

光化学系IIの光阻害に対するチラコイド膜内腔タンパク質の役割[‡]

京都大学 大学院生命科学研究科 統合生命科学専攻/JSTさきがけ
伊福 健太郎**

光合成の水分解—酸素発生反応を行う光化学系II (Photosystem II: PSII) の機能は、常に損傷が修復されることで維持されている。したがって、PSII修復系は光阻害を回避する上で必須な役割を担っており、多段階のステップが時空間的に厳密に制御された形で進行することが明らかとなっている。本稿では、光阻害に対するPSII修復系に関してPSIIの分子集合の局面から紹介する。特にPSIIの活性部位が存在するチラコイド内腔に存在する因子の役割について、筆者らの研究成果を含めて最近の知見をまとめた。

1. はじめに

光化学系II (Photosystem II、以下PSIIとする) 複合体は、地球上の光エネルギー・物質変換の根幹をなす水分解-酸素発生反応を行う。水の酸化分解という激しい反応を行うため、PSIIは確率的に損傷を受ける宿命にあり、絶えず修復されることでその機能は維持されている。PSIIの「光阻害」とは、この損傷と修復の動的平衡のバランスが崩れ、損傷が修復を上回ったときに生じるPSIIの機能低下のことを指す。PSIIの損傷過程に関しては様々な議論が存在するが、PSIIの修復機能が植物の光合成と生存に必須な役割を持つことは間違いない。しかしながら、その分子機構に関しては未解明な部分が多く残されており、現在も盛んに研究が行われている。

光で損傷したPSIIの修復過程においては、PSII複合体の部分的解体、反応中心タンパク質であるD1タンパク質の選択的分解、新しいD1タンパク質の合成と挿入、PSII複合体の再構築と触媒部位であるマンガンクラスター (Mn₄CaO₅クラスター) の再構築、さらには集光タンパク質の結合などといった多段階のステップが時空間的に厳密に制御された中で進行する¹⁾。さらに真核光合成生物では、PSII複合体のサブユニットは葉緑体と核の両ゲノムにコードされることから、両ゲノムからのサブユニット供給状態は連携してコントロールされる必要がある。本稿では、PSIIの光阻害への対応における複合体の分子集合について最近の知見をまとめた上で、我々が研究している葉緑体チラコ

イド膜内腔タンパク質、特にPSIIの膜表在性タンパク質の役割を中心に紹介する。損傷を受けたPSIIのD1タンパク質のプロテアーゼによる選択的分解、及びその再合成に関しては、本解説記事の他の総説を参照されたい。

2. PSII複合体の分子集合過程

PSII複合体の分子集合過程については、新しくPSII複合体を形成する新規合成経路 (*de novo synthesis*) と、損傷したPSIIを修復する経路 (*repair cycle*) を分けて考える必要がある。PSII複合体の分子集合は、モジュール様の小複合体が段階的にドッキングすることで行われる。図1にシアノバクテリアのPSII複合体の主要なサブユニット配置と、分子集合の際のモジュール構造を示す。新規PSII複合体の形成過程については、大まかに分けて三つの構造ドメインに分けて考えることができる²⁾。すなわち、(1) D1/D2タンパク質のヘテロダイマー、シトクローム (Cyt) *b*₅₅₉の α/β サブユニット (PsbE/F)及びPsbIを含む反応中心コア (Reaction Center: RC)、(2) PSIIのコア (内側) 集光タンパク質であるCP47モジュールとCP43モジュール、そして (3) いくつかの膜表在性タンパク質 (OECタンパク質) である。

図2は各々のモジュールが段階的に分子集合する過程の概略を示している。PSIIの分子集合は、新たに形成されたRCモジュールに、CP47、CP43、膜表在性タンパク質が段階的に結合することで進行する。各々の

[‡] 解説特集「光阻害」

* 連絡先 E-mail: ifuku@kais.kyoto-u.ac.jp

過程において、複数のPSIIの低分子量サブユニットが結合し、さらに一過的に相互作用する補助的なタンパク質が関与し、最終的にPSIIダイマーの形成と集光タンパク質の結合によって活性型のPSII超複合体が完成する。膜表面性タンパク質や低分子量サブユニット、補助的なタンパク質及び集光タンパク質の種類に関しては、シアノバクテリアと葉緑体で大きく異なる部分があるが、基本的なPSII複合体形成プロセスは共通であると考えられている¹⁾

一方、PSIIの光障害からの修復過程においても、モジュール様の小複合体単位での解体と再構成が行われる(図2、右側)。光によりD1タンパク質が損傷すると複合体の部分的解体が行われ、CP43モジュールと膜表面性タンパク質が解離する。その結果生じたRC47*複体内において損傷を受けたD1タンパク質が選択的に分解除去された後、新しく合成されたD1

タンパク質が挿入され、新たにRC47複合体が形成される。その後の複合体成熟過程については、新規合成経路と同様であると考えられている¹⁾。

3. 細胞におけるPSII分子集合の場

シアノバクテリア (*Synechocystis* 6803) や緑藻クラミドモナスにおいては、PSIIの新規合成と修復の両経路はチラコイド膜上の異なるコンパートメントで進行することが報告されている。*Synechocystis* 6803においては、分画した膜面分を用いたプロテオーム解析によって、新しく合成されたPSII複合体形成の初期段階の中間体は原形質膜上に認められ、その後、チラコイド膜へ移行してさらなる分子集合が継続することが示唆されている³⁾。この膜間移行の詳細なメカニズムは明らかではないが、細胞表面に近いチラコイド膜上に認められるチラコイドセンター (TC)、及びその

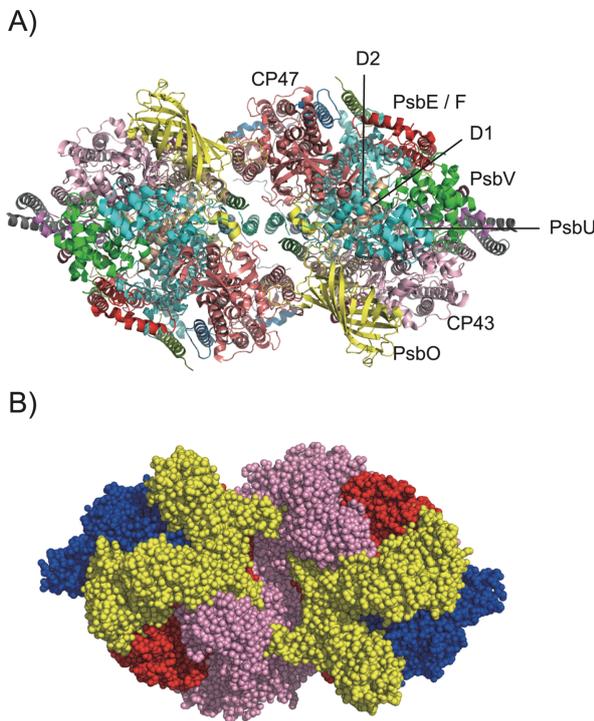


図1 シアノバクテリア光化学系II (PSII) 複合体のサブユニット構造

A) シアノバクテリア光化学系II複合体の結晶構造 (PDB_ID: 3ARC) に基づく光化学系IIのサブユニット配置を示す。膜表面性タンパク質が結合するチラコイド膜内腔側から見た図である。サブユニットの名称は主要なもののみ表記してある。B) 上の構造を分子集合のモジュール構造別に色分けしたスペースフィリングモデル。赤が反応中心モジュール(RC)、ピンクがCP47モジュール、青がCP43モジュール、そして黄色が膜表面性タンパク質を示す。

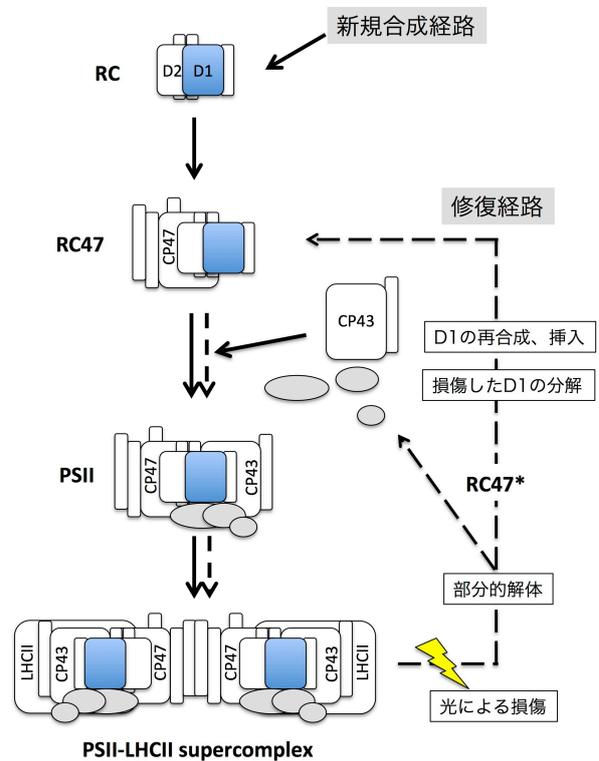


図2 PSIIの新規合成経路と修復経路の概略図

緑色植物の葉緑体チラコイド膜における、PSII複合体の段階的な分子集合過程を示す。実線の矢印は新規合成経路、右側の点線の経路は損傷したPSIIの修復経路を示す。簡単のため、RC複合体形成にいたる新規合成経路の前半部分は省略している。右下にあるRC47*は、損傷したD1タンパク質を含むRC47複合体を意味する。低分子量サブユニットの数や位置に関しては、あくまで模式的なものである。

周辺を取り囲むPratA-defined membrane (PDM) と呼ばれる膜構造体の関与が考えられている⁴⁾。PDMには、C末端側のプロセッシングを受けていないD1タンパク質前駆体 (pD1) と、pD1タンパク質の安定化とC末端プロセッシングの促進に関与するとされるPratAとYCF48タンパク質が局在する。TPR タンパク質であるPratAはペリプラズム空間に蓄積し、二価のマンガンイオンを結合する能力を有することから、マンガンの輸送や初期のPSII複合体への取り込みにも関与することが考えられている⁵⁾。これに対し、シアノバクテリアにおけるPSII修復サイトについては明確な証拠はないが、D1分解酵素やPSIIサブユニットの局在パターンから少なくともチラコイド膜上で行われると考えられ⁶⁾、PDM周辺でのタンパク質合成が関与することが考えられている⁵⁾。

一方、緑藻クラミドモナスでは、CO₂固定を行うピレノイド周縁部のチラコイド膜上にtranslation zone (T-zone)と呼ばれる局所領域が存在し、そこで初期のPSIIサブユニットの合成は行われることが報告された⁷⁾。これに対し、損傷したPSIIの修復サイトはチラコイド膜全体に渡って認められることから、クラミドモナスにおいてはPSIIの新規合成経路と修復経路は空間的に明確に区別されて進行すると考えられる。図2では、PSIIの新規合成経路と損傷PSIIを修復する経路の間で、複合体形成の中間体を共有しているかの様を示しているが、少なくとも*Synechocystis* 6803やクラミドモナスについては、両経路の空間分布の違いからこのモデルがあてはまらない可能性もある。

緑藻と同様に葉緑体を持つ高等植物においては、集光タンパク質を結合した活性型のPSIIはスタックしたグラナチラコイドに集積する⁸⁾。そのため物理的な制約から、タンパク質合成装置はグラナ間をつなぐストロマチラコイドに局在し、PSIIの新規合成や修復はそこで行われると考えられる。しかしながら、高等植物の葉緑体において、PSIIの新規合成と修復の両経路に空間的に明確な区別があるかは明らかではない。また、PSIIは複合体形成や損傷の状態にあわせてグラナとストロマチラコイド間を行き来せねばならないが、その駆動力の実体は解明されていない。強光下においてグラナのスタッキング構造が変化し、そのことが複合体の水平移動を促進しているとの報告がなされており、PSIIサブユニットのリン酸化修飾の関与が示唆されている⁹⁾。

4. PSII膜表在性タンパク質の役割

2011年、好熱性シアノバクテリア*Thermosynechococcus vulcanus*のPSII複合体のX線結晶構造解析が原子分解能で報告された¹⁰⁾。その結果、水分解を触媒するマンガングラスター (Mn₄CaO₅)の原子配置に加え、それを配位するアミノ酸側鎖についても詳細が明らかとなった。CP43モジュールの結合に伴ってマンガングラスターを配位するすべてのアミノ酸残基が揃うことから、活性のあるマンガングラスターの形成はこの後の段階で行われると考えられる。そしてマンガングラスターの形成と安定化に重要な役割を果たすのが、PSIIのチラコイド膜内腔側に結合する膜表在性タンパク質である。

図1に示すように、シアノバクテリアのPSII結晶構造において、膜表在性タンパク質であるPsbO、PsbU、PsbVはCP43モジュールとRC複合体との境界領域の膜タンパク質表面に結合しており、RC47複合体に組み入れられたCP43モジュールの相互作用を安定化していると考えられる。これら膜表在性タンパク質はいずれもマンガングラスターを直接配位するアミノ酸残基は持たないが、マンガングラスターの周辺構造を保って活性に必須なカルシウムや塩素イオンなどの無機イオンの脱離を防ぐと同時に、基質となる水と生成物であるプロトンの出入り口を確保するという重要な役割を持つことが示唆されている¹⁰⁾。加えて、PSIIの膜表在性タンパク質はPSIIの修復サイクルにおいて複合体からの解離と再結合を繰り返す必要があり、円滑なマンガングラスターの解体と再構築の過程においても重要な役割を果たしていると考えられる。事実、PSII膜表在性タンパク質を欠く変異株はいずれも光阻害感受性となる^{11,12)}。

緑色植物型のPSIIはPsbOを有するものの、PsbVやPsbUは持たず、それらとは全くアミノ酸配列が異なるPsbPとPsbQを結合している¹³⁾。PsbPとPsbQについては、各々の単独での結晶構造は判明しているが¹⁴⁻¹⁶⁾、PSII反応中心への結合トポロジー、結合部位等の詳細はほとんど解明されていない。シアノバクテリアにもPsbPやPsbQのホモログが広く存在し、それら原核生物型PsbP (CyanoP) とPsbQ (CyanoQ) の立体構造が解明された結果、緑色植物型のものと非常に良く似ていることが判明している^{17,18)}。また分子系統解析からも、それらが緑色植物型のPsbPとPsbQのプロトタイプであることが支持されている^{19,20)}。しかしながら、CyanoPとCyanoQのPSIIへの結合様式に関して

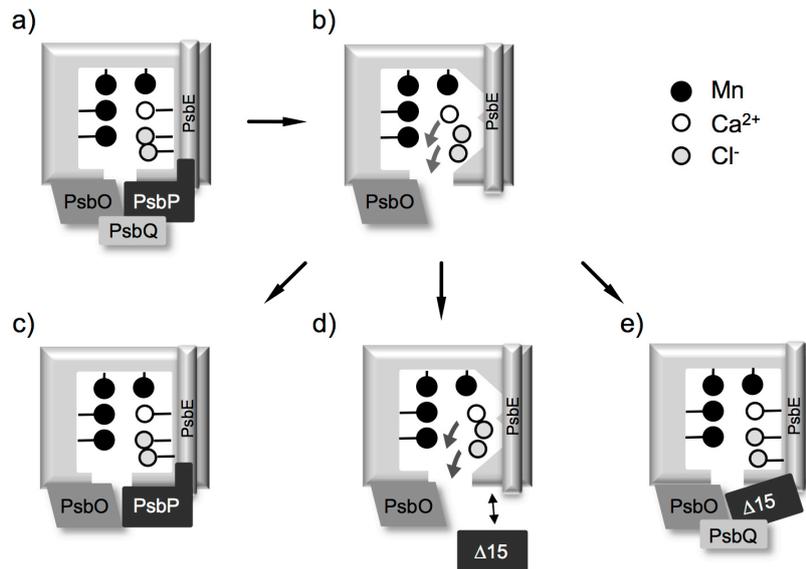


図3 緑色植物のPSII膜表在性タンパク質の分子機能

a) 緑色植物のPSIIは、チラコイド膜内腔側の膜表在性タンパク質としてPsbOに加え、PsbPとPsbQを結合する。PsbOはマンガングラスターの安定な結合に必須であり、PsbPとPsbQは酸素発生活性に必須な無機因子 (Ca^{2+} , Cl^-)の結合に関与する。そしてPsbPのN末端は、PSIIのPsbE (Cyt b_{559} α)と相互作用している。b) PsbPとPsbQが解離すると、マンガングラスターの周辺構造が変化し、 Ca^{2+} や Cl^- の結合能が低下する。c) この構造変化は、PsbP単独の再結合によって回復するが、d) N末端配列を欠く変異PsbP ($\Delta 15$)はPSIIと正しく相互作用できない。e) PsbQは $\Delta 15$ タンパク質のPSIIとの相互作用を回復させることができ、それに伴って酸素発生活性も部分的に回復する。すなわち、PsbQはPsbPとPSIIの結合を補助する役割を持つ。参考文献29)と31)の結果をもとに作図した。

は、*in silico* 解析による予測があるのみである²¹⁾。CyanoPとCyanoQはN末端に脂質修飾を有するリポタンパク質であり、静電的な相互作用で結合する高等植物のPsbPやPsbQとは結合様式が異なると考えられている²²⁾。

RNAiによるタバコやシロイヌナズナの遺伝子発現抑制株を用いた解析から、PsbQの欠損はPSII機能に大きな影響を及ぼさないが、PsbPの発現抑制は深刻なPSIIの機能低下を引き起こすことが明らかとなっている²³⁻²⁵⁾。とりわけマンガングラスターが不安定化し、強光によるPSIIへのダメージが亢進することが認められる²³⁾。高等植物PsbPの立体構造は、N末端側のドメインと、 β シート構造の両側を α ヘリックスで挟んだ $\alpha\beta\alpha$ 構造を持つ中央部の二つのドメイン構造からなるが、様々な植物に由来するPsbPの機能比較から、PsbPのN末端配列が酸素発生活性維持に重要な役割を持つことが判明している^{26,27)}。フーリエ変換赤外分光測定 (FTIR) を用いた解析により、PsbPの結合に伴いPSIIのマンガングラスター周辺構造が変化すること、及びPsbPがマンガングラスター周辺の構造変化を引き起こすためにはPsbPのN末端配列が必須であることが明らかとなった²⁸⁾ (図3)。さらに筆者らは1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimideを用いた化学架橋実

験において、PsbPのN末端がPSIIのシトクローム b_{559} α サブユニットであるPsbEと相互作用することを報告した²⁹⁾。PsbPとPsbEの相互作用はクラミドモナスでも示唆されている³⁰⁾。興味深いことに、シアノバクテリアのPSIIにおいてPsbPと似た役割を持つことが示されているPsbVも、結晶構造においてN末端を介してPsbEと相互作用していることが認められる。しかしながらPsbVとPsbE間の相互作用部位は、マンガングラスターやその周辺の塩素イオン結合サイトとはやや離れており、PSIIにおけるイオン保持能との関連に関しては、FTIRを含めたさらなる解析が必要である。

PsbQは4本のヘリックスの束からなる中心構造に加え、N末端側にPSIIとの相互作用に重要な柔軟性に富む領域を有し、この領域がPSIIとの相互作用に関与することが示唆されている¹⁶⁾。*In vitro*の再構成実験では、PsbQの結合はN末端を欠損するPsbPのPSIIへの正常な相互作用を部分的に回復することから、PsbPのPSIIへの結合を安定化する役割を持つことが考えられる³¹⁾ (図3)。シロイヌナズナを用いた最近の研究から、PsbQはPSII-LHCII超複合体の安定化に寄与することが報告された³²⁾。タバコPsbP-RNAi株においても集光アンテナと結合した活性型PSIIであるPSII-LHCII超複合体の蓄積が顕著に減少し、LHCIIと結合しない

表1 光化学系IIの分子集合に関与するチラコイド膜内腔因子

<i>A. thaliana</i>	<i>Synechocystis</i> 6803	特徴・機能など	文献
CtpA	CtpA	D1のC末端プロセッシング	38
HCF136	YCF48	RC複合体形成と安定化	39
LPA19 (Psb27-H2)	Psb27	D1成熟の促進、CP43モジュールの安定化など	40
Psb27-H1	—	PSIIの修復過程、PSII-LHCII複合体の安定化	41, 42
CYP38	—	イムノフィリン、PSIIの分子集合	43
FKBP20-2	—	PSII-LHCII複合体の形成	44
PPL1	—	PsbPホモログ、PSIIの修復過程	45
Deg1	—	PSII複合体の形成	46
TLP18.3*	—	PSIIの修復過程	47

*チラコイド膜へのアンカー配列を有していることが示唆されている。

PSIIコア複合体が蓄積することが認められている³³⁾。またLHCIIタンパク質の一部を欠損する変異植物体を用いた解析から、PsbPやPsbQのPSIIへの結合と、LHCIIとPSIIとの相互作用に相関があることが報告された³⁴⁾。PsbPやPsbQタンパク質同様、LHCタンパク質も緑色植物で特異的に機能分化したタンパク質である。上記の結果は両者の進化が機能的にも連携し、PSII複合体の最終的な分子集合や活性化状態を調節している可能性を示唆している。

一方、紅藻や珪藻はシアノバクテリアや緑色植物とも異なる独自のPSII膜表在性タンパク質を有していることが明らかとなっている。すなわち、紅藻のPSIIはPsbO、PsbU、PsbVに加え独自のPsbQ' (プライム) タンパク質を結合しており³⁵⁾、珪藻のPSIIは独自のPsb31タンパク質を有する³⁶⁾。精製したPSII標品を用いた*in vitro*の機能解析によって、それらはPSII活性の最適化に重要な役割を持つ事が示唆されている。しかしながら、各々のPSII複合体における相互作用様式や、細胞における生理機能などに関しては解明されていないところが多い。光合成生物種間でPSII膜表在性タンパク質の組成が異なることが、PSIIの分子集合や活性制御、ひいては各々の生物種における光阻害への対応にどのように影響しているのかは今後の研究課題である。

5. その他のチラコイド膜内腔タンパク質の役割

PSII膜表在性タンパク質は、PSII複合体に結合していない遊離の状態でもチラコイド膜内腔にプールとして存在し、主要なチラコイド膜内腔タンパク質となっている。それに加えて、チラコイド膜内腔を対象にし

たプロテオーム解析から、タンパク質のフォールディングやアッセンブリーを助けるシャペロン類、並びに、異常のあるタンパク質を除去するプロテアーゼ等が存在することが認められている³⁷⁾。チラコイド膜内腔は植物の生理状態によってpHやイオン環境がダイナミックに変化する環境であり、これらの内腔タンパク質は、そうした環境において膜タンパク質機能を維持する上で重要な役割を持つと考えられる。表1に示したのは、シロイヌナズナで報告されているPSIIの分子集合に関与するチラコイド膜内腔タンパク質である。CtpA³⁸⁾、HCF136³⁹⁾、LPA19⁴⁰⁾など、シアノバクテリアに機能的なホモログがあるものについては、比較的分子機能の解明が進んでいる。それ以外のものに関しては緑色植物で独自に機能分化したと考えられ、詳細な分子機能についてはさらなる解析が必要である。

筆者らはこれまでに、緑色植物のチラコイド膜内腔に多数蓄積しているPsbPやPsbQと相同性のあるタンパク質に注目して研究を行った。シロイヌナズナでは二つのPsbP-like protein (PPL)、三つのPsbQ-like protein (PQL)、そしてPsbPと弱い相同性を示す少なくとも七つのPsbP-domain protein (PPD)の存在が確認されている。筆者らは高等植物におけるPsbPとPsbQホモログの転写プロファイル解析を行い、その一部が環境ストレス下における光合成電子伝達活性の機能維持に重要な役割を持つことを推定した⁴⁸⁾。mRNAの共発現パターンを調べるATTED-IIプログラム⁴⁹⁾によれば、*PPL1*遺伝子はPSIIの分子集合に関与するイムノフィリンの一種であるCYP38⁴³⁾ (表1) や、強光環境下で発現が誘導されるSEP (Stress-Enhanced Protein) などとの発現相関が高い。実際にシロイヌナズナ遺伝子欠損変異体を

用いた解析を行った結果、最も原核生物型 P s b P (CyanoP) に似た配列をもつ PPL1 (PsbP-like protein 1) が、強光で障害をうけた PSII の修復過程に関わることが明らかとなった⁴⁵⁾。しかしながら、BN-PAGE による解析では PPL1 と PSII 複合体や中間体との相互作用は認められておらず、PSII 修復系における PPL1 の分子機能は明らかではない。他の PsbP のパラログである PPL2⁴⁵⁾ や PQL^{50,51)}、PPD1⁵²⁾ タンパク質は、光化学系 I 周辺での循環的電子伝達に関わる葉緑体 NAD(P)H デヒドロゲナーゼ様複合体⁵³⁾ や光化学系 I の分子集合に関わることが明らかとなっている。したがって、PPL1 もチラコイド膜タンパク質の安定性や折りたたみ、もしくは、それらの正しい相互作用を導く上で重要な役割を持つ可能性が考えられる。今後の PPL1 の分子機能の解明は、PSII の光阻害に対するチラコイド膜内腔タンパク質の役割について新しい知見をもたらすと期待している。

6. おわりに

本解説記事では PSII の光阻害に対する PSII 修復過程に関して、PSII サブユニットの分子集合の局面を中心に紹介した。特に、PSII の膜表面タンパク質を含むチラコイド膜内腔タンパク質の分子機能について詳しく述べた。論文化が間に合わず、PsbP や PPL1 に関する筆者らの最新の知見を紹介できなかったが、チラコイド膜内腔におけるタンパク質間の機能的関係や分子相互作用などに関する報告は近年増加傾向にあり、今後、大きく進展することが期待される。一方、本稿では PSII の低分子量サブユニットの分子機能や、PSII の分子集合を助ける補助的タンパク質の役割に関して、全てを網羅して紹介できなかった。加えて PSII の分子集合や修復においては、色素や酸化還元コファクターの合成や分解、組込みのプロセスも非常に重要な要素であるが、それについても本稿では触れていない。そうした部分に関しては、最近の総説¹⁾などを参照いただければ幸いである。

謝辞

本解説記事で紹介した筆者らの研究の一部は、JST さきがけ「光エネルギーと物質変換」領域の支援のもと、京都大学 大学院生命科学研究所 全能性統御機構学分野 (佐藤文彦教授) において行われたものです。

また、FTIR 解析については名古屋大学理学研究科の野口巧先生、タンパク質相互作用に関する質量分析については奈良先端科学技術大学院大学の深尾陽一朗先生との共同研究による成果です。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。最後に、本執筆の機会を頂きました埼玉大学の西山佳孝先生に感謝申し上げます。

Received July 16, 2013, Accepted July 25, 2013, Published August 31, 2013

参考文献

- Nickelsen, J., and Rengstl, B. (2013) Photosystem II assembly: from cyanobacteria to plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 609-635.
- Komenda, J., Sobotka, R., and Nixon, P. J. (2012) Assembling and maintaining the Photosystem II complex in chloroplasts and cyanobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 15, 245-251.
- Zak, E., Norling, B., Maitra, R., Huang, F., Andersson, B., and Pakrasi, H. B. (2001) The initial steps of biogenesis of cyanobacterial photosystems occur in plasma membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 13443-13448.
- Rengstl, B., Oster, U., Stengel, A., and Nickelsen, J. (2011) An intermediate membrane subfraction in cyanobacteria is involved in an assembly network for Photosystem II biogenesis. *J. Biol. Chem.* 286, 21944-21951.
- Stengel, A., Gügel, I. L., Hilger, D., Rengstl, B., Jung, H., and Nickelsen, J. (2012) Initial steps of photosystem II *de novo* assembly and preloading with manganese take place in biogenesis centers in *Synechocystis*. *Plant Cell* 24, 660-675.
- Komenda, J., Barker, M., Kuviková, S., de Vries, R., Mullineaux, C.W., Tichy, M., and Nixon, P. J. (2006) The FtsH protease *slr0228* is important for quality control of photosystem II in the thylakoid membrane of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 281, 1145-1151.
- Schottkowski, M., Peters, M., Zhanm, Y., Rifai, O., Zhang, Y., and Zerges, W. (2012) Biogenic membranes of the chloroplast in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 19286-19291.
- Aro, E. M., Suorsa, M., Rokka, A., Allahverdiyeva, Y., Paakkarinen, V., Saleem, A., Battchikova, N., and Rintamäki, E. (2005) Dynamics of photosystem II: a proteomic approach to thylakoid protein complexes. *J. Exp. Bot.* 56, 347-356.
- Herbstová, M., Tietz, S., Kinzel, C., Turkina, M. V., and Kirchhoff, H. (2012) Architectural switch in plant photosynthetic membranes induced by light stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 20130-20135.

10. Umena, Y., Kawakami, K., Shen, J. R., and Kamiya, N. (2011) Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. *Nature* 473, 55-60.
11. Shen, J. R., Burnap, R. L., and Inoue, Y. (1995) An independent role of cytochrome *c*-550 in cyanobacterial photosystem II as revealed by double-deletion mutagenesis of the *psbO* and *psbV* genes in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry* 34, 12661-12668.
12. Inoue-Kashino, N., Kashino, Y., Satoh, K., Terashima, I., and Pakrasi, H. B. (2005) PsbU provides a stable architecture for the oxygen-evolving system in cyanobacterial photosystem II. *Biochemistry* 44, 12214-12228.
13. Enami, I., Okumura, A., Nagao, R., Suzuki, T., Iwai, M., and Shen, J. R. (2008) Structures and functions of the extrinsic proteins of photosystem II from different species. *Photosynth. Res.* 98, 349-363.
14. Ifuku, K., Nakatsu, T., Kato, H., and Sato, F. (2004) Crystal structure of the PsbP protein of Photosystem II from *Nicotiana tabacum*. *EMBO Rep* 5, 362-367.
15. Calderone, V., Trabucco, M., Vujicic, A., Battistutta, R., Giacometti, G. M., Andreucci, F. Barbato, R., and Zanotti, G. (2003) Crystal structure of the PsbQ protein of Photosystem II from higher plants. *EMBO Rep.* 4, 900-905.
16. Balsera, M., Arellano, J. B. Revuelta, J. L., de las Rivas, J., and Hermoso, J. A. (2005) The 1.49 Å resolution crystal structure of PsbQ from photosystem II of *Spinacia oleracea* reveals a PPII structure in the N-terminal region. *J. Mol. Biol.* 350, 1051-1060.
17. Michoux, F., Takasaka, K., Boehm, M., Nixon, P. J., and Murray, J. W. (2010) Structure of CyanoP at 2.8 Å: implications for the evolution and function of the PsbP subunit of photosystem II. *Biochemistry* 49, 7411-7213.
18. Jackson, S. A., Fagerlund, R. D., Wilbanks, S. M., and Eaton-Rye, J. J. (2010) Crystal structure of PsbQ from *Synechocystis* sp. PCC 6803 at 1.8 Å: implications for binding and function in cyanobacterial photosystem II. *Biochemistry* 49, 2765-2767.
19. De Las Rivas, J., Balsera, M., and Barber, J. (2004) Evolution of oxygenic photosynthesis: genome-wide analysis of the OEC extrinsic proteins. *Trends Plant Sci.* 9, 18-25.
20. Sato, N. (2009) Phylogenomic and structural modeling analyses of the PsbP superfamily reveal multiple small segment additions in the evolution of photosystem II-associated PsbP protein in green plants. *Mol. Phylogenet. Evol.* 6, 176-186.
21. Fagerlund, R. D., and Eaton-Rye, J. J. (2011) The lipoproteins of cyanobacterial photosystem II. *J. Photochem. Photobiol. B* 104, 191-203.
22. Thornton, L.E., Ohkawa, H., Roose, J. L., Kashino, Y., Keren, N., and Pakrasi, H. B. (2004) Homologs of plant PsbP and PsbQ proteins are necessary for regulation of Photosystem II activity in the cyanobacterium *Synechocystis* 6803. *Plant Cell* 16, 2164-2175.
23. Ifuku, K., Yamamoto, Y., Ono, T. A., Ishihara, S., and Sato, F. (2005) PsbP protein, but not PsbQ protein, is essential for the regulation and stabilization of Photosystem II in higher plants. *Plant Physiol.* 139, 1175-1184.
24. Yi, X., Hargett, S. R., Frankel, L. K., and Bricker, T. M. (2006) The PsbQ protein is required in Arabidopsis for photosystem II assembly/stability and photoautotrophy under low light conditions *J. Biol. Chem.* 281, 26260-26267.
25. Yi, X., Hargett, S.R., Liu, H., Frankel, L. K., and Bricker, T. M. (2007) The PsbP protein is required for photosystem II complex assembly/stability and photoautotrophy in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 282, 24833-24841.
26. Ifuku, K., and Sato, F. (2001) Importance of the N-terminal sequence of the extrinsic 23 kDa polypeptide in Photosystem II in ion retention in oxygen evolution. *Biochim Biophys Acta* 1546, 196-204.
27. Ifuku, K., and Sato, F. (2002) A truncated mutant of the extrinsic 23-kDa protein that absolutely requires the extrinsic 17-kDa protein for Ca²⁺ retention in photosystem II. *Plant Cell Physiol.* 43, 1244-1249.
28. Tomita, M., Ifuku, K., Sato, F., and Noguchi, T. (2009) FTIR evidence that the PsbP extrinsic protein induces protein conformational changes around the oxygen-evolving Mn cluster in photosystem II, *Biochemistry* 48, 6318-6325.
29. Ido, K., Kakiuchi, S., Uno, C., Nishimura, T., Fukao, Y., Noguchi, T., Sato, F., and Ifuku, K. (2012) The conserved His-144 in the PsbP protein is important for the interaction between the PsbP N-terminus and the Cyt *b*₅₅₉ subunit of photosystem II. *J. Biol. Chem.* 287, 26377-26387.
30. Nagao, R., Suzuki, T., Okumura, A., Niikura, A., Iwai, M., Dohmae, N., Tomo, T., Shen, J. R., Ikeuchi, M., and Enami, I. (2010) Topological analysis of the extrinsic PsbO, PsbP and PsbQ proteins in a green algal PSII complex by cross-linking with a water-soluble carbodiimide, *Plant Cell Physiol.* 51, 718-727.
31. Kakiuchi, S., Uno, C., Ido, K., Nishimura, T., Noguchi, T., Ifuku, K., and Sato, F. (2012) The PsbQ protein stabilizes the functional binding of the PsbP protein to photosystem II in higher plants. *Biochim Biophys Acta* 1817, 1346-1351.
32. Allahverdiyeva, Y., Suorsa, M., Rossi, F., Pavesi, A., Kater, M. M., Antonacci, A., Tadini, L., Pribil, M., Schneider, A., Wanner, G., Leister, D., Aro, E. M., Barbato, R., and Pesaresi, P. (2013) Arabidopsis plants lacking PsbQ and PsbR subunits of the oxygen-evolving complex show altered PSII super-complex organization and short-term adaptive mechanisms. *Plant J.*, in press, PubMed PMID: 23647309.
33. Ido, K., Ifuku, K., Yamamoto, Y., Ishihara, S., Murakami, A., Takabe, K., Miyake, C., and Sato, F. (2009) Knockdown of the PsbP protein does not prevent assembly of the dimeric PSII core complex but

- impairs accumulation of photosystem II supercomplexes in tobacco. *Biochem. Biophys. Acta* 1787, 873-881.
34. Caffarri, S., Kouril, R., Kereiche, S., Boekema, E. J., and Croce, R. (2009) Functional architecture of higher plant photosystem II supercomplexes, *EMBO J.* 28, 3052-3063.
 35. Enami, I., Kikuchi, S., Fukuda, T., Ohta, H., and Shen, J. R. (1998) Binding and functional properties of four extrinsic proteins of photosystem II from a red alga, *Cyanidium caldarium*, as studied by release-reconstitution experiments, *Biochemistry* 37, 2787-293.
 36. Nagao, R., Moriguchi, A., Tomo, T., Niikura, A., Nakajima, S., Suzuki, T., Okumura, A., Iwai, M., Shen, J. R., Ikeuchi, M., and Enami, I. (2010) Binding and functional properties of five extrinsic proteins in oxygen-evolving photosystem II from a marine centric diatom, *Chaetoceros gracilis*. *J. Biol. Chem.* 285, 29191-29199.
 37. Sun, Q., Zybailov, B., Majeran, W., Friso, G., Olinares, P. D., and van Wijk, K. J. (2008) PPDB, the Plant Proteomics Database at Cornell. *Nucleic Acids Res.* 37, D969-974.
 38. Yamamoto, Y., Inagaki, N., and Satoh, K. (2001) Overexpression and characterization of carboxyl-terminal processing protease for precursor D1 protein: regulation of enzyme-substrate interaction by molecular environments. *J. Biol. Chem.* 276, 7518-7525.
 39. Plucken, H., Muller, B., Grohmann, D., Westhoff, P., and Eichacker, L. A. (2002) The HCF136 protein is essential for assembly of the Photosystem II reaction center in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 532, 85-90.
 40. Wei, L., Guo, J., Ouyang, M., Sun, X., Ma, J., Chi, W., Lu, C., and Zhang, L. (2010) LPA19, a Psb27 homolog in *Arabidopsis thaliana*, facilitates D1 protein precursor processing during PSII biogenesis. *J. Biol. Chem.* 285, 21391-21398.
 41. Chen, H., Zhang, D., Guo, D., Wu, H., Jin, M., Lu, Q., Lu, C., and Zhang, L. (2006) A Psb27 homologue in *Arabidopsis thaliana* is required for efficient repair of photodamaged Photosystem II. *Plant Mol. Biol.* 61, 567-557.
 42. Dietzel, L., Bräutigam, K., Steiner, S., Schüffler, K., Lepetit, B., Grimm, B., Schöttler, M. A., and Pfannschmidt, T. (2011) Photosystem II supercomplex remodeling serves as an entry mechanism for state transitions in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23, 2964-2977.
 43. Sirpiö, S., Khrouchtchova, A., Allahverdiyeva, Y., Hansson, M., Fristedt, R., Vener, A.V. Scheller, H. V., Jensen, P. E., Haldrup, A., and Aro, E. M. (2008) AtCYP38 ensures early biogenesis, correct assembly and sustenance of Photosystem II. *Plant J.* 55, 639-651.
 44. Fu, A., He, Z., Cho, H.S., Lima, A., Buchanan, B. B. and Luan, S. (2007) A chloroplast cyclophilin functions in the assembly and maintenance of photosystem II in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 15947-15952.
 45. Ishihara, S., Takabayashi, A., Ido, K., Endo, T., Ifuku, K., and Sato, F. (2007) Distinct functions for the two PsbP-like proteins PPL1 and PPL2 in the chloroplast thylakoid lumen of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 145, 668-679.
 46. Kapri-Pardes, E., Naveh, L., and Adam, Z. (2007) The thylakoid lumen protease Deg1 is involved in the repair of Photosystem II from photoinhibition in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19, 1039-1047.
 47. Sirpiö, S., Allahverdiyeva, Y., Suorsa, M., Paakkarinen, V., Vainonen, J., Battchikova, N., and Aro, E. M. (2007) TLP18.3, a novel thylakoid lumen protein regulating Photosystem II repair cycle. *Biochem. J.* 406, 415-425.
 48. Ifuku, K., Ishihara, S., and Sato, F. (2010) Molecular functions of oxygen-evolving complex family proteins in photosynthetic electron flow. *J. Integr. Plant Biol.* 52, 723-734.
 49. Obayashi, T., Hayashi, S., Saeki, M., Ohta, H., and Kinoshita, K. (2009) ATTED-II provides coexpressed gene networks for *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Res.* 37, D987-991.
 50. Yabuta, S., Ifuku, K., Takabayashi, A., Ishihara, S., Ido, K., Ishikawa, N., Endo, T., and Sato, F. (2010) Three PsbQ-like proteins are required for the function of the chloroplast NAD(P)H dehydrogenase complex in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 51, 866-876.
 51. Suorsa, M., Sirpiö, S., Paakkarinen, V., Kumari, N., Holmström, M., and Aro, E. M. (2010) Two proteins homologous to PsbQ are novel subunits of the chloroplast NAD(P)H dehydrogenase. *Plant Cell Physiol.* 51, 877-883.
 52. Liu, J., Yang, H., Lu, Q., Wen, X., Chen, F., Peng, L., Zhang, L., and Lu, C. (2012) PsbP-domain protein1, a nuclear-encoded thylakoid lumenal protein, is essential for photosystem I assembly in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 24, 4992-5006.
 53. Ifuku, K., Endo, T., Shikanai, T., and Aro E. M. (2011) Structure of the chloroplast NADH dehydrogenase-like complex: nomenclature for nuclear-encoded subunits. *Plant Cell Physiol.* 52: 1560-1568.

Functions of Thylakoid Lumenal Proteins Against Photoinhibition of Photosystem II

Kentaro Ifuku*

Graduate School of Biostudies, Kyoto University; JST, PRESTO