

## 審査の結果の要旨

氏名 仲村 亮正

本論文は、未解明部分の多い光合成分子機構のうち、反応中心近傍に検出される微量色素(PS II のフェオフィチン Phe *a*, PS I のクロロフィル Chl *a*' )の機能, なかでも Chl *a*' (Chl *a* の C13<sup>2</sup> 立体異性体)の分子数・存在部位・生合成経路の解明を目的としたもので, 全六章からなる。

第 1 章では光合成の研究について概説し, 本研究の目的と意義を述べている。

第 2 章では, 微量色素を精密定量するための高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 手法を検討している。抽出条件, 溶離液組成, カラム材質などを詳細に検討した結果, 分子変性を極限まで抑制しつつ Chl *a*' , Phe *a*, PS I の二次電子受容体フィロキノン PhQ を短時間で分離・定量できる逆相 HPLC 条件を確立し, 以後の計測化学的検討の基礎としている。

第 3 章では, 好熱性ラン藻 *Thermosynechococcus elongatus*, ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC6803, 緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii*, ホウレンソウから調製した種々の PS I 標品につき, HPLC 計測による Chl *a*' および PhQ (2 分子 / PS I) の量と, 分光学的計測による反応中心 P700 量との比較から, PS I における Chl *a*' の分子数と存在部位・機能を解明する実験について述べている。

まず, PS I 標品の調整に必須となる界面活性剤処理が P700 の明暗差スペクトルにおよぼす影響を調べ, P700<sup>+</sup> に由来する 800 nm 近辺の吸光係数は界面活性剤の影響を受けないことを明らかにしている。

PhQ・Chl *a*' の同時 HPLC 定量と, 分光学的な P700 定量より, ラン藻 *T. elongatus*, *S. PCC6803* のチラコイド膜および PS I 三量体, ホウレンソウの PS I-LHC I から抽出した色素の HPLC 分析, P700 定量をもとに, Chl *a*' /P700 = 1 という量論比を得ている。*C. reinhardtii* も Chl *a*' /P700 比は約 1 となったが, 副産物として, *C. reinhardtii* の PS I 二次電子受容体が PhQ (従来の定説) ではなく, 極性の高い PhQ 誘導体であることを初めて実証している。

次に, *S. PCC6803* の PS I 三量体, ホウレンソウの PS I-LHC I を界面活性剤処理して周縁タンパク質, アンテナ Chl *a* を大幅に除去した PS I 標品の色素組成を計測し, Chl *a*' /P700 = 1 を得て, PsaA/B 複合体コアが 1 分子の Chl *a*' を持つと結論している。さらには, 凍結乾燥チラコイド膜を水飽和ジエチルエーテルで処理し, アンテナ色素を Chl *a*' /P700 = 10~15 程度まで減らした試料の計測より, やはり Chl *a*' /P700 比が約 1 であることを確認している。

これらは、P700がChl *a*とChl *a'*のヘテロ二量体であるという*T. elongatus* PSI三量体のX線結晶解析結果(Jordanら, 2001年)と完全に一致し、種々の光合成生物のもつPsaAアミノ酸配列の比較から、あらゆる酸素発生型光合成生物のP700が1分子のChl *a'*を含むと推定している。

第4章はChl *a'*の生合成解明に関する。中間段階で生じるC17<sup>3</sup>イソプレノイド側鎖の異なるChl類(側鎖がGG, DHGG, THGG, Pの分子)の分離条件を検討し、Chl *a*, Chl *b*のGG-P誘導体とChl *a'*を分離・検出できる逆相HPLC条件を確立したのち、オオムギ黄化葉の緑化過程における色素組成と絶対量の変化を追跡している。Chl *a'* / Chl *a*比が光照射15分から1時間にかけて増加し、成熟葉中の定常値の約2倍で最大となったのち、アンテナ色素Chl *b*の増加とともに定常値へ向けて漸減するという特徴的な変化を示すことより、Chl *a'*の生合成を初めて実証している。

第5章では、順相HPLCによる光化学系形成過程の追跡から、逆相HPLCでは不明だったPhe *a*の生合成と、Chl *a'*のGG-THGG異性体の有無を検討した。Phe *a*, Chl *a'*, Pchl, Chl *a*のイソプレノイド異性体(計16種類)を短時間に分離できるHPLC条件を確立し、短時間光照射した黄化葉の色素組成計測により、Chl *a'*, Phe *a*のGG-THGG異性体を初めて検出している。Chl *a'*のGG-P異性体存在比はChl *a*とほぼ同じだが、Phe *a*のGG-P異性体存在比がChl *a*とは異なることをもとに、Phe *a*とChl *a'*の生合成経路につき論じている。

第6章では以上の結果を総括し、今後の展望を述べている。

以上要するに本研究は、天然の高効率光エネルギー変換系である光合成の分子メカニズムに関し、高性能の計測化学的手法開発を基礎に、反応中心近傍における微量色素の存在サイトと機能の解明を格段に進めたものであり、計測化学、生体機能化学、植物生理学の進展に資するところが大きい。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。