HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	葉緑体における酸素還元反応
Author(s)	嶋川, 銀河
Citation	低温科学, 83, 1-8
Issue Date	2025-03-29
DOI	https://doi.org/10.14943/lowtemsci.83.1
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/94824
Type	departmental bulletin paper
File Information	01_p001-008_LT83.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

低温科学 83 （2025） 1–8
doi: 10.14943/lowtemsci. 83. 1

葉緑体における酸素還元反応

嶋川　銀河 [1)]

2024 年 11 月 21 日受付，2024 年 12 月 18 日受理

植物や藻類，シアノバクテリアが行う酸素発生型光合成では光エネルギーを利用して水と二酸化炭素から糖と酸素が生じる．一般的に酸素は光合成において「生成」されるものだが，実際は光合成を行う葉緑体やシアノバクテリア細胞では光照射下において酸素の還元，すなわち「消費」も起こっており，そこに係る分子メカニズムの中には，細胞レベルにおいて光合成に引けをとらない活性をもつものも存在する．本稿では，光合成において明反応でも暗反応でもない「ナニカ」である葉緑体の酸素還元について解説する．

Oxygen-reducing reactions in chloroplasts

Ginga Shimakawa[1]

Oxygenic photosynthesis in plants, algae, and cyanobacteria produces sugar and O2 with light energy. Generally, O2 is recognized as what produced, and actually it is also what consumed in illuminated chloroplasts and cyanobacterial cells through the molecular mechanisms, some of which have comparable capacity to photosynthesis at cellular levels. Here, I review the O2-reducing reactions in chloroplasts that are neither light nor dark reactions of photosynthesis.

キーワード：酸素の光還元，代替的電子伝達，水-水サイクル，フラボジアイアンタンパク質，末端酸化酵素
O2 photoreduction, Alternative electron flow, Water-water cycle, Flavodiiron proteins, Terminal oxidases

1．はじめに

光合成は，地球上に生存するあらゆる生物の営みに欠かせない生体反応である．植物や藻類，シアノバクテリアが行う酸素（O_2）発生型光合成では，光エネルギーを利用して水（H_2O）を酸化し，チラコイド膜にある電子伝達系を駆動することによって還元力であるNADPHと高エネルギー化合物であるATPを生成し，それらを使って二酸化炭素（CO_2）から糖（$C_6H_{12}O_6$）を合成する（式1）．

$$6\,H_2O + 6\,CO_2 \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \qquad \text{－式1}$$

やや単純化し過ぎてはいるものの，式1に示される光合成反応の基本構造はあらゆる光合成生物において普遍であり，今から30億年ほど前に誕生して以来本質的には変わることなく維持されてきたシステムと考えられる．O_2発生型光合成において，電子伝達系におけるATPおよびNADPHの生成（明反応）とカルビン・ベンソン回路におけ

連絡先
嶋川　銀河
神戸大学大学院農学研究科
〒 657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲台 1-1
Tel: 078-803-5850
Email: gshimakawa@panda.kobe-u.ac.jp

1）神戸大学大学院農学研究科
Graduate School of Science, Chiba University, Chiba, Japan

るそれらの消費（暗反応）のカップリングは大原則であり，前者の明反応（光化学系IIにおけるH_2Oの酸化で生じた電子が光化学系Iにおける$NADP^+$の還元へと使われる過程）はより具体的に直線的電子伝達と呼ばれる（図1; ※単に光化学系IIと光化学系Iの間で起こる電子伝達反応を直線的電子伝達と定義するケースもあるが，本稿ではあくまで暗反応と厳密にカップリングする電子伝達反応に対してこの語を用いる）．直線的電子伝達とカルビン・ベンソン回路のみを想定した場合，光合成の反応は式1の通りに進むと想定される．その一方で，電子伝達系で生じた還元力は生物種に特有の分子メカニズムを介して様々な代謝へと利用され，それらが細胞レベルにおいてカルビン・ベンソン回路におけるCO_2同化速度に匹敵する反応速度を有していた場合，式1だけでは光合成で起こっている生理現象を説明できない．このとき生じる「直線的電子伝達以外の電子伝達反応」が代替的電子伝達である．

酸素分子は2つの不対電子をもつため細胞内で還元されやすくスーパーオキシドラジカル（O_2^-）を生じることが知られるが，この反応に光化学系IIでH2O酸化（式2）から生じた電子が使われた場合，光合成電子伝達系で生じた全ての還元力がカルビン・ベンソン回路で消費されたとは言えない．

$$\mathbf{2\,H_2O \rightarrow O_2 + 4\,H^+ + 4\,e^-} \qquad \text{－式2}$$

ここで重要なのは，そのO_2還元が細胞内で「どれくらい」起こっているかである．もしも細胞レベルの反応速度が，光合成CO_2同化速度と比べて無視できるほど小さければ，少なくとも光合成全体の反応（式1）に影響しないが，CO_2同化速度に引けを取らないレベルで起こっていた場合，そのO_2還元反応は代替的電子伝達としてはたらく．この場合，電子受容体はNADP+ではなくO_2となるが，実験において電子伝達「活性」を検出することができる．また光化学系IIから光化学系Iへの電子伝達が生じていればシトクロムb_6f複合体におけるQ-サイクルによってプロトン濃度勾配が形成され，ATP生成は行われる（図1, 2）．そして電子伝達系における各コンポーネントの酸化還元レベルもO_2に強く依存することになるであろう．はたして，そのようなことが自然界で起こりうるだろうか？葉緑体におけるO_2の還元反応については昔から多くの研究が進められているが，21世紀に入ってから分子レベルでの理解がさらに進展し，とりわけ代替的電子伝達に対する認識はこの20年で大きく変わったように思える．本稿では過去の研究の流れを交えつつ，可能な限り簡単に最新の知見をまとめることに努める．各項目についてより詳細な情報は引用元の文献などを参照することを勧める．また本稿のタイトルは，ミトコンドリア呼吸と分けて議論するため「葉緑体における・・」としたが，基本的に原核光合成生物であるシアノバクテリア細胞も植物や藻類のもつ葉緑体と同じ立場において話を進める．

2. Water-water cycle

植物の葉から単離精製したチラコイド膜に様々なタンパク質や酸化還元物質を添加してクロロフィル蛍光を測定することで，*in vitro*で再構成した光合成電子伝達系の活性評価が可能である．一連の実験結果から，アスコルビン酸（AsA）や過酸化水素（H_2O_2），モノデヒドロアスコルビン酸（MDA）還元酵素などの存在下において再構成した電子伝達系におけるクロロフィル蛍光の光化学的消光が観測され，光合成電子伝達系で生じる還元力を利用したH_2O_2の消去システム（water-water cycle）の全容が明らかとなった（Miyake and Asada 1992, Miyake et al. 1998）．Water-water cycleの詳細については多くの総説や解説記事が公表されているため（Asada 2000），本稿では反応の概要および細胞レベルにおける活性に絞って解説する．

$$\mathbf{2\,O_2 + 2\,e^- \rightarrow 2\,O_2^-} \qquad \text{－式3a}$$
$$\mathbf{2\,O_2 - + 2\,H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2} \qquad \text{－式3b}$$
$$\mathbf{H_2O_2 + 2\,AsA \rightarrow 2\,H_2O + 2\,MDA} \qquad \text{－式3c}$$
$$\mathbf{2\,MDA + 2\,H^+ + 2\,e- \rightarrow 2\,AsA} \qquad \text{－式3d}$$
$$\mathbf{O_2 + 4\,H^+ + 4\,e^- \rightarrow 2\,H_2O} \qquad \text{－式3e}$$

まず光化学系IにおいてO_2が還元し，O_2^-が生成する（式3a; Mehler 1951, Asada et al. 1974）．生じたO_2^-はスーパーオキシドジスムターゼによって速やかにH_2O_2へと不均化され（式3b），これをAsAペルオキシダーゼがH_2Oへと還元する（式3c）．この過程でAsAが酸化して生じたMDAは，MDA還元酵素（電子供与体はNADPH）あるいはフェレドキシン（Fd）によってAsAへと再還元される（式3d）．一連の反応式を足し合わせると式3eとなり，光化学系IIにおけるH_2Oの酸化（式2）を考慮すればO_2の収支はプラスマイナスゼロであるため，O_2を発生せずNADPHも生成しない電子伝達反応が光化学系IIと光化学系Iの間に生じることとなる（図2）．

残念ながら，生葉を用いて行われた実験によって，C3植物の光合成電子伝達活性は概ねカルビン・ベンソン回路と光呼吸のみから説明できることが示され（Driever and

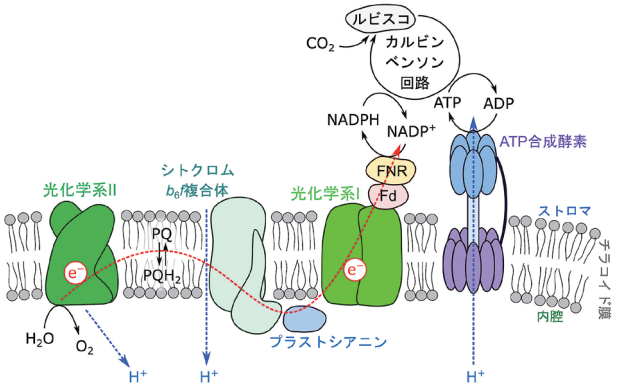

図1：酸素発生型光合成における直線的電子伝達とカルビン・ベンソン回路
直線的電子伝達の経路を赤点線で示す.

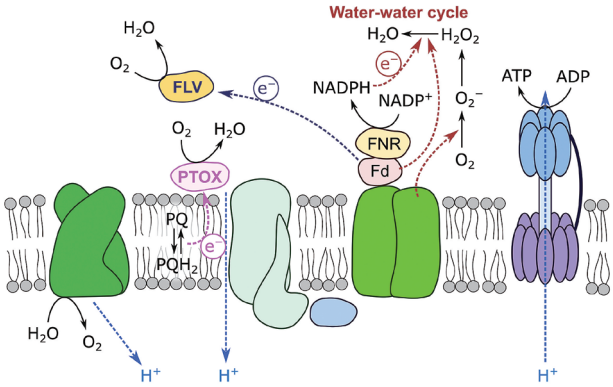

図2：本稿で述べた葉緑体における酸素還元反応の概要

Baker 2011, Miyake 2020)，結論として細胞レベルにおけるwater-water cycleの反応速度は少なくとも光合成CO_2同化速度と比べると無視できるほど小さいことが分かっている．恐らくは，そもそもO_2^-の生成速度がそこまで高くないのであろう（猛毒である活性酸素の生成速度がそこまで大きくないのは当然のことかもしれない）．このことは，強光や低CO_2条件などO_2^-生成が予想されるストレス環境において光化学系I周辺が酸化的に保たれることとも一致し，光合成生物はできるだけ光化学系Iにおいて活性酸素生成が起きないように電子伝達反応を制御しているようである（Shimakawa and Miyake 2018, Furutani et al. 2023）．これらを踏まえると，water-water cycleは代替的電子伝達というよりも活性酸素の消去システムとして重要な役割を担っていると考えられる．

3. Flavodiironタンパク質

シアノバクテリアや緑藻では，上述したC3植物とは異なり，細胞レベルにおいてwater-water cycleの活性が高く検出されていたが，その分子的実体は長らく不明であった（Badger et al. 2000）．そんな中，21世紀に入って新たに同定されたO_2還元酵素がフラボジアイアンタンパク質（Flavodiiron protein, FLV）である（Helman et al. 2003）．FLVは2鉄センター，フラビンモノヌクレオチド結合モチーフ，そしてNAD(P)H:フラビン酸化還元酵素類似モチーフという3つのドメインから成り立つ分子量70 kDa程度のフラビンタンパク質であり（図3; Vicente et al. 2002, Vicente et al. 2008a），シアノバクテリアや緑藻，基部陸上植物（コケ，シダ，裸子植物），そして一部の渦鞭毛藻でのみ見つかっている（Alboresi et al. 2019）．また上述した3つのドメインのうち2鉄センターとフラビンモノヌクレオチド結合モチーフを有したオルソログが多くの細菌で見つかっており，FDPと総称される(FLVはFDPの中で光合成生物がもつものに対する略称と思われる)．FLVはその一次構造からタイプAとタイプBの2種類に細分され，上記の光合成生物はAB両方の酵素を最低1セットは有している．遺伝子組換えによって片方のタイプを欠損させると表現型がみられること（Helman et al. 2003, Allahverdiyeva et al. 2013），また渦鞭毛藻SymbiodiniaceaeがAタイプとBタイプの遺伝子をポリシストロニックにコードすること（Shimakawa et al. 2022）から，FLVは異なるタイプの酵素がヘテロ二量体または四量体を形成して機能すると考えられている（Beraldo et al. 2024）．細胞レベルの実験から，FdがFLVの電子供与体としてはたらくことが分かっており（Sétif et al. 2020），*in vitro*においてFLVがFdとの相互作用を示すこともこれを裏付けている（Hanke et al. 2011）．また細菌のもつ多くのFDPにおいて反応過程で活性酸素が検出されないことから（Romão et al. 2016），FLVによるO_2還元もH_2Oへの4電子還元(式3e)であると考えられている(図2)．

FLVが触媒するO2還元は，細胞レベルにおいてその反応速度が非常に大きく，シアノバクテリアにおいては最大CO_2同化速度の半分に近いスケールに達することもある（Helman et al. 2003, Shimakawa et al. 2015）．これはミトコンドリア呼吸におけるO_2還元速度の比ではなく，現在までに見出されているO_2還元酵素の中でも恐らく最大クラスであろう．その活性の高さゆえに，FLVによる代替的

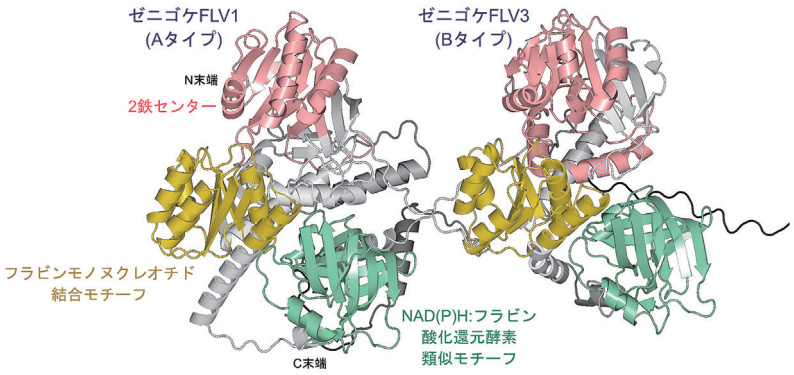

図3：ゼニゴケがもつAおよびBタイプFLVのAlphaFold予測構造
図にはAlphaFold3による予測構造を使用し，モチーフが予測される配列箇所を色付けした．

電子伝達は光合成生物において様々な機能を有することが分かっている．中でも最も有名なものは，シアノバクテリアや緑藻，コケ植物におけるFLV欠損株の解析結果から明らかとなった光化学系Iの保護機能である．変動光など急激な光強度変化を含む光ストレスやCO_2欠乏環境においては，NADPHの消費が間に合わず光化学系Iの下流が過還元状態となる危険があるが，これを防ぐためにFLVがO_2へと余剰の電子を逃がしており，活性酸素生成を防いでいる（Allahverdiyeva et al. 2013, Gerotto et al. 2016, Chaux et al. 2017, Shimakawa et al. 2017）．またFLVによる代替的電子伝達はNADPHを生成することなくプロトン濃度勾配を形成する（ATPを生成する）ため，CO_2同化反応の誘導を促進したり，その最大活性を高めることが示されている（Hasunuma et al. 2014, Gómez et al. 2018）．ピレノイド型のCO_2濃縮機構をもつ緑藻クラミドモナスはCO_2同化酵素ルビスコへ供給するCO_2をチラコイド膜内腔の酸性条件を利用して生成しているが，FLVはプロトン濃度勾配の形成を促進することでルビスコへのCO_2供給をサポートすることも報告されている（Burlacot et al. 2022）．さらにその他の生理機能として，シアノバクテリアのヘテロシストではFLVによる代替的電子伝達がO_2除去にはたらくことも示されており（Ermakova et al. 2014），これはまさに*Chlorobaculum tepidum*など嫌気性細菌においてFDPが担う生理機能と似たものである（Li et al. 2009）．これら一連の生理機能には，CO_2同化速度に匹敵する反応速度だけではなく，FLVがもつ高いO_2親和性にも支えられている．例えば光呼吸の初発反応であるルビスコのオキシゲナーゼ反応はKm値が100−1600 μM程度であるが（Orr et al. 2016, Tcherkez 2016），細菌のもつFDPはO_2に対して1 μM程度のK_m値を示し（Vicente et al. 2008b），同様に光合成生物のFLVも極めて高いO_2親和性有していると推定される（Hayashi et al. 2014）．シアノバクテリアや緑藻，コケ植物にとってFLVのもつ高いO_2親和性は，気体の拡散が制限される水中環境で役立っていたのかもしれない（Shimakawa et al. 2017）．

興味深いことに，FLVによるO_2還元反応は，カルビン・ベンソン回路や光呼吸によって還元力の消費が十分に行われている際にはほとんど見られない．これが単にFd-$NADP^+$酸化還元酵素（FNR）やFLVのFdに対する親和性で決まっているのか，あるいは電子伝達系の酸化還元状況に応じて何らかの制御がはたらいているのかについては，未だ決着がついていない（Beraldo et al. 2024）．また筆者を含めて多くの研究者が，in vitroにおけるFLV反応の再現に挑戦したが，未だタンパク質レベルでFLVのO2還元反応を正確に捉えた研究報告は出ていない．

4. 末端酸化酵素

植物や藻類の葉緑体は，ミトコンドリア呼吸電子伝達系ではたらくオルタナティブオキシダーゼのオルソログに相当する葉緑体末端酸化酵素（Plastid terminal oxidase, PTOX）をもつ（Kuntz 2004, Nawrocki et al. 2015）．PTOXは葉緑体ストロマに局在する40 kDa程度の可溶性タンパク質であり，還元型プラストキノン（PQH_2）を電子供与体としてO_2の4電子還元を行う（式3e）．この反応は葉緑体呼吸と呼ばれ，PTOXによるO2還元反応は*in vitro*においても再現可能である（Yu et al. 2014）．酸化型プラストキノン（PQ）は光化学系IIによって還元されるため，光照射下においてPTOXが行うO_2還元反応は代替的電子伝達としては

たらく可能性があるが（Laureau et al. 2013），通常生葉や生細胞レベルで検出されるPTOXのO_2還元速度は，光合成CO_2同化速度などと比べると無視できるほど小さいようである（Trouillard et al. 2012）．その一方で，PTOXはその発現量が増加する乾燥や塩ストレスなどにおいて代替的電子伝達としてはたらくことも指摘されている（Johnson and Stepien 2016）．

原核光合成生物であるシアノバクテリアの細胞内では，植物や藻類のミトコンドリア呼吸においてはたらくシトクロム*c*酸化酵素や大腸菌など細菌の呼吸電子伝達系ではたらくbd-キノール酸化酵素，あるいはこれら両方の末端酸化酵素が，光合成電子伝達系と同じチラコイド膜に存在する（図4）．それゆえ光合成と呼吸それぞれの電子伝達系は，PQプールのみならずシトクロムb_6f複合体やプラストシアニン（およびシトクロムc_6）をシェアしており（Binder 1982, Peschek et al. 2004），これらを中継地点として光合成-呼吸の各電子伝達系間で電子の交換が行われることが多くの研究によって証明されている（Cooley and Vermaas 2001, Liu et al. 2012, Lea-Smith et al. 2013, Shimakawa et al. 2014）．ただし，先行研究では基本的に阻害剤や遺伝子組換えによっていずれかの経路を完全に止めた状態で他の経路の電子伝達活性を評価する手法が取られており，光合成と呼吸両方の電子伝達系が健全な状態においてどの程度のリークが起こりうるのか定量的な報告は未だない．シアノバクテリアの細胞呼吸が示すO_2還元速度は，葉緑体呼吸よりも遥かに大きく，細胞内に蓄積された呼吸基質の量によるが光合成最大CO_2同化速度の3割程度のスケールまでは増加する（Helman et al. 2005, Shimakawa et al. 2021）．とはいえ前述した通り，いくら呼吸電子伝達の速度が大きくても，その中の何%が光合成電子伝達と干渉しているかが不明瞭であるため，シアノバクテリアの細胞呼吸を単純に代替的電子伝達と捉えるのは難しい．少なくともシアノバクテリア呼吸におけるO_2還元速度は主に呼吸基質（より具体的には還元力であるNADPHを供給する酸化的ペントースリン酸経路）に依存しており，光強度には直接的な影響を受けないことが分かっている（Shimakawa 2023）．

5. 未知のO_2光還元メカニズム

現在まで明らかになっている葉緑体O_2還元反応の分子メカニズムは，そのほとんどが実験で扱いやすいモデル生物において同定されたものであり，その他の多種多様な生物種，とりわけ二次共生藻（ユーグレナ藻，クリプト藻，珪藻，渦鞭毛藻など）の多くでは分子レベルの研究がほとんど行われていない．例えば特定の珪藻種において光合成CO_2同化速度に匹敵するwater-water cycleの活性が報告されている（Waring et al. 2010）．また真正眼点藻*Vischeria punctata*や多くの褐藻（大型藻類）においてO2光還元による光化学系Iの酸化が観察されている（Shimakawa et al. 2019）．これら二次共生藻は，進化系統的にFLVをもたないと考えられ，その代替的電子伝達には未同定の新規分子が係ることが期待される．

6. おわりに

「光合成は明反応と暗反応から成り立つ」というのが教科書に記載される定説であるが，今回取り上げたO_2還元反応は，代替的電子伝達としてはたらくことで光合成全体の反応（式1）にとって無視できない「明反応でも暗反応でもないナニカ」となる．分子レベルの研究が進展する中で，O_2還元反応の実体も今ではより明確なものとなってきた（図2）．光合成においてO_2を「生成」する葉緑体の中にこれほど多種多様なO_2を「消費」する分子メカニズムが存在するのは，ひとえに還元されやすいO2の性質が関係するものと思われる．とはいえ，決して代替的電子伝達＝O_2還元反応でもない．本稿では取り上げないが，藻類やシアノバクテリアを中心としてO_2還元を伴わない代替的電子伝達が報告されており，その分子的実体は未だに不明である（Halsey and Jones 2015, Shimakawa and Matsuda 2024）．さらには光化学系Iの下流からPQやシトクロムb_6f複合体へ電子が戻る循環的電子伝達も提唱されている（Arnon 1991）．細胞レベルにおける反応速度や分子メカニズムについてはまだ議論の渦中であるが，循環的電子伝達は昔から多くの光合成研究者がターゲットとしており，今なお世界各所で独自の研究が展開されている（Strand and Kramer 2014, Yamori and Shikanai 2016, Buchert et al. 2020, Theune et al. 2021, Ohnishi et al. 2023, Maekawa et al. 2024）．このように，光合成には明反応と暗反応のほかに，未だその実体や機能が解き明かされていない謎が隠されている．本稿に触れた学生諸君が，これまでとは少し違う視点で光合成を眺めれるようになれば幸いである．

謝辞

本稿執筆の機会を与えてくださった田中亮一先生（北海道大学）および原稿執筆に際して貴重なご助言をくださった三宅親弘先生（神戸大学）に深くお礼申し上げます．ま

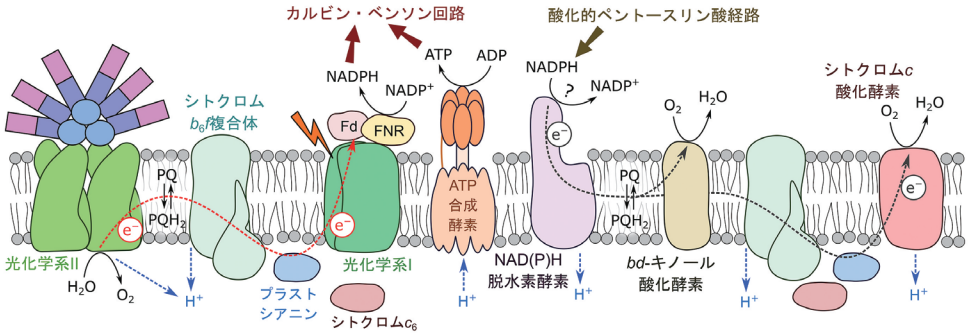

図4：光合成と呼吸の電子伝達が共存したシアノバクテリアチラコイド膜の模式図
直線的電子伝達および呼吸電子伝達をそれぞれ赤点線と黒点線で示す.

た本原稿の執筆は学術変革領域「光合成ユビキティ」における活動の一環として行いました(No. 24H02102 to G.S.).

参考文献

Alboresi, A., Storti, M. and Morosinotto, T. (2019) Balancing protection and efficiency in the regulation of photosynthetic electron transport across plant evolution. *New Phytol*. 221: 105-109.

Allahverdiyeva, Y., Mustila, H., Ermakova, M., Bersanini, L., Richaud, P., Ajlani, G., et al. (2013) Flavodiiron proteins Flv1 and Flv3 enable cyanobacterial growth and photosynthesis under fluctuating light. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 110: 4111-4116.

Arnon, D.I. (1991) Photosynthetic electron transport: Emergence of a concept, 1949–59. *Photosynth. Res*. 29: 117-131.

Asada, K., Kiso, K. and Yoshikawa, K. (1974) Univalent reduction of molecular oxygen by spinach chloroplasts on illumination. *J. Biol. Chem*. 249: 2175-2181.

Asada, K. (2000) The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 355: 1419-1431.

Badger, M.R., von Caemmerer, S., Ruuska, S. and Nakano, H. (2000) Electron flow to oxygen in higher plants and algae: rates and control of direct photoreduction (Mehler reaction) and rubisco oxygenase. *Philos. Trans. R. Soc. London* 355: 1433-1446.

Beraldo, C., Traverso, E., Boschin, M., Cendron, L., Morosinotto, T. and Alboresi, A. (2024) Physcomitrium patens flavodiiron proteins form heterotetrametric complexes. *J. Biol. Chem*. 300.

Binder, A. (1982) Respiration and photosynthesis in energy-transducing membranes of cyanobacteria. *J. Bioenerg. Biomembr*. 14: 271-286.

Buchert, F., Mosebach, L., Gäbelein, P. and Hippler, M. (2020) PGR5 is required for efficient Q cycle in the cytochrome b_6f complex during cyclic electron flow. *Biochem. J*. 477: 1631-1650.

Burlacot, A., Dao, O., Auroy, P., Cuiné, S., Li-Beisson, Y. and Peltier, G. (2022) Alternative photosynthesis pathways drive the algal CO_2-concentrating mechanism. *Nature* 605: 366-371.

Chaux, F., Burlacot, A., Mekhalfi, M., Auroy, P., Blangy, S., Richaud, P., et al. (2017) Flavodiiron proteins promote fast and transient O_2 photoreduction in *Chlamydomonas*. *Plant Physiol*. 174: 1825-1836.

Cooley, J.W. and Vermaas, W.F.J. (2001) Succinate dehydrogenase and other respiratory pathways in thylakoid membranes of Synechocystis sp. strain PCC 6803: Capacity comparisons and physiological function. *J. Bacteriol*. 183: 4251-4258.

Driever, S.M. and Baker, N.R. (2011) The water–water cycle in leaves is not a major alternative electron sink for dissipation of excess excitation energy when CO_2 assimilation is restricted. *Plant Cell Environ*. 34: 837-846.

Ermakova, M., Battchikova, N., Richaud, P., Leino, H., Kosourov, S., Isojarvi, J., et al. (2014) Heterocyst-specific flavodiiron protein Flv3B enables oxic diazotrophic growth of the filamentous cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. Proc. *Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 111: 11205-11210.

Furutani, R., Wada, S., Ifuku, K., Maekawa, S. and Miyake, C. (2023) Higher reduced state of Fe/S-signals, with the suppressed oxidation of P700, causes PSI inactivation in *Arabidopsis thaliana*. *Antioxidants* 12: 21.

Gómez, R., Carrillo, N., Morelli, M.P., Tula, S., Shahinnia, F.,

Hajirezaei, M.-R., et al. (2018) Faster photosynthetic induction in tobacco by expressing cyanobacterial flavodiiron proteins in chloroplasts. *Photosynth. Res*. 136: 129-138.

Gerotto, C., Alboresi, A., Meneghesso, A., Jokel, M., Suorsa, M., Aro, E.-M., et al. (2016) Flavodiiron proteins act as safety valve for electrons in Physcomitrella patens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 113: 12322-12327.

Halsey, K.H. and Jones, B.M. (2015) Phytoplankton strategies for photosynthetic energy allocation. *Annu. Rev. Mar. Sci*. 7: 265-297.

Hanke, G.T., Satomi, Y., Shinmura, K., Takao, T. and Hase, T. (2011) A screen for potential ferredoxin electron transfer partners uncovers new, redox dependent interactions. *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteomics* 1814: 366-374.

Hasunuma, T., Matsuda, M., Senga, Y., Aikawa, S., Toyoshima, M., Shimakawa, G., et al. (2014) Overexpression of *flv3* improves photosynthesis in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803 by enhancement of alternative electron flow. *Biotechnol. Biofuels* 7: 493.

Hayashi, R., Shimakawa, G., Shaku, K., Shimizu, S., Akimoto, S., Yamamoto, H., et al. (2014) O_2-dependent large electron flow functioned as an electron sink, replacing the steady-state electron flux in photosynthesis in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803, but not in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942. *Biosci Biotechnol Biochem* 78: 384-393.

Helman, Y., Tchernov, D., Reinhold, L., Shibata, M., Ogawa, T., Schwarz, R., et al. (2003) Genes encoding A-type flavoproteins are essential for photoreduction of O_2 in cyanobacteria. *Curr. Biol*. 13: 230-235.

Helman, Y., Barkan, E., Eisenstadt, D., Luz, B. and Kaplan, A. (2005) Fractionation of the three stable oxygen isotopes by oxygen-producing and oxygen-consuming reactions in photosynthetic organisms. *Plant Physiol*. 138: 2292-2298.

Johnson, G.N. and Stepien, P. (2016) Plastid terminal oxidase as a route to improving plant stress tolerance: Known knowns and known unknowns. *Plant Cell Physiol*. 57: 1387-1396.

Kuntz, M. (2004) Plastid terminal oxidase and its biological significance. Planta 218: 896-899.

Laureau, C., De Paepe, R., Latouche, G., Moreno-Chacón, M., Finazzi, G., Kuntz, M., et al. (2013) Plastid terminal oxidase (PTOX) has the potential to act as a safety valve for excess excitation energy in the alpine plant species Ranunculus glacialis L. *Plant Cell Environ*. 36: 1296-1310.

Lea-Smith, D.J., Ross, N., Zori, M., Bendall, D.S., Dennis, J.S., Scott, S.A., et al. (2013) Thylakoid terminal oxidases are essential for the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 to survive rapidly changing light intensities. *Plant Physiol*. 162: 484-495.

Li, H., Jubelirer, S., Garcia Costas, A.M., Frigaard, N.-U. and Bryant, D.A. (2009) Multiple antioxidant proteins protect *Chlorobaculum tepidum* against oxygen and reactive oxygen species. *Arch. Microbiol*. 191: 853.

Liu, L.-N., Bryan, S.J., Huang, F., Yu, J., Nixon, P.J., Rich, P.R., et al. (2012) Control of electron transport routes through redox-regulated redistribution of respiratory complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 109: 11431-11436.

Maekawa, S., Ohnishi, M., Wada, S., Ifuku, K. and Miyake, C. (2024) Enhanced reduction of ferredoxin in PGR5-deficient mutant of *Arabidopsis thaliana* stimulated ferredoxin-dependent cyclic electron flow around photosystem I. *Int. J. Mol. Sci.* 25: 2677.

Mehler, A.H. (1951) Studies on reactions of illuminated chloroplasts. *Arch. Biochem. Biophys*. 33: 65-77.

Miyake, C. and Asada, K. (1992) Thylakoid-bound ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts and photoreduction of its primary oxidation product monodehydroascorbate radicals in thylakoids. *Plant Cell Physiol*. 33: 541-553.

Miyake, C., Schreiber, U., Hormann, H., Sano, S. and Kozi, A. (1998) The FAD-enzyme monodehydroascorbate radical reductase mediates photoproduction of superoxide radicals in spinach thylakoid membranes. *Plant Cell Physiol.* 39: 821-829.

Miyake, C. (2020) Molecular mechanism of oxidation of P700 and suppression of ros production in photosystem I in response to electron-sink limitations in C_3 plants. *Antioxidants* 9: 230.

Nawrocki, W.J., Tourasse, N.J., Taly, A., Rappaport, F. and Wollman, F.-A. (2015) The plastid terminal oxidase: Its elusive function points to multiple contributions to plastid physiology. *Annu. Rev. Plant Biol.* 66: 49-74.

Ohnishi, M., Maekawa, S., Wada, S., Ifuku, K. and Miyake, C. (2023) Evaluating the oxidation rate of reduced ferredoxin in Arabidopsis thaliana independent of photosynthetic linear electron flow: Plausible activity of ferredoxin-dependent cyclic electron flow around photosystem I. *Int. J. Mol. Sci.* 24: 12145.

Orr, D.J., Alcântara, A., Kapralov, M.V., Andralojc, P.J., Carmo-Silva, E. and Parry, M.A.J. (2016) Surveying Rubisco diversity and temperature response to improve crop photosynthetic efficiency. *Plant Physiol.* 172: 707-717.

Peschek, G.A., Obinger, C. and Paumann, M. (2004) The respiratory chain of blue-green algae (cyanobacteria). *Physiol. Plant.* 120: 358-369.

Romão, C.V., Vicente, J.B., Borges, P.T., Frazão, C. and Teixeira, M. (2016) The dual function of flavodiiron proteins: oxygen and/or nitric oxide reductases. *JBIC, J. Biol. Inorg. Chem.* 21: 39-52.

Sétif, P., Shimakawa, G., Krieger-Liszkay, A. and Miyake, C. (2020) Identification of the electron donor to flavodiiron proteins in *Synechocystis* sp. PCC 6803 by in vivo spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg*. 1861: 148256.

Shimakawa, G., Hasunuma, T., Kondo, A., Matsuda, M., Makino, A. and Miyake, C. (2014) Respiration accumulates Calvin cycle intermediates for the rapid start of photosynthesis in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biosci Biotechnol Biochem* 78: 1997-2007.

Shimakawa, G., Shaku, K., Nishi, A., Hayashi, R., Yamamoto, H., Sakamoto, K., et al. (2015) FLAVODIIRON2 and FLAVODIIRON4 proteins mediate an oxygen-dependent alternative electron flow in *Synechocystis* sp. PCC 6803 under CO_2-limited conditions. *Plant Physiol*. 167: 472-480.

Shimakawa, G., Ishizaki, K., Tsukamoto, S., Tanaka, M., Sejima, T. and Miyake, C. (2017) The liverwort, *Marchantia*, drives alternative electron flow using a flavodiiron protein to protect PSI. *Plant Physiol*. 173: 1636-1647.

Shimakawa, G. and Miyake, C. (2018) Oxidation of P700 ensures robust photosynthesis. *Front. Plant Sci*. 9: 1617.

Shimakawa, G., Murakami, A., Niwa, K., Matsuda, Y., Wada, A. and Miyake, C. (2019) Comparative analysis of strategies to prepare electron sinks in aquatic photoautotrophs. *Photosynth. Res*. 139: 401-411.

Shimakawa, G., Kohara, A. and Miyake, C. (2021) Characterization of light-enhanced respiration in cyanobacteria. *Int. J. Mol. Sci*. 22: 342.

Shimakawa, G., Shoguchi, E., Burlacot, A., Ifuku, K., Che, Y., Kumazawa, M., et al. (2022) Coral symbionts evolved a functional polycistronic flavodiiron gene. *Photosynth. Res*. 151: 113-124.

Shimakawa, G. (2023) Electron transport in cyanobacterial thylakoid membranes: are cyanobacteria simple models for photosynthetic organisms? *J. Exp. Bot.* 74: 3476-3487.

Shimakawa, G. and Matsuda, Y. (2024) Extra O_2 evolution reveals an O_2-independent alternative electron sink in photosynthesis of marine diatoms. *Photosynth. Res*. 159: 61-68.

Strand, D.D. and Kramer, D.M. (2014) Control of non-photochemical exciton quenching by the proton circuit of photosynthesis. In *Non-Photochemical Quenching and Energy Dissipation in Plants, Algae and Cyanobacteria*. Edited by Demmig-Adams, B., Garab, G., Adams Iii, W. and Govindjee pp. 387-408. Springer Netherlands, Dordrecht.

Tcherkez, G. (2016) The mechanism of Rubisco-catalysed oxygenation. Plant Cell Environ. 39: 983-997.

Theune, M.L., Hildebrandt, S., Steffen-Heins, A., Bilger, W., Gutekunst, K. and Appel, J. (2021) In-vivo quantification of electron flow through photosystem I – Cyclic electron transport makes up about 35% in a cyanobacterium. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg*. 1862: 148353.

Trouillard, M., Shahbazi, M., Moyet, L., Rappaport, F., Joliot, P., Kuntz, M., et al. (2012) Kinetic properties and physiological role of the plastoquinone terminal oxidase (PTOX) in a vascular plant. *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg*. 1817: 2140-2148.

Vicente, J.B., Gomes, C.M., Wasserfallen, A. and Teixeira, M. (2002) Module fusion in an A-type flavoprotein from the cyanobacterium Synechocystis condenses a multiple-component pathway in a single polypeptide chain. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 294: 82-87.

Vicente, J.B., Carrondo, M.A., Teixeira, M. and Frazao, C. (2008a) Structural studies on flavodiiron proteins. *Methods Enzymol* 437: 3-19.

Vicente, J.B., Justino, M.C., Goncalves, V.L., Saraiva, L.M. and Teixeira, M. (2008b) Biochemical, spectroscopic, and thermodynamic properties of flavodiiron proteins. *Methods Enzymol* 437: 21-45.

Waring, J., Klenell, M., Bechtold, U., Underwood, G.J.C. and Baker, N.R. (2010) Light-induced responses of oxygen photoreduction, reactive oxygen species production and scavenging in two diatom species. *J. Phycol*. 46: 1206-1217.

Yamori, W. and Shikanai, T. (2016) Physiological functions of cyclic electron transport around photosystem I in sustaining photosynthesis and plant growth. *Annu. Rev. Plant Biol*. 67: 81-106.

Yu, Q., Feilke, K., Krieger-Liszkay, A. and Beyer, P. (2014) Functional and molecular characterization of plastid terminal oxidase from rice (*Oryza sativa*). *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg*. 1837: 1284-1292.