



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	冬季の常緑植物における持続的熱放散
Author(s)	叶, 子豪; 田中, 亮一
Citation	低温科学, 83, 69-78
Issue Date	2025-03-29
DOI	https://doi.org/10.14943/lowtemsci.83.69
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/94818
Type	departmental bulletin paper
File Information	07_p069-078_LT83.pdf



冬季の常緑植物における持続的熱放散

叶 子豪^{1), 2)}, 田中 亮一¹⁾

2024 年 12 月 27 日受付, 2025 年 1 月 7 日受理

寒冷圏の常緑植物は、冬期は、光合成電子伝達を抑制する必要がある。光化学系IIを夏季の半分程度までに減らすことで電子伝達を抑制している植物も存在するが、もっとも重要なのは光化学系IIにおいて励起エネルギーを熱として放散し、電子伝達を抑制することである。冬季の常緑植物において持続的に活性化している熱放散（持続的熱放散）の分子メカニズムについて、本稿では、提唱されている主要な6つの仮説、すなわち、光阻害、スピルオーバー、ゼアキサンチンによる熱放散、Early light-induced proteinによる熱放散、電荷再結合について概説する。

Sustained energy dissipation in overwintering evergreens

Zihao Ye^{1,2}, Ryouichi Tanaka¹

Evergreen plants in cold regions need to suppress photosynthetic electron transport during winter. Some plants achieve this by reducing the level of photosystem II (PSII) to about half of its summer level, but the most important mechanism in general is increasing the dissipation of excitation energy as heat in PSII, thereby suppressing electron transport. This article summarizes recent progress toward understanding the molecular mechanisms of thermal dissipation (sustained heat dissipation) that are continuously active in evergreen plants during winter, focusing on six main hypotheses: photoinhibition, spillover, zeaxanthin-dependent thermal dissipation, thermal dissipation by Early light-induced protein, and charge recombination.

キーワード：常緑植物, 葉緑体, 光化学系
chloroplast, evergreen, photosystem

1. 冬季の常緑植物における光合成活性の調節

1.1 冬季に針葉樹は光合成をしているのか？

冒頭から大雑把な質問で申し訳ないが、植物科学に携わる研究者のみなさんは「冬季に常緑樹は光合成をしているのか」と聞かれることはないだろうか？このように誰かに聞かれたら、我々は、「みなさんが思っているほど、光合成はしていませんよ。とくに札幌ぐらいの気温だと1月、

2月はほとんど光合成はしていません。」と答えるようにしている。実際、1月、2月の北大構内のニホンイチイ (*Taxus cuspidata*) を例にとると二酸化炭素の吸収速度は、検出限界以下で (Tanaka, 2007) また、蛍光の測定によって見積もった光化学系IIの最大量子収率も大きく低下している (図1)。

このように答えると、次に聞かれるのは、「それでは常緑針葉樹が緑色を保つのは何のためなのか？」という質問である。この質問に対する答えは (研究者の視点によって、

連絡先
田中 亮一
北海道大学・低温科学研究所
〒060-0819 札幌市北区北19条西8丁目
Tel: 011-706-5493
Email: rtanaka@lowtem.hokudai.ac.jp

1) 北海道大学・低温科学研究所
Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University,
Sapporo, Japan
2) 北海道大学大学院環境科学院
Graduate School of Environmental Science, Hokkaido
University, Sapporo, Japan

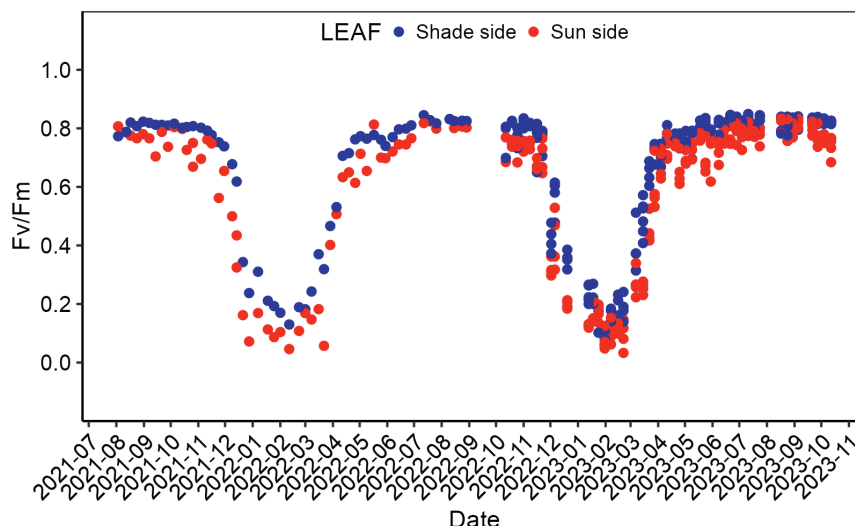


図1：イチイのFv/Fm（光化学系IIの最大量子収率）の年間変化

北大のキャンパス内のニホンイチイ (*T. cuspidata*) の3本の成木の南側 (Sun side: 赤) および北側 (Shade side: 青) の光化学系IIの最大量子収率をMultispeQ (PhotosynQ Inc., USA)を用いて測定した。Ye et al., 2025のデータをもとに再解析をしてプロットをした。

答え方は異なると思われるが)「常緑針葉樹は気温が少し上がればすぐに(数時間以内に)光合成をすることができ、落葉樹は一度、葉を落としてしまうとすぐに光合成をすることはできない。だから、気温が低い地域では、年間の光合成量を考えると(春先や初冬での光合成を考えると)常緑針葉樹が落葉樹に対してアドバンテージを持つケースも多い。」となる。実際に上述のニホンイチイの例では、野外のニホンイチイの枝を20℃程度の室温に持てくると3時間程度で二酸化炭素の吸収活性が検出されるようになる(Tanaka, 2007)。

では、上述のように冬季に常緑針葉樹の光合成活性が抑制されているのはなぜであろうか?それは、光合成の電子伝達において、電子を受け取る分子が不足するためと考えられる。光化学系IIの水分子の分解で始まる電子伝達は、光化学系Iを経由するいくつかの過程を経て、通常はNADP⁺に電子が渡される(図2)。光合成反応が活発な条件では、NADPHの多くはカルビン反応などの代謝経路で消費されるが、低温下ではこれらの代謝経路の活性が低下し、NADP⁺を十分に消費できなくなる。このような条件では、光化学系Iから電子の行き場がなくなり、その結果、電子と酸素分子が反応する確率が上昇し、活性酸素が発生すると考えられる。活性酸素の発生する量が増加すると、葉緑体内のさまざまな分子が酸化され、機能を失うと考えられる。

常緑植物の場合、クロロフィルがあれば気温に関わらず光の吸収が起こるため、低温下でエネルギーの入力(光の

吸収)と出力(電子をNADP⁺に渡す)のインバランスが生じる可能性は高い。これを防ぐためには、エネルギーの入力を抑える(つまり光化学系IIを分解する、光化学系IIの活性を下げる)か、出力をあげる(NADP⁺以外の電子受容体を利用して、光化学系IIに電子がたまらないようにする)必要がある。なお、話はそれるが、この場合、光化学系Iの循環的電子伝達の活性を上げることは、(結局は電子は光化学系Iに戻ってしまうので)エネルギーのインバランスの根本的な解決にならない。裸子植物にはflavodiiron protein (FLV) とよばれるタンパク質が存在し、光化学系Iのアクセプター側(ストロマ側)で酸素分子を水に還元していることが報告されているが(Bag et al., 2023)、電子伝達速度が高い場合はFLVのキャパシティを超えることも十分に想定されるため、やはり冬季の常緑樹の光化学系IIの分解あるいは活性の制御によって、電子伝達速度を抑える必要があると思われる。

1.2 光化学系IIの量の減少

光化学系IIの減少は冬季の常緑植物で広く報告されている(表1に本文中の植物名の英名, 和名の対応表を記載)。ヨーロッパアカマツ (*Pinus sylvestris*: Ensminger et al., 2004; Ivanov et al., 2005; Ottander et al., 1995), クマコケモモ (*Arctostaphylos uva-ursi*: C. Ryan Zarter et al., 2006a), パルサムモミ (*Abies balsamea*: Verhoeven et al., 2009), コントルタマツ (*Pinus contorta*: Verhoeven et al., 2009), ストロブマツ (*Pinus strobus*: Verhoeven and Kornkven, 2023), シロ

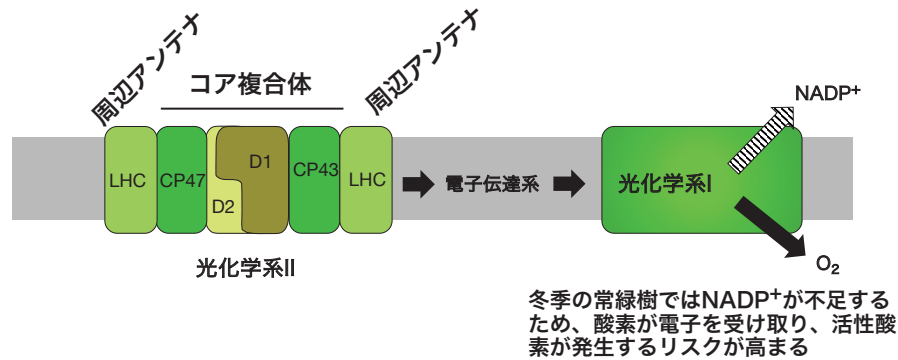


図2：光合成の電子伝達経路の模式図

光化学系IIはD1、D2、CP47、CP43などのサブユニットから構成されるコア複合体とLHCIIなどLHCスーパーファミリーのタンパク質から構成される周辺アンテナからなる。春から秋にかけて、光合成活性が活発な時期は水分子の分解によって得られた電子は最終的にはNADP⁺が受け取るが、冬季にNADP⁺が不足すると酸素分子が電子を受け取り、活性酸素となるリスクが高まる。そのため、冬季の低温下では光化学系IIの活性を抑える必要がある。

トウヒ (*Picea glauca*: Verhoeven and Kornkven, 2023) といった常緑樹では、光化学系IIのコア複合体のD1タンパク質は夏や秋と比べて、顕著に減少している。一方、ベイマツ (*Pseudotsuga menziesii*: Ebbert et al., 2005) や著者らの研究ではニホンイチイでは、冬季でも目立ったD1タンパク質の減少は見られなかった (Ye et al., 2025)。このような結果を総合すると、冬季の常緑樹の応答は、光化学系IIの減少を伴うわけではないと考えて良さそうである。

ただし、上述の研究でD1タンパク質の定量に用いられたイムノブロットングは、そもそも定量という点では精度が悪い手法であり、実験間の比較が難しい。この点で、上述の植物のうち、冬季のストロブマツ、バルサムモミにおいては、光化学系IIのコア複合体のD1タンパク質は減少しているものの、周辺アンテナ複合体のLHCIIは減少しておらず、クロロフィルの減少も見られない (Verhoeven et al., 2009) という結果が得られているが、このような場合は、クロロフィルを結合する何らかのタンパク質が増加しているか、あるいは、D1タンパク質の定量に誤差があるか、どちらかの可能性を検討しなければならない。著者らの研究室では、現在、定量の安定性を高めたイムノブロットングの手法を開発中であるが、D1タンパク質のように20%-50%程度の小さな変動を議論するためには、より安定性・再現性の高い定量的イムノブロットングの手法が必要であると考えられる。

1.3 持続的熱放散とは

上述のように、D1や光化学系IIは、札幌のニホンイチイの成木のようにほとんど減らないものから、夏と比べて

1/10程度まで減少するスウェーデン Umeå のヨーロッパアカマツのようなものもある (Ottander et al., 1995)。いずれにせよ、カルビンサイクルなどの活性がほとんどない状況では吸収した光エネルギーの大部分を熱として放散する必要があると考えられる。冬季に光化学系IIの量子収率が低下する例は多数の植物で知られており、吸収した光の持続的な冬の放散 (Öquist and Hüner, 2003)、あるいは、持続的なエネルギー放散 (A. Verhoeven, 2013)、持続的な非光化学的消光 (Grebe et al., 2020) などと呼ばれている。本稿では(光合成における)持続的熱放散とよぶことにする。いずれも、冬季に観察され、気温の上昇によって、数時間から数日で解消される(あるいは減少する)のが特徴である (Grebe et al., 2020; Tanaka, 2007; Verhoeven, 2013)。興味深いことに、冬季間は量子収率と気温が直線的な関係を示すが、秋にはそのような関係は見られない (図3)。この量子収率の減少は、単純に気温によるカルビンサイクルの活性低下に伴う、電子伝達のシンクの不足では説明がつかないのではないかとと思われる。我々は持続的熱放散のメカニズムにはなんらかの温度依存的な制御が含まれるのではないかと推測している。

2. 持続的熱放散のメカニズム

以下の章では、現在、提唱されている持続的熱放散のメカニズムに関する6つの仮説 (図4) について概説する。

2.1 光阻害による持続的熱放散の可能性

光阻害は光によって誘導される光化学系IIの不活性化で、葉緑体のタンパク質合成なしには回復しない不可逆

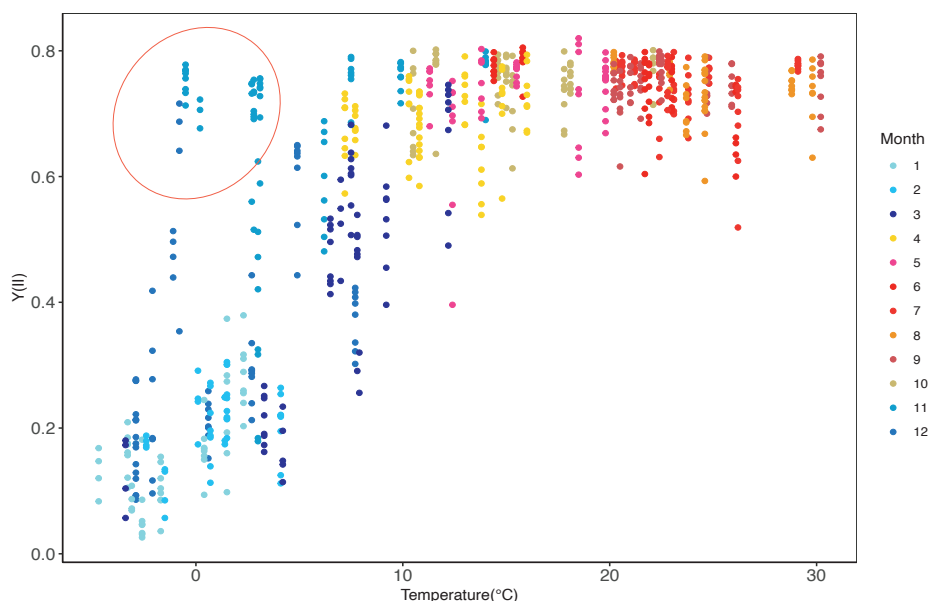


図3：気温とY(II)（光化学系IIの量子収率）の相関

北大のキャンパス内のニホンイチイの成木の北側の葉の光化学系IIの量子収率をMultispeQ (PhotosynQ Inc., USA)を用いて年間を通して測定し、測定時の気温とY(II)をプロットした。Ye et al., 2025の図2(B)を再掲。各点の色は測定時の月を表す。気温がおよそ15°C以下の場合には気温とY(II)の相関が見られるが、11月と12月前半（図中の左上の丸で囲んだ部分）は気温が低くなくてもY(II)は高く保たれている。

的なものをさす(Tyystjärvi, 2013)。一般的には、長時間(数時間以上)に渡って光化学系IIの活性が低下する場合やD1タンパク質の減少が観察される場合に光阻害が起きている、と判断されることが多い。光阻害においては、(1)光化学系IIにある種のダメージが起こって不活性化した後、(2)光化学系のD1タンパク質の分解が起こり、(3)その後、D1タンパク質が再合成されることにより、光化学系IIの活性が回復すると考えられる(Nawrocki et al., 2021)。この過程において、光化学系IIにどのようなダメージ(あるいは変化)が起こることによって光化学系IIが不活性化するのか、という点は現在でもさまざまな議論があり、明らかになっていない(Nawrocki et al., 2021; Tyystjärvi, 2013)。持続的熱放散の研究では、そもそも、光化学系IIの活性低下とD1タンパク質の減少が見られた場合には光阻害が起きて持続的熱放散が起きていると判断されるようである(Ottander et al., 1995)。ただし、上述のようにイムノブロットングの定量性には種々の問題があるため、D1タンパク質だけが減っているのか、それとも光化学系IIのコア複合体全体が減っているのかという判断は難しいように思われる。顕著なD1の減少なしにも持続的熱放散は起きると思われるが、光阻害の初期に起こると考えられる光化学系IIの不活性化については、持続的熱放散の際に必ず見ら

れるのかという点は不明である。そもそも、光阻害に特徴的な光化学系IIの不活性化を定量的に検出する方法も確立されていないので、光阻害であるか、それ以外のメカニズムなのか、それを検証する方法から考える必要がある。一つ考えられるのは、Decay-associated spectra (DAS: クロロフィル蛍光の減衰スペクトル)を解析するという方法である。我々が秋と冬のイチイのチラコイドのDASを比較したところ、30 psから40 psの速い領域で、周辺アンテナ(LHC)からの強い蛍光の減衰が観察された(Ye et al., 2025)。一方、Nawrockiら(2021)の*Chlamydomonas reinhardtii*での解析では、光阻害の後で蛍光寿命が短くなっていたにも関わらず、DASに変化はみられなかった。この結果は、光阻害の場合は反応中心近傍で熱放散が起きている、常緑樹の持続的熱放散は周辺アンテナで起きていると解釈される。ただし、これらの結果のみから持続的熱放散は光阻害でないと結論づけるのは早計であり、今後、さまざまな条件、生物で光阻害と持続的熱放散のDASを比較してみる必要があると思われる。

2.2 LHCIIおよびPsbSタンパク質のリン酸化

光化学系IIの周辺アンテナにおいて熱放散を誘導するタンパク質としては、PsbSが知られている。PsbSはLHCIIと

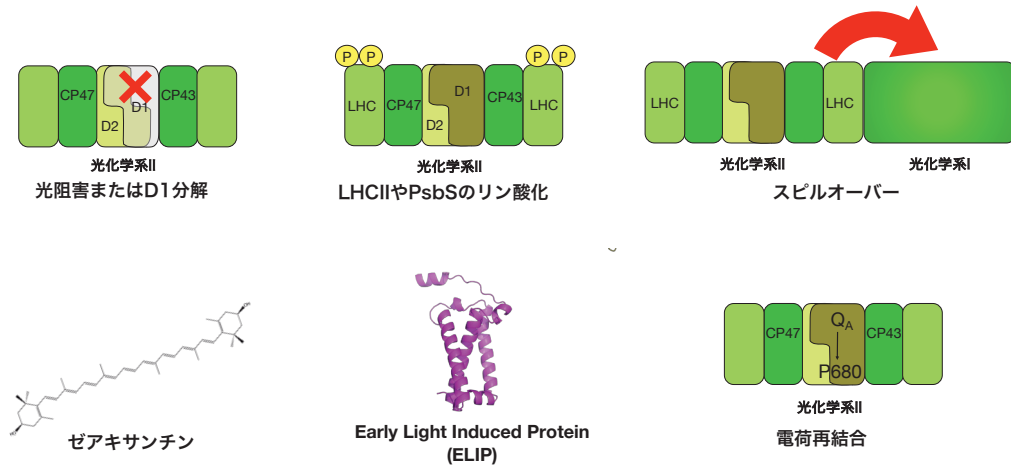


図4：持続的熱放散の分子メカニズムに関する6つの仮説

同じスーパーファミリーに属するタンパク質で、構造的にはLHCIIとの類似性を示すが、ほとんど光合成色素を結合していないという点で、LHCIIとは根本的な違いがある。PsbSは二量体化するとクロロフィルaを一分子結合することが報告されているが、カロテノイドなどを結合していないので、それ自身が励起エネルギーを放散するのではなく、LHCIIなどの構造変化を誘導することで熱放散を誘導すると考えられている (Fan et al., 2015)。Grebeら (2020) はドイツウヒ (*Picea abies*) において持続的熱放散が見られる時期にLHCに3つのリン酸基が添加されること、また、PsbSのリン酸化が見られることを質量分析によって見出した。興味深いことに、これらのリン酸化はドイツウヒの葉を室温に戻すと持続的熱放散の消失とともに消失した。これ以外にも、リン酸化タンパク質に対する抗体を用いて持続的熱放散とベイマツのD1のリン酸化の相関が示されており (Verhoeven et al., 2009)、ストローブマツおよびシロトウヒにおいては、光化学系IIのコア複合体のサブユニット (D1, D2, CP43) およびLHCとのリン酸化の関連を報告している (Verhoeven and Kornkven, 2023)。また、ストローブマツおよびシロトウヒにおいても持続的熱放散の消失とこれらのタンパク質の脱リン酸化の関連が示されている (Merry et al., 2017)。これらのリン酸化が持続的熱放散に直接関与するかどうかは不明であるが、持続的熱放散のメカニズムの一つとして興味深い。

2.3 スピルオーバーの持続的熱放散への関与

光化学系IIにおける熱放散のメカニズムとして、さまざまな植物で光化学系IIから光化学系Iへの励起エネルギー移動 (スピルオーバー) が報告されている (Yokono et al.,

2019)。Bagら (2020) は、クロロフィル蛍光のキネティクスをターゲットモデリングすることにより、持続的熱放散の活性が比較的高いと思われる初春のヨーロッパアカマツにおいて、スピルオーバーの活性が高いという報告をしている。彼らはさらに同じ時期にチラコイド膜のグラナメラが減少することから、グラナメラの減少がスピルオーバーの活性の増加と持続的放散につながるといふ仮説を提唱している。しかし、ニホンイチイでは、もっとも持続的熱放散が活発な冬にはグラナメラはむしろ増加しており (Yokono et al., 2008)、スピルオーバーの活性の増加も観察されていない (Ye et al., 2025)。樹種や季節によっては、スピルオーバーが持続的熱放散に関わる可能性は十分に考えられる。

2.4 ゼアキサンチンの持続的熱放散への関与

光化学系IIに結合するカロテノイドのうち、ゼアキサンチン、アンテラキサンチン、ビオラキサンチンの3つのキサントフィルは、相互に変換しうる環状の代謝経路を形成している。通常は、ゼアキサンチン、アンテラキサンチン、ビオラキサンチンの順番で代謝され、弱光条件ではビオラキサンチンが主に光化学系IIの周辺アンテナのタンパク質に結合している。強光条件 (すなわちチラコイド膜内腔が酸性化している条件) ではビオラキサンチンは脱エポキシ化されてゼアキサンチンに戻り、やはり光化学系IIの周辺アンテナに結合する。主にシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いた研究から、ゼアキサンチンの蓄積は光化学系IIにおける熱放散を誘導することが示されている (Lee et al., 2024; Niyogi et al., 1998)。しかし、強光条件下において、ゼアキサンチン自身は周辺アンテナにおけるクエ

ンチャー（注：励起エネルギーを消光する分子）として機能するわけではないと考えられており、間接的に周辺アンテナや他のタンパク質に作用することにより、周辺アンテナにおける熱放散を誘導すると考えられている（Kress and Jahns, 2017; Ruan et al., 2023; Sacharz et al., 2017）。

持続的熱放散が起こっている植物では、例外なくゼアキサンチンの蓄積が見られる（Demmig-Adams et al., 2020）。また、シロイヌナズナなど、持続的熱放散が報告されていない植物種では、キサントフィルサイクルの色素のうち、最大でも50%程度までしかゼアキサンチンの比率が上昇しないが、持続的熱放散が起こる植物では、持続的熱放散が起こっている状況ではキサントフィルサイクルの色素のうち、80%以上をゼアキサンチンが占める（Demmig-Adams et al., 2020）。冬季の常緑樹では、ゼアキサンチンだけでなく、ほかのカロテノイドの蓄積も増加するため、βカロテンからゼアキサンチンが合成される経路も活性化していると考えられる。その結果、クロロフィルあたりのキサントフィルサイクルの色素の量とゼアキサンチンの比率の両方が上昇する（Demmig-Adams et al., 2020）。もし、ゼアキサンチンが周辺アンテナにしか結合をしないとすると、周辺アンテナのタンパク質においてクロロフィルとカロテノイドの比率は一定であると考えられるので、クロロフィルあたりのゼアキサンチンの量の増加は説明がつかない。（1）周辺アンテナ以外のタンパク質にゼアキサンチンが結合している、（2）ゼアキサンチンはタンパク質には結合していない、（3）ゼアキサンチンは周辺アンテナに結合しているが、結合している場所は本来カロテノイドが結合している場所ではない、という3つの可能性が考えられる。ゼアキサンチンの局在は、持続的熱放散の理解に重要であると考えられることから、今後のゼアキサンチンの局在に関する研究の進展が待たれる。

2.5 Early light-induced protein (ELIP)の役割

持続的熱放散に関わると考えられるタンパク質の一つが、Early light-induced protein (ELIP) である。ELIPは1980年代にオオムギ (*Hordeum vulgare*) などの黄化芽生えが光照射時に誘導されるタンパク質として同定された（Grimm et al., 1989; Grimm and Kloppstech, 1987）。ELIPはチラコイド膜に存在する3回膜貫通タンパク質で、LHCIIと同じタンパク質スーパーファミリーに属する。Adamskaらはエンドウ (*Pisum sativum*) からELIPを精製し、クロロフィルaとカロテノイドを結合していることを報告している（Adamska et al., 1999）。また、近年、Skotnicováらは、シロイヌナズナのELIPをシアノバクテリアの細胞で発現、

精製し、同様にクロロフィルとカロテノイド（ゼアキサンチン）が結合しうることを報告している。また、このELIPでは、Ultrafast transient absorptionの解析から、クロロフィルの励起エネルギーが非常に早く放散されると見積もられている（Skotnicová et al., 2021）。我々は、常緑植物のツルマサキ (*Euonymus fortunei*) のELIPを解析し、クロロフィルaと複数種類のカロテノイドを結合し、高い熱放散能力を持つ、という結果を得ている（未発表）。

Zarterら（2006a, 2006b）はクマコケモモ、ボンデローザマツ (*Pinus ponderosa*)、コントルタマツ、ミヤマバルサム、エンゲルマントウヒ (*Engelmann spruce*) といった幅広い樹種で冬季に蓄積していることを報告している。Zarterら（2006b）は当時すでにELIPが持続的熱放散に関わるのではないかと、いう可能性を指摘している。国内でも宇梶と原が冬のニホンイチイにおいて、Established Sequence Tag解析（注：cDNA libraryのクローンをランダムに解析する手法）を用いてELIPのmRNAが大量に発現していることを報告している（Ukaji and Hara, 2007）。しかし、近年まで、ELIPと光合成の関連を明確に示した研究結果は報告されていなかった。シロイヌナズナにおいて、ELIPの過剰発現や欠損では、光合成に関する形質の変化は見られない（Hutin et al., 2003; Rossini et al., 2006）が、過剰発現株において、稀に葉緑体の発達の欠損が見られる（Tzvetkova-Chevolleau et al., 2007）。したがって、これらの結果からはELIPの機能は明らかにはなっていないが、前述のSkotnicováらの結果（Skotnicová et al., 2021）は、ELIPの蓄積が熱放散を誘導しうる可能性を示している。

我々の研究室では、2007年頃から断続的に持続的熱放散の研究を行ってきたが、2017年に本格的に持続的熱放散の研究を再開した。この時点では、単に冬季に蓄積するタンパク質の一つとしてELIPがある、というだけで、ELIPが持続的熱放散に関わるかどうかは不明であった。我々は、持続的熱放散のメカニズムを解明する糸口をつかむため、野外のニホンイチイの葉において、日光のよくあたる南側、陰となっている北側、当年葉、一年葉において、光化学系IIの量子収率を毎週測定し、色素の変動、トランスクリプトーム、タンパク質の発現については、月ごとに詳細に比較した。その結果、いずれの葉においても冬季に同じようなタイミングで量子収率の低下が起きていた。同じタイミングで、ELIPのmRNAの増加が見られ、その割合はトランスクリプトームのおよそ20%、タンパク質のレベルでは、LHCIIのおよそ半分（分子数でみるとLHCIIと同等）と見積もられた（Ye et al., 2025）。また、改めてELIPに着目して先行研究のトランスクリプトームの

データを見てみると、ベイマツにおいても、冬季のELIPの発現は全トランスクリプトームの15%程度におよぶと見積もられた (Cronn et al., 2017). 一般的に大量に発現する遺伝子はゲノム上のコピー数が多いことが知られているが、ニホンイチイのIso-Seqの結果では、ニホンイチイのELIPのisoformは37種類以上あると見積もられる。また、アブラマツ (*Pinus tabulaeformis*; Niu et al., 2021) の詳細なゲノム解析では、この種においては100コピー以上の*Elip*遺伝子がゲノム上に存在すると見積もられた。これらの結果は、越冬中の常緑樹においては、大量のELIPを発現する必要があるということを示唆している。

なお、我々のトランスクリプトーム解析において、冬季は転写も翻訳もほとんど止まっているのではないかと、という質問をよく受けるが、我々の実験においては、冬季のmRNAの量(葉の重量あたり)やタンパク質の量は夏季とさほど差は見られず、季節に伴ったトランスクリプトームの変化は越冬中でも見られる。また、同様に北米オレゴン州Pacific Northwestのベイマツにおいても冬季には秋季に比べてむしろトランスクリプトームのカウントは増加している (Cronn et al., 2017) ことから、寒冷圏の冬季だからといって、転写や翻訳が停止しているとは考えられない。もちろん、地域によって、常に-10°Cや-20°Cを下回るような場所では、転写や翻訳が停止しているかもしれないが、札幌の場合は、冬季の気温は激しく変動しており、気温がプラスとマイナスを行き来するのは珍しくはない。札幌のような環境では、光合成の応答やトランスクリプトームも気温にすぐに応答するような状態にあり、転写や翻訳も含めて冬でも基本的な代謝プロセスは動いていると考えるのが妥当である。

ELIPが仮に光化学系IIと相互作用をしていないとすると、ELIPは、それ自身が吸収した光エネルギーを放散するだけということになり、冬季の常緑樹で見られるような劇的な量子収率の低下は説明ができない。ELIPが光化学系IIと相互作用をするかどうか、という点は、ELIPの持続的熱放散における役割を考える上で非常に重要である。しかし、PsbSの研究例をみると、ELIPと光化学系IIの相互作用を証明するのは容易ではないのかもしれないとも予想される。PsbSは発見から20年以上も経っており、変異体の解析からは光化学系IIの熱放散に関わることが事実であるにも関わらず、どのように光化学系IIと相互作用するのかという点については、いまだに諸説あるという状況である。PsbSと光化学系IIの相互作用は非常に弱く、一時的であるという可能性があり、PsbSと光化学系IIの安定的な複合体を検出するのは難しいという可能性がある。

ELIPと光化学系IIが弱く相互作用しているのであれば、その相互作用を捉えるのは難しいかもしれない。そのため、ELIPがもし光化学系IIと相互作用するのであれば、例えばELIPの過剰発現体の光合成活性を分析するなどの生理学的な手法が有効であると予想される。もし、ELIPが持続的熱放散の制御に関わっていないとすると、ELIPの機能としてもう一つ考えられるのは、光化学系IIから外れた色素のリザーバーとしての役割である (Hutin et al., 2003). つまり、冬季に光化学系IIを一時的に分解する必要がある、その際にクロロフィルを保持しておくのがELIPである、という仮説である。この説は、なぜELIPが大量に必要なのか、という説明にはなっているが、一方で、なぜクロロフィルを保持しておく必要があるのか、一度保持されたクロロフィルをもう一度、光化学系に取り込めるのか、という疑問も残る。いずれにせよ、ELIPの機能に関しては、さらなる研究が必要であることは間違いない。

2.6 電荷再結合による熱放散

田中歩 (2007) は、光化学系IIのコア複合体に結合している Q_A と反応中心 $P680^+$ の電荷再結合によって持続的熱放散がおきる、という可能性を提唱している。その根拠の一つは、冬季のニホンイチイの葉にさまざまな温度条件で $340 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光を照射し、暗所に戻したときに、クロロフィル蛍光の戻りが低温では遅くなる、という観察である。低温下で、常に一定量の Q_A が温度に逆比例して還元状態にあるとすると、図3の結果の説明にはなると思われるが、暗所にしても常に一定量の Q_A を還元状態に保つことが可能なのかどうかは不明である。この仮説に関して、我々の研究は、持続的熱放散は周辺アンテナで行われていることを示唆しているので、この点では支持されていない。しかし、コア複合体における熱放散の可能性自体は排除されたわけではないため、今後は、他の方法で Q_A の還元状態を調べることによって、この仮説を検証できるのではないかと考えている。

まとめ

冬季の常緑植物では、持続的熱放散という現象が広く観察されるが、熱放散の分子メカニズムは不明である。光阻害、スピルオーバー、LHCIIやPsbSのリン酸化、ゼアキサンチン、ELIP、電荷再結合などがそのメカニズムに関与すると提唱されているが、いずれに関しても決定的な証拠はない。樹種によって異なるメカニズムを用いている可能性もあるので、複数の樹種を対象とした持続

表1：本稿で記載した植物名、英名、和名

学 名	英 名	和 名
<i>Abies balsamea</i>	balsam fir	バルサムモミ
<i>Abies lasiocarpa</i>	subalpine fir	ミヤマバルサム
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Thale cress	シロイヌナズナ
<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	bearberry	クマコケモモ
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>		コナミドリムシ
<i>Euonymus fortunei</i>	Fortune's spindle	ツルマサキ
<i>Hordeum vulgare</i>	barley	オオムギ
<i>Picea abies</i>	Norway spruce	ドイツトウヒ
<i>Picea engelmannii</i>	Engelmann spruce	エンゲルマントウヒ
<i>Picea glauca</i>	white spruce	シロトウヒ
<i>Pinus contorta</i>	lodgepole pine	コントルタマツ
<i>Pinus ponderosa</i>	ponderosa pine	ボンデローザマツ
<i>Pinus sylvestris</i>	Scots pine	ヨーロッパアカマツ
<i>Pinus tabuliformis</i>	Chinese pine	アブラマツ
<i>Pinus strobus</i>	eastern white pine	ストローブマツ
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Douglas fir	ベイマツ
<i>Pisum sativum</i>	pea	エンドウ
<i>Taxus cuspidata</i>	Japanese yew	ニホンイチイ

的熱放散の研究も重要であろう。近年、針葉樹の光化学系の構造解析が少しずつ進んでいるが (Kouřil et al., 2020; Opatíková et al., 2023), 今後、冬季の常緑植物の光化学系IIのクライオ電顕を用いた構造解析などがブレイクスルーになる可能性がある。また、さまざまな仮説を検証するためには、時間分解クロロフィル蛍光測定に基づくDAS解析なども必須であると考えられ、複合的な研究領域からのアプローチが持続的熱放散のメカニズムの解明につながるかと期待される。

謝辞

本稿で紹介した研究の一部は科研費23H04960および24K01806の助成を受けて実施された。

参考文献

Adamska, I., Roobol-Bóza, M., Lindahl, M., and Andersson, B. (1999) Isolation of pigment-binding early light-inducible proteins from pea. *Eur. J. Biochem.* 260: 453–460.

Bag, P., Chukhutsina, V., Zhang, Z., Paul, S., Ivanov, A.G., Shutova, T., et al. (2020) Direct energy transfer from photosystem II to photosystem I confers winter sustainability

in Scots Pine. *Nat. Commun.* 11: 6388.

Bag, P., Shutova, T., Shevela, D., Lihavainen, J., Nanda, S., Ivanov, A.G., et al. (2023) Flavodiiron-mediated O2 photoreduction at photosystem I acceptor-side provides photoprotection to conifer thylakoids in early spring. *Nat. Commun.* 14: 3210.

Cronn, R., Dolan, P.C., Jogdeo, S., Wegrzyn, J.L., Neale, D.B., Clair, J.B.St., et al. (2017) Transcription through the eye of a needle: daily and annual cyclic gene expression variation in Douglas-fir needles. *BMC Genomics.* 18: 1–18.

Demmig-Adams, B., Stewart, J.J., López-Pozo, M., Polutchko, S.K., and Adams, W.W. (2020) Zeaxanthin, a Molecule for Photoprotection in Many Different Environments. *Molecules.* 25: 5825.

Ebbert, V., III, W.W.A., MATTOO, A.K., SOKOLENKO, A., and Demmig-Adams, B. (2005) Up-regulation of a photosystem II core protein phosphatase inhibitor and sustained D1 phosphorylation in zeaxanthin-retaining, photoinhibited needles of overwintering Douglas fir. *Plant, Cell Environ.* 28: 232–240.

Ensminger, I., Sveshnikov, D., Campbell, D.A., Funk, C., Jansson, S., Lloyd, J., et al. (2004) Intermittent low temperatures constrain spring recovery of photosynthesis in

- boreal Scots pine forests. *Global Change Biol.* 10: 995–1008.
- Fan, M., Li, M., Liu, Z., Cao, P., Pan, X., Zhang, H., et al. (2015) Crystal structures of the PsbS protein essential for photoprotection in plants. - PubMed - NCBI. *Nat. Structur. Mol. Biol.* 22: 729–735.
- Grebe, S., Trotta, A., Bajwa, A.A., Mancini, I., Bag, P., Jansson, S., et al. (2020) Specific thylakoid protein phosphorylations are prerequisites for overwintering of Norway spruce (*Picea abies*) photosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 202004165.
- Grimm, B., and Kloppstech, K. (1987) The early light-inducible proteins of barley. Characterization of two families of 2-h-specific nuclear-coded chloroplast proteins. *Euro. J. Biochem.* 167: 493–499.
- Grimm, B., Kruse, E., and Kloppstech, K. (1989) Transiently expressed early light-inducible thylakoid proteins share transmembrane domains with light-harvesting chlorophyll binding proteins. *Plant Mol. Biol.* 13: 583–593.
- Hutin, C., Nussaume, L., Moise, N., Moya, I., Kloppstech, K., and Havaux, M. (2003) Early light-induced proteins protect Arabidopsis from photooxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 4921–4926.
- Ivanov, A.G., Krol, M., Sveshnikov, D., Malmberg, G., Gardeström, P., Hurry, V., et al. (2005) Characterization of the photosynthetic apparatus in cortical bark chlorenchyma of Scots pine. *Planta.* 223: 1165.
- Kouřil, R., Nosek, L., Opatíková, M., Arshad, R., Semchonok, D.A., Chamrád, I., et al. (2020) Unique organization of photosystem II supercomplexes and megacomplexes in Norway spruce. *Plant J.* 104.
- Kress, E., and Jahns, P. (2017) The Dynamics of Energy Dissipation and Xanthophyll Conversion in Arabidopsis Indicate an Indirect Photoprotective Role of Zeaxanthin in Slowly Inducible and Relaxing Components of Non-photochemical Quenching of Excitation Energy. *Front. Plant Sci.* 8: 2094.
- Lee, T.-Y., Lam, L., Patel-Tupper, D., Roy, P.P., Ma, S.A., Lam, H.E., et al. (2024) Chlorophyll to zeaxanthin energy transfer in nonphotochemical quenching: An exciton annihilation-free transient absorption study. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 121: e2411620121.
- Merry, R., Jerrard, J., Frebault, J., and Verhoeven, A. (2017) A comparison of pine and spruce in recovery from winter stress; changes in recovery kinetics, and the abundance and phosphorylation status of photosynthetic proteins during winter. *Tree Physiol.* 37: 1239–1250.
- Nawrocki, W.J., Liu, X., Raber, B., Hu, C., Vitry, C. de, Bennett, D.I.G., et al. (2021) Molecular origins of induction and loss of photoinhibition-related energy dissipation qI. *Sci. Adv.* 7: eabj0055.
- Niu, S., Li, J., Bo, W., Yang, W., Zuccolo, A., Giacomello, S., et al. (2021) The Chinese pine genome and methylome unveil key features of conifer evolution. *Cell.* 185: 1–14
- Niyogi, K.K., Grossman, A.R., and Björkman, O. (1998) Arabidopsis Mutants Define a Central Role for the Xanthophyll Cycle in the Regulation of Photosynthetic Energy Conversion. *Plant Cell.* 10: 1121–1134.
- Opatíková, M., Semchonok, D.A., Kopečný, D., Ilík, P., Pospíšil, P., Ilíková, I., et al. (2023) Cryo-EM structure of a plant photosystem II supercomplex with light-harvesting protein Lhcb8 and α -tocopherol. *Nat. Plants.* 9: 1359–1369.
- Öquist, G., and Hüner, N.P.A. (2003) Photosynthesis of overwintering evergreen plants. *Annual Rev. Plant Biol.* 54: 329–355.
- Ottander, C., Campbell, D., and Öquist, G. (1995) Seasonal changes in photosystem II organisation and pigment composition in *Pinus sylvestris*. *Planta.* 197: 176–183.
- Rossini, S., Casazza, A.P., Engelmann, E.C.M., Havaux, M., Jennings, R.C., and Soave, C. (2006) Suppression of both ELIP1 and ELIP2 in Arabidopsis does not affect tolerance to photoinhibition and photooxidative stress. *Plant Physiol.* 141: 1264–1273.
- Ruan, M., Li, H., Zhang, Y., Zhao, R., Zhang, J., Wang, Yingjie, et al. (2023) Cryo-EM structures of LHCII in photo-active and photo-protecting states reveal allosteric regulation of light harvesting and excess energy dissipation. *Nat. Plants.* 9: 1547–1557.
- Sacharz, J., Giovagnetti, V., Ungerer, P., Mastroianni, G., and Ruban, A.V. (2017) The xanthophyll cycle affects reversible interactions between PsbS and light-harvesting complex II to control non-photochemical quenching. *Nat. Plants.* 3: 16225.
- Skotnicová, P., Staleva-Musto, H., Kuznetsova, V., Bína, D., Konert, M.M., Lu, S., et al. (2021) Plant LHC-like proteins show robust folding and static non-photochemical quenching. *Nat. Commun.* 12: 6890.
- Tanaka, A. (2007) Photosynthetic activity in winter needles of the evergreen tree *Taxus cuspidata* at low temperatures. *Tree Physiol.* 27: 641–648.

- Tyystjärvi, E. (2013) Photoinhibition of Photosystem II. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 300: 243–303.
- Tzvetkova-Chevolleau, T., Franck, F., Alawady, A., Dall'Osto, L., Carriere, F., Bassi, R., et al. (2007) The light stress-induced protein ELIP2 is a regulator of chlorophyll synthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 50: 795–809.
- Ukaji, N., and Hara, T. (2007) Expressed sequence tags (EST) から見た樹木の越冬戦略 (<特集>エコゲノミクス: ゲノムから生態学的現象に迫る) . 日本生態学会誌. 57: 89–99.
- Verhoeven, A. (2013) Sustained energy dissipation in winter evergreens. *New Phytol.* 201: 57–65.
- Verhoeven, A., and Kornkven, J. (2023) Differences in photoprotective strategy during winter in Eastern white pine and white spruce. *Tree Physiol.* 44: tpad131.
- Verhoeven, A., Osmolak, A., Morales, P., and Crow, J. (2009) Seasonal changes in abundance and phosphorylation status of photosynthetic proteins in eastern white pine and balsam fir. *Tree Physiol.* 29: 361–74.
- Verhoeven, A.S. (2013) Recovery kinetics of photochemical efficiency in winter stressed conifers: the effects of growth light environment, extent of the season and species. *Physiol. Plant.* 147: 147–58.
- Ye, Z., Sawada, M., Iwasa, M., Moriyama, R., Dey, D., Furutani, M., et al. (2025) Revisiting the early light-induced protein hypothesis in the sustained thermal dissipation mechanism in yew leaves. *J. Exp. Bot.* 2: 513–531.
- Yokono, M., Akimoto, S., and Tanaka, A. (2008) Seasonal changes of excitation energy transfer and thylakoid stacking in the evergreen tree *Taxus cuspidata*: How does it divert excess energy from photosynthetic reaction center? *Biochim. Biophys. Acta - Bioenergetics.* 1777: 379–387.
- Yokono, M., Takabayashi, A., Kishimoto, J., Fujita, T., Iwai, M., Murakami, A., et al. (2019) The PSI–PSII Megacomplex in Green Plants. *Plant Cell Physiol.* 60: 1098–1108.
- Zarter, C. Ryan, Adams, W.W., Ebbert, V., Adamska, I., Jansson, S., and Demmig-Adams, B. (2006a) Winter acclimation of PsbS and related proteins in the evergreen *Arctostaphylos uva-ursi* as influenced by altitude and light environment. *Plant, Cell Environ.* 29: 869–878.
- Zarter, C. Ryan, Adams, W.W., Ebbert, V., Cuthbertson, D.J., Adamska, I., and Demmig-Adams, B. (2006b) Winter down-regulation of intrinsic photosynthetic capacity coupled with up-regulation of Elip-like proteins and persistent energy dissipation in a subalpine forest. *New Phytol.* 172: 272–282.