### 第5条 組織および運営

#### 1. 役員

本会の運営のため、役員として会長1名、事務局長1名、会計監査1名、常任幹事若干名をおく。役員の任期は2年とする。会長、常任幹事は連続して二期を越えて再任されない。事務局長は五期を越えて再任されない。会計監査は再任されない。

#### 2. 幹事

本会の運営のため、幹事をおく。幹事の任期は4年とする。幹事の再任は妨げない。

#### 編集委員会

本会の発行する学術誌の編集のため編集委員会を置く。編集委員会については別に定める。

#### 4. 常任幹事会

常任幹事会は会長と常任幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。常任幹事会は本会の運営に係わる事項を審議し、これを幹事会に提案する。事務局長と会計監査は、オブザーバーとして常任幹事会に出席することができる。

#### 5. 幹事会

幹事会は役員と幹事から構成され、会長がこれを招集し議長となる。幹事会は、常任幹事会が提案した 本会の運営に係わる事項等を審議し、これを決定する。

#### 6. 事務局

事務局をおき、本会の会計事務、サーバー管理および名簿管理を行う。

#### 7. 役員および幹事の選出

会長は会員の直接選挙により会員から選出される。事務局長、会計監査、常任幹事は会長が幹事の中から指名し、委嘱する。幹事は常任幹事会によって推薦され、幹事会で決定される。会員は幹事を常任幹事会に推薦することができる。

#### 8. 選挙管理委員会

本会の選挙を公正に実施するため、選挙管理委員会を置く。選挙管理委員会については別に定める。

#### 9.関連組織

学会に、光合成に密接にかかわる関連組織を置くことができる。関連組織については別に定める。 第6条 総会

#### 1. 招集・構成・議長

総会は会長が招集し、出席会員をもって構成する。議長は出席会員から選出される。

#### 2. 報告事項

幹事会は総会において次の事項を報告する。

- 1) 前回の総会以後に幹事会で議決した事項
- 2) 前年度の事業経過

- 3) 当年度および来年度の事業計画
- 3. 承認事項

幹事会は総会において次の事項を報告あるいは提案し、承認を受ける。

- 1) 会計に係わる事項
- 2) 会則の変更
- 3) その他の重要事項

第7条 会計

本会の会計年度は1月1日から12月31日までとする。当該年度の経理状況は、総会に報告され、その承認を受ける。経理は、会計監査によって監査される。本会の経費は、会費および寄付金による。付則

- 第1 年会費は個人会員 1,500 円、賛助会員一口 50,000 円とする。
- 第2 本会則は、平成14年6月1日から施行する。
- 第3 本会則施行後第一期の会長、事務局長、常任幹事にはそれぞれ、第5条に定める規定にかかわらず、平成14年5月31日現在の会長、事務局担当幹事、幹事が再任する。本会則施行後第一期の役員および幹事の任期は、平成14年12月31日までとする。
- 第4 本会則の改正を平成21年6月1日から施行する。
- 第5 本会則の改正を平成30年5月27日から施行する。
- 第6 本会則の改正を令和3年5月29日から施行する。

#### 日本光合成学会の運営に関する申し合わせ

1. 幹事会:

幹事は光合成及びその関連分野の研究を行うグループの主宰者である等、日本の光合成研究の発展に 顕著な貢献をしている研究者とする。任期は4年とするが、原則として再任されるものとする。

2. 事務局:

事務局長の任期は2年とするが、本会の運営を円滑に行うため、約5期(10年)を目途に再任されることが望ましい。

3. 次期会長:

会長の引き継ぎを円滑に行うため、次期会長の選挙は任期の1年前に行う。

4. 常任幹事会:

常任幹事会の運営を円滑におこなうため、次期会長は常任幹事となる。

#### 日本光合成学会役員選出に関する申し合わせ

平成27年5月27日 幹事会

平成 30 年 5 月 26 日 幹事会

1. 選挙管理委員会

本会の選挙を公正に実施するため、選挙管理委員会を置く。選挙管理委員 2 名は常任幹事会が幹事会に推薦し、決定する。選挙管理委員の任期は 2 年とし、再任を妨げない。選挙管理委員の互選により委員長を選出する。

- 2. 会長 [会則第5条第6項]
- (1) 幹事および常任幹事による若干名の候補者の推薦方法

幹事は、会長選挙に推薦する候補者としてふさわしい会員を3名連記で投票する。投票結果が上位の会員について、常任幹事会は、本人の意向を確認した上で、若干名を推薦候補者として決定する。 選挙事務は事務局長が執り行う。

(2) 会長選挙

会長選挙の実施に当たっては、会員に推薦候補者を提示し、全会員による単記無記名投票を実施する。最高得票者を、次期会長とする。得票数が同数の場合は、抽選により決定する。選挙事務は選挙管理委員会が執り行う。

## 「光合成研究」 投稿規定

#### 総則

- 1. 「光合成研究」(本報)は光合成に関連する諸分野における記事を掲載する。投稿論文として下記の3つのタイプを受け付ける。「解説」:国際学術誌などに発表された該当分野の研究に関して近年の動向をより網羅的
  - 「解説」:国際字術誌などに発表された該当分野の研究に関して近年の動向をより網羅的に広い視点で紹介する総説
- 「トピックス」:国際学術誌などに発表された研究内容で「解説」より狭い範囲の研究に 焦点を当て紹介する総説
- 「研究紹介」:国際学術誌などの専門誌に掲載された原著論文の研究内容を原著論文の筆者が紹介する記事
- 2.1年に2回(4月、10月号)冊子体として発行し、電子版を光合成学会のホームページ上に公開する。
- 3. 原稿が E-mail において受付処理をされた日を以て受付日とし、編集委員が掲載可と判断した日を採択日とする。ただし原稿が本規定に合わない場合受け付けないことがある。
- 4. 投稿された原稿について、編集委員会は査 読の可否を判断する。査読可と判断された原 稿については、編集委員が適切な査読者を選 んで査読を依頼し、査読結果に基づいて編集 委員が掲載の可否を判断する。編集委員会が 不適切と判断した場合には、査読なしで投稿 された原稿を却下することがある。
- 5. 過去に査読を受けて掲載不可と判断された 原稿を改訂して再投稿する場合には、編集委 員と査読者宛に、各査読コメントを改訂稿に どのように反映したか、また反映しなかった 場合はその理由を明確に記載し、投稿する原 稿に添付する必要がある。
- 6. 掲載論文の著作権 (冊子体および電子版) は日本光合成学会に属する。
- 7. 図やそこで使われる写真が過去論文として 発表したものもしくは発表されたものであっ た場合は、それらの著作権問題を著者ら自身 でクリアする必要がある。
- 8. 投稿に当たっては、全ての著者が投稿に同意し、かつ原稿の内容について責任を持たなければならない。また、全ての著者は代表著者が全著者を代表して原稿の掲載に関する事項を執り行うことに同意するものとする。

#### 一般的事項

(1) Microsoft Word ファイルを基本とする。字 数制限は設けないが、「解説」は A4 サイ ズ 6~8 ページ、「トピックス」、「研究

- 紹介」は4ページ程度を目安にする。1 ページ当りの文字数は、図表を含めて 1800 字程度。日本語は MS 明朝、英数字は Times New Roman とする。
- (2) 本文の最初に、日本語および英語での論文題名、著者所属機関名、氏名を記載する。
- (3) 句読点は「、」「。」に統一する。
- (4)300字程度の日本語要旨を作成すること。
- (5) 参考文献、表、図のキャプションは、本文の後ろにつける。
- (6) 本文中に図の大体の位置を指示する。(図を貼り付けてもよい。)

#### 参考文献

- (1) 参考文献は、本文中の該当箇所に、右上付きで、1、1,2、1-3 のように示す。
- (2) 参考文献の表記は下記のとおりとする。著者が5名を超える際は、筆頭著者を記載し それ以降の著者は et al.とすること。

#### 雄誌杤

- 1. Berthold, D. A., Babcock, G. T. & Yocum, C. F. A highly resolved, oxygen-evolving photosystem II preparation from spinach thylakoid membranes. EPR and electron-transport properties. *FEBS Lett.* **134**, 231-234 (1981).
- 2. Nanba, O. & Satoh, K. Isolation of a photosystem II reaction center consisting of D-1 and D-2 polypeptides and cytochrome *b*-559. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **84**, 109-112 (1987).

#### 書籍例

3. Diner, B.A. & Babcock, G.T. In *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions* (eds Ort, D.R. and Yocum, C.F.) 213-247 (Kluwer, 1996)

#### 図/写真

- (1) 図、写真はグレースケールでも良い場合には、グレースケールで作成する。カラーの図や写真を希望する場合には、カラーの図や写真を送付すること。図や写真の枚数によっては、編集委員会との相談により、PDF版ではカラーになるが、冊子体ではグレーになる場合がある。
- (2) jpg あるいは tiff 形式等で本文とは別ファイルとして送付すること。解像度は 300 dpi 程度とする。

日本光合成学会「光合成研究」編集委員会 2023 年 1 月 11 日改訂

## 幹事会名簿

TI 3-73-111			
秋本 誠志	神戸大学大学院理学研究科	高橋 裕一郎	岡山大学異分野基礎科学研究所
浅井 智広	中央大学理工学部	高林 厚史	北海道大学低温科学研究所
粟井 光一郎	静岡大学学術院理学領域	田中 歩	北海道大学低温科学研究所
池内 昌彦	東京大学大学院総合文化研究科	田中 寛	東京工業大学化学生命科学研究所
石北 央	東京大学大学院工学研究科	田中 亮一	北海道大学低温科学研究所
泉井 桂	近畿大学生物理工学部生物工学科	谷口 光隆	名古屋大学大学院生命農学研究科
伊藤 繁	名古屋大学	民秋 均	立命館大学総合理工学院
井上 和仁	神奈川大学理学部	田茂井 政宏	近畿大学農学部生物機能科学科
伊福 健太郎	京都大学大学院農学研究科	都筑 幹夫	東京薬科大学生命科学部
梅名 泰史	名古屋大学シンクロトロン光研究セン	寺内 一姫	立命館大学生命科学部
	ター	寺島 一郎	東京大学大学院理学系研究科
得平 茂樹	東京都立大学院理工学研究科	出羽 毅久	名古屋工業大学大学院工学研究科
大岡 宏造	大阪大学大学院理学研究科	鞆 達也	東京理科大学理学部
大友 征宇	茨城大学理学部	永島 賢治	神奈川大学
大政 謙次	東京大学大学院農学生命科学研究科	長尾 遼	静岡大学農学部
小川 健一	岡山県農林水産総合センター生物科学研	成川 礼	東京都立大学大学院理学研究科
	究所	南後 守	大阪公立大学大学院理学研究科
小口 理一	大阪公立大学大学院理学研究科	西田 生郎	埼玉大学大学院理工学研究科
小俣 達男	名古屋大学大学院生命農学研究科	西山 佳孝	埼玉大学大学院理工学研究科
菓子野 康浩	兵庫県立大学理工学部	野口 航	東京薬科大学生命科学部
柏山 祐一郎	福井工業大学環境情報学部	野口 巧	名古屋大学理学研究科
加藤 裕介	摂南大学農学部	長谷 俊治	大阪大学蛋白質研究所
金井 龍二	埼玉大学	華岡 光正	千葉大学大学院園芸学研究科
神谷 信夫	大阪公立大学複合先端研究機構	原 登志彦	北海道大学低温科学研究所
木下 俊則	名古屋大学トランスフォーマティブ生命	彦坂 幸毅	東北大学大学院生命科学研究科
	分子研究所	久堀 徹	東京工業大学研究院化学生命科学研究所
熊崎 茂一	京都大学大学院理学研究科	日原 由香子	埼玉大学大学院理工学研究科
栗栖 源嗣	大阪大学蛋白質研究所	広瀬 侑	豊橋技術科学大学環境生命工学系
小池 裕幸	中央大学理工学部	藤田 祐一	名古屋大学大学院生命農学研究科
小林 康一	大阪公立大学高等教育推進機構	古本 強	龍谷大学農学部
小林 正美	筑波大学大学院数理物質科学研究科	牧野 周	東北大学大学院農学研究科
坂本 亘	岡山大学資源植物科学研究所	増田 真二	東京工業大学生命理工学院
佐賀 佳央	近畿大学理工学理学科	増田 建	東京大学大学院総合文化研究科
櫻井 英博	早稲田大学	松浦 克美	東京都立大学都市教養学部
鹿内 利治	京都大学大学院理学研究科	松田 祐介	関西学院大学理工学部
篠崎 一雄	理化学研究所植物科学研究センター	真野 純一	山口大学農学部
嶋田 敬三	東京都立大学	皆川 純	基礎生物学研究所
清水 隆之	奈良女子大学研究院自然科学系	宮尾 光恵	東北大学大学院農学研究科
下嶋 美恵	東京工業大学生命理工学院	宮下 英明	京都大学大学院地球環境学堂
沈 建仁	岡山大学異分野基礎科学研究所	宗景 (中島) ゆり	関西学院大学生命環境学部
杉浦 美羽	愛媛大学プロテオサイエンスセンター	村田 紀夫	基礎生物学研究所
杉田 護	名古屋大学大学院情報学研究科	本橋 健	京都産業大学総合生命科学部
鈴木 祥弘	神奈川大学理学部	本橋 令子	静岡大学学術院農学領域
園池 公毅	早稲田大学教育学部	山本 義治	岐阜大学応用生物科学部
高市 真一	東京農業大学生命科学部	矢守 航	東京大学大学院農学生命科学研究科
高橋 俊一	琉球大学熱帯生物圏研究センター	和田 元	東京大学大学院総合文化研究

### 編集後記

私の周りでは、コロナもインフルエンザも春休みを境にあまり耳にしなくなりました。昨年から学会も開催されるようになり、まだ油断はできませんが、いよいよ日常が戻ってまいりました。集会案内にもあります通り、9月には神戸で第2回アジアオセアニア光合成学会が、日本光合成学会年会と共同開催されます。久しぶりの海外の方たちとお会いできる機会だと思い、大変楽しみにしています。また、研究室の学生たちに、海外の研究者との交流を楽しんでもらえるとてもいい機会です。こうした状況は、大小あれみなさまも同様ではないでしょうか。ぜひ参加をご検討ください。

「光合成関係でノーベル賞クラスの大きな発見があれば、それをどんどん学会レベルで宣伝し、盛り上げていく必要がある。」これは、いつぞやの光合成学会の懇親会での村田紀夫先生の言葉でした。これに引き続き、「光合成の初期過程、水の分解機構はこれにあたる。ぜひ応援しましょう。」という趣旨の発言がありました。今回の表紙は、その水分解の様子をコマ送りで観察したという仰天のNature論文を画像化してもらったものです。映画のフィルムを模して「コマ送り」を表現する秀逸なデザインだと思いました。みなさまはいかが思われたでしょうか。

「光合成研究」では、研究紹介や解説記事を随時受け付けておりますので、奮ってご投稿ください。 また表紙の写真や絵も募集していますので是非ご投稿ください。みなさまに様々な話題をお届けでき るよう努めてまいります。本誌に関するご意見やご要望がございましたらご連絡ください。

編集長・古本 強 (龍谷大学)

### 記事募集

日本光合成学会では、会誌に掲載する記事を会員の皆様より募集しています。募集する記事の 項目は以下の通りです。

- トピックス: 光合成及び関連分野での纏まりのよいトピックス的な記事。
- 解説:光合成に関連するテーマでの解説記事。
- O 研究紹介:最近刊行された研究成果の紹介。特に、若手、博士研究員の方からの投稿を期待しています。
- O 集会案内:研究会、セミナー等の案内。
- O 求人:博士研究員、専門技術員等の募集記事。
- O 新刊図書:光合成関係、または会員が執筆・編集した新刊図書の紹介。書評も歓迎します。

記事の掲載を希望される方は、編集長の古本(tfurumoto@agr.ryukoku.ac.jp)までご連絡ください。

#### 「光合成研究」編集委員会

古本 強(龍谷大学) 編集長 編集委員 、 (州球大学) 小口 理一 (大阪公立大学) 河合 (カセロ) 高橋 俊一(琉球大学) 編集委員

編集委員 河合(久保田) 寿子(山形大学)

#### 日本光合成学会 2024年度役員

沈 建仁(岡山大学) 会長

粟井 光一郎(静岡大学) 事務局長

高林 厚史(北海道大学) IT担当 事務局

增田 真二 (東京工業大学) 光生物学協会 常任幹事

彦坂 幸毅(東北大学) 常任幹事 野口 航(東京薬科大学) 常任幹事

常任幹事 古本 強(龍谷大学) 編集長

鹿内 利治(京都大学) 常任幹事

常任幹事 皆川 純 (基礎生物学研究所)

常任幹事 栗栖 源嗣(大阪大学)

小口 理一(大阪公立大学) 常任幹事

常任幹事 広瀬 侑(豊橋技術科学大学)WEB担当

西山 佳孝(埼玉大学) 常任幹事 常任幹事 園池 公毅(早稲田大学)

会計監査 杉浦 美羽 (愛媛大学)

選挙管理委員 野口 巧(名古屋大学)・三野 広幸(名古屋大学)

光合成研究 第34 巻 第1号 (通巻98号) 2024年4月31日発行

### 日本光合成学会

〒700-8530 岡山市北区津島中 3-1-1

岡山大学 異分野基礎科学研究所 沈建仁 研究室内

TEL: 086-251-8502 FAX: 086-251-8502 e-mail: jspr@photosyn.jp

ホームページ: http://photosyn.jp/

郵便振替口座 加入者名:日本光合成学会 口座番号:00140-3-730290

銀行振込の場合 ゆうちょ銀行、019店 (ゼロイチキュウと入力)、当座、0730290

名前:ニホンコウゴウセイガッカイ



## LED光による植物育成・研究支援機器

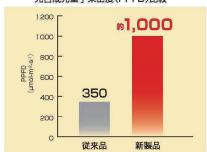




# 重モデル 新登

赤色パネルの光量を従来比約3倍に大幅アップ!

光合成光量子束密度(PPFD)比較



光量や波長だけではなく、パルス発光など様々な 面で光合成研究に最適な光環境を実現します。 また、高光量モデルの充実化に伴い、ストレス実 験などのニーズにもお応えいたします。

赤色光(660nm) ....... 最大 1,000 µmol m-2 s-1 青色光(470nm) ....... 最大 800 µmol m-2 s-1 白色光······ 最大 1,000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>

参考PPFD:光源パネルより100mm下にて測定

#### -エス株式会社

施設園芸課

〒602-8019 京都市上京区室町通出水上ル近衞町33番地 TEL:075-415-2101 FAX:075-432-0101

URL: http://www.ccs-inc.co.ip / E-mail:agri-biotech@ccs-inc.co.ip

ĽI-6800 NEW 植物光合成総合解析システム

- 野外でも屋内でも安定制御環境下で植物の光合成測定。
- ガス交換とクロロフィル蛍光の同時測定により、わかることがあります。
- 葉温度と湿度、CO₂濃度、光強度を広範囲で自在コントロールし光合成測定。
- 高速での安定環境制御を実現した革新設計。
- シンプルな操作で、どなたでも簡単測定。

従来装置(LI-6400シリーズ)からの 改良点

チャンバー内湿度自動制御: 相対湿度0~90℃ 葉温度での広域温度制御: 外気温±10℃ 直感的操作が可能な、大型カラータッチスクリーン

メイワフォーシス 株式会社

東京 TEL (03)5379-0051(代) FAX (03)5379-0811 名古屋 TEL (052)686-4794(代) FAX (052)686-5114 名古屋 〒464-0075 名古屋市千種区内山3-10-18 PPビル

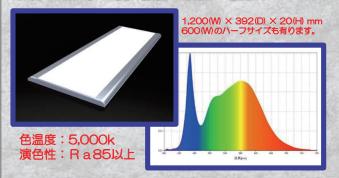
大阪 TEL (06)6674-2222(代) FAX (06)6674-2323 仙台 TEL (022)218-0560(代) FAX (022)218-0561 于558-0047 大阪市住市区干除2-4-25



## **CHURITSU**

植物栽培用 エッジタイプLED照明

照明の均一性が高く植物の育成に最適!



## 特

- 蛍光灯との比較では消費電力約55%ダウン!
- 導光板を採用する事でLED照明として20mmの薄さを実現!
- 拡散板によりパネル面の明るさがより均一性になりました。
- 調光機能(10%~100%)タイマー機能もオプションで対応。

## LumiCEC

高感度生物発光測定装置

高感度を維持しつつ

クロストークが大幅に低減!



### 特

- 数時間~1週間以上の長期間の自動測定に必要な 動作安定性と耐久性を兼ね備えています。
- 誰でも簡単に操作できる測定解析ソフト「解析 NINJA」が標準添付。

## **CHURITSU** 中立電機株式会社

本社: 愛知県名古屋市中区大須4-12-8東洋殖産ビル6F FA事業部 バイオ機器課: 愛知県豊明市新田町南山92番地の1 TEL: 0562-92-8095、FAX: 0562-92-8097

E-mail: bio@churitsu.co.jp

http://www.churitsu.co.jp/products/bio/index.html



に従って、最大 1000×1200dpi で測定することができます。









## LEAF-STATE-ANALYZER



#### \* HEXAGON-IMAGING-PAM (画像クロロフィル蛍光測定装置)

HEXAGON-IMAGING-PAM は、WALZ 社のイメージングシステムの中で最も測定領域が広いシステムに なり、広域にも関わらず、さまざまなサンプルの測定に柔軟に対応します。 例えば、鉢植えの植物や プラントトレイに植えられた苗、収穫されたサンプルなど、多種多様な植物 サンプルを測定できます。 また 20×24cm のエリアを、高精度の PAM 原理

## M株式会社 NAMOTO

〒272-0033 千葉県市川市市川南2-9-28-106 Tel: 047-374-3240 Fax: 047-374-3241 E-mail: mid@namoto.com



## **HAMAMATSU**

## 植物・藻類の遅延蛍光を手軽に測定

■ 遅延蛍光による光合成評価の原理



励起光照射後の暗中で発光を測定します。発光強度は電子伝達体の量の影響を受け、 アンテナ色素量や熱過程の影響は受けにくいです。

#### ■特長

- フォトンカウンティングレベルの高感度で蛍光検出する光電子増倍管を内蔵
- 励起光から検出器を保護するシャッタ機構搭載
- 励起光は3種類の波長と、光出力・時間の設定が可能
- 試験管対応のホルダユニットとシャーレ対応の引き出し型をラインアップ



微弱発光計数装置 C17056-01 (試験管測定タイプ)

#### 浜松ホトニクス株式会社

WEB SITE www.hamamatsu.com

電子管営業推進部 〒438-0193 静岡県磐田市下神増314-5 TEL (0539) 62-5245 FAX (0539) 62-2205

仙台営業所 TEL(022)267-0121 大阪営業所 TEL(06)6271-0441 東京営業所 TEL (03) 6757-4994 西日本営業所 TEL (092) 482-0390 中部営業所 TEL (053) 459-1112

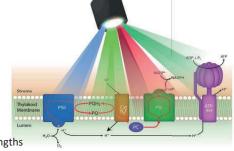
## JTS-150 光合成電子伝達反応解析装置



JTS-150 Photosynthesis Spectrometer

スマートランプかマルチLEDを使用すると、1回の実験実行中にリアルタイムで最大8つの波長の制御を提供します。複数波長制御により、単一の実験セットアップで複数の同時または多段階反応を表示できます。どちらのモジュールでも、マイクロ秒単位で波長を切り替えることができます。





8 Wavelengths
450nm,517nm,546nm,554nm,563nm,574nm,705nm,740nm
Fluorescence(NPQ,OJIP,Fv/Fm),ECS, Cyt b6f, Plastocyanin,
P700 applications



有限会社オーリー〒599-8112 大阪府堺市東区日置荘原寺町400-4 TEL:072-285-0117

ホームページ: http://www.ollie.co.jp E-mail: information@ollie.co.jp