

# 樹木の光合成を阻む光・熱ストレスに関する研究

## Studies on the light and heat stresses on photosynthesis of trees

就実大学薬学部 助教 森 宏樹  
School of Pharmacy, Shujitsu University, Assistant Professor  
Hiroki Mori

### 要旨

地球温暖化は、樹木などの植物が行う光合成に対して大きな影響を与える。植物は、日中は四季を通じて光ストレスに曝される。夏にはそれに更に高温ストレスが加わる。このような環境ストレス下で、植物の光合成系に何が起きるか、また植物はそれにどう対応するのかを、特に光化学系 II に注目して調べた。実験は野外の自然条件下での樹木の光合成活性（光化学系 II）の測定と、ホウレンソウ葉緑体を用いた実験室内でのモデル実験の 2 種類行った。その結果、野外実験では、光が強い日中は樹木の葉の光化学系 II 活性が阻害され、夏の高温時にはその阻害が増幅されることが分かった。また、実験室内の実験では、強光や高温ストレス下で光化学系 II の活性が阻害されると同時に、反応中心結合タンパク質 D1 が分解または凝集することが分かった。損傷を受けた分解には金属プロテアーゼ FtsH が関与することも明らかとなった。

### Abstract

Global warming has a significant impact on the photosynthetic activity of plants including trees. During daytime, plants are exposed to stress from strong light in all seasons. In summer, heat stress is superimposed over the light stress. In the present study, we investigated the effects of these environmental stresses on photosynthesis, with particular emphasis on the effects of those on Photosystem II. Two kinds of experiment were carried out. First is an *in vivo* experiment where Photosystem II activity in the leaves of trees was monitored. Second is an *in vivo* experiment dealing with degradation of the reaction center-binding protein D1 of Photosystem II in spinach chloroplasts. The former experiment showed that at daytime, in particular in summer, the Photosystem II activity in tree leaves was inhibited significantly by strong illumination. The *in vitro* study showed that strong light and heat induced cleavage and/or aggregation of the D1 protein, and a metallo-protease FtsH was suggested to be involved in the D1 cleavage.

## 研究目的

今、地球温暖化問題は年ごとに深刻化している。森林・樹木は温暖化ガスである二酸化炭素を吸収するので、地球温暖化を解消する切り札として期待されているが、実際には、樹木を含めて多くの植物が地球温暖化による熱ストレスに曝されており、将来、期待通りの効果を発揮出来できるかどうか、疑問視されている。

本研究は、自然条件下で植物（樹木）がどのような光・熱ストレスを受け、光合成活性がどのような変動を示すか、また、そのような環境ストレス下で、光合成の活性を担う光化学系 II がどのような分子的応答を示すのか、を明らかにする目的で行った。

## 研究経過

研究は2つの方法で行った。一つは大学キャンパス内の樹木（具体的にはクチナシ、アオキ）と岡山市内の樹木（ブドウ、ノウゼンカズラ）の葉の光化学系 II 活性を、クロロフィル蛍光測定装置 PAM（PAM: pulse amplitude modulation）により、季節ごとに測定した（図1）。その際、1日の朝から晩まで1時間おきに測定を行い、気温、葉の温度、光強度もあわせて測定した。この測定により、樹木の光合成が自然の光・温度条件下で示す活性の変動を示すことができる。特に夏の極端に気温の高い条件での光合成活性の変動が注目点である。

研究の二つ目は、実験室内でホウレンソウから葉緑体チラコイド膜を単離して行なった。チラコイド膜に高温ストレス（夏の岡山県南部地方の最高気温に近い40℃を選んだ）を与え、光化学系 II のタンパク質、

特に光化学系 II の反応中心結合タンパク質 D1 の挙動を調べた。測定は、光合成の酸素発生活性（電子伝達活性）測定、プロテアーゼ活性測定、タンパク質の質量分析測定、およびタンパク質の分解や凝集をしらべる Western 分析などを行った。



図1. 野外での樹木の光合成活性の測定。クチナシの葉のクロロフィル蛍光の測定を行っている。

## 研究成果

### 1. 野外実験による光化学系 II の環境ストレス評価

夏期（8月）と冬季（12月・1月）に樹木の葉の光合成活性（光化学系 II 活性）を測定した。いずれの季節においても、クロロフィル蛍光で測定した光化学系 II 活性（effective quantum yield: 光合成を行える能力）は、午前中は高く、正午前後に光強度が増すにつれて、活性は大きく低下した（図2）。光強度の高い時間帯には、光を吸収した葉の葉緑体は大部分の光エネルギーを熱として放散するが、一部は光化学系 II にトラップされて光化学系 II の損傷を引き起こす。その時光合成電子伝達が阻

害されるので、これを光阻害と呼んでいる。その後、夕方になると再び光合成能力は上昇するが、夏の高温条件では、この能力の回復が遅れることが分かった。将来、地球温暖化が進行し気温が上昇し続けると、強い光照射で阻害された光合成能力の回復が遅れたり、あるいは全く回復しなかったりする可能性がある。このような事態になれば、樹木の生育は阻害され、全体として森林の衰退を招くことになるだろう。

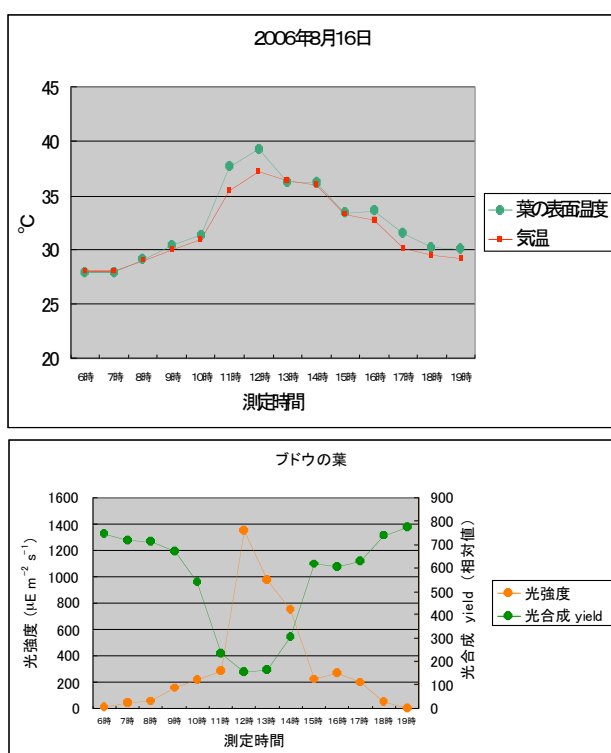


図2. 夏期のブドウの葉の光合成能力。上図は気温と、葉の表面温度。下図は光強度と光合成能力。

## 2. 実験室内での光化学系 II の環境ストレス評価

ハウレンソウのチラコイド膜に 40°C、30 分の熱処理を行うと、D1 タンパク質が特異的に分解された。このタンパク質分解は亜鉛の添加で著しく促進され、また ATP の添加でも促進されたので、亜鉛・ATP 依存性

のプロテアーゼが働いている可能性が示唆された。チラコイド膜を 2M KSCN で処理すると、プロテアーゼが可溶化された。FtsH の抗体で Western 分析した結果、FtsH が可溶化されていることが分かった。さらに、MALDI-TOF 型質量分析により、FtsH2 および 8 の存在が確認された (図 4)。また、KSCN 処理上清とチラコイドを用いた再構成実験も行った。以上の実験により、熱ストレス下での光化学系 II D1 タンパク質の分解には金属プロテアーゼ FtsH が関与していることが示唆された。

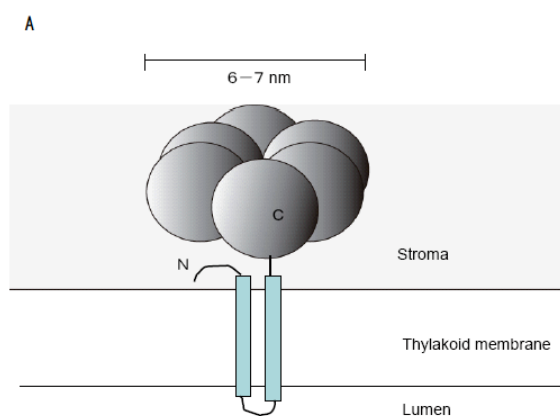


図3. 亜鉛要求性・ATP 依存性プロテアーゼ FtsH の構造モデル。FtsH は膜を 2 回貫通する領域を N 末端に、触媒部位を C 末端にもち、6 量体構造をとる。6 量体の中央に開いた穴に基質である損傷 D1 タンパク質を引き入れて分解する。

40°C の熱処理は、丁度岡山県南部地域の夏の最高気温に近い温度である。樹木の頂端部に近い葉の表面温度はこの時 50°C に達する時もある。このような温度条件で、葉の葉緑体の中では光化学系 II の反応中心結合タンパク質が分解され、光合成の活性の著しい低下がみられる。このことは、1 で述べた野外実験で、非破壊系で測定した

夏の昼間の光合成能力の低下と一致し、この現象をうまく説明できる。高温条件で強い光が当たると、さらに厳しいストレス条件が光化学系 II の D1 タンパク質に与えられることになり、光合成はより著しく阻害されることになる。このような研究によって、地球温暖化が樹木をはじめとする植物全般に対して与える影響を、植物の個体レベルだけでなく、細胞下の分子レベルで明らかにすることが可能になった。

ばならない。北欧のスウェーデンなどでは、ポプラをモデルとして、研究の集中化が図られている。日本の場合には、ブナ、カエデ、ナラなどの落葉広葉樹が実験の材料として適当かもしれない。これらの樹木は地球温暖化に伴ってその分布域を次第に変えているという調査結果が示されているが、これらの樹木の光合成が、強光や高温でどのような影響を受けるのかを、今回の研究で我々がホウレンソウで示したように、具体的に分子レベルで示していく必要がある。樹木の葉の葉緑体光化学系 II が、環境ストレスに応答してどのような挙動を示すのか、例えば D1 タンパク質はホウレンソウで見られたように特異的に分解されるのか、FtsH がその分解に関わるのかは、大変興味深い問題である。D1 の代謝回転が光化学系 II の機能に大きく関わることはすでわかっているので、このタンパク質の分解過程は、樹木の生存にとっても大きな意味を持つ過程である。

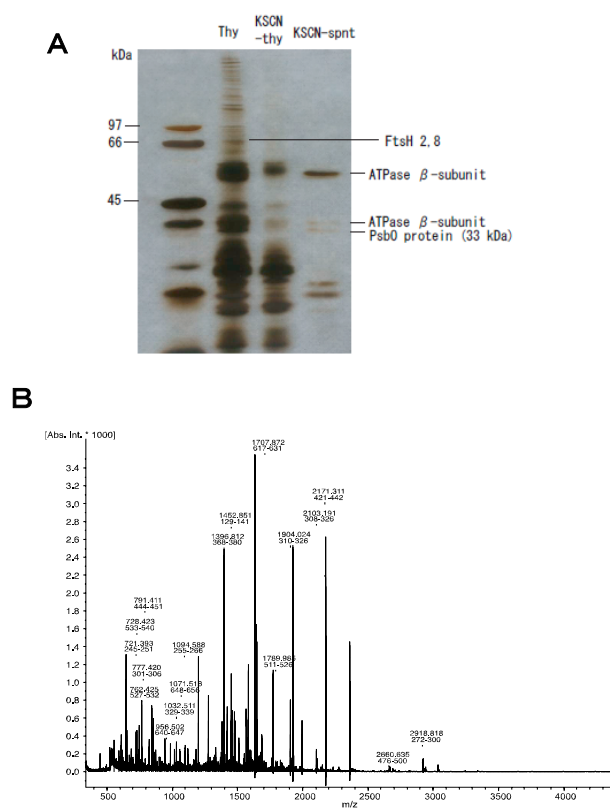


図4. ホウレンソウのチラコイド膜のFtsHプロテアーゼのMALDI-TOF型質量分析。AはチラコイドおよびKSCN処理上清のSDS-PAGEと銀染色。Bはmassスペクトル分析データ。

## 発表論文

M. Yoshioka, S. Uchida, H. Mori, K. Komayama, S. Ohira, N. Morita, T. Nakanishi and Y. Yamamoto: Quality control of Photosystem II: cleavage of reaction center D1 protein in spinach thylakoids by FtsH protease under moderate heat stress. *J. Biol. Chem.* 281, 21660-21669 (2006)

## 今後の課題と展開

樹木の光合成に対する強光や高温の影響を分子レベルで調べる場合には、分子レベルの研究に適切なモデル植物を探さなけれ