

論文審査の結果の要旨

氏名 樋口美栄子

本論文においては、光合成の電子伝達反応の生理的な意義を探るため、モデル植物であるシロイヌナズナの変異株4種が単離され、その解析が行なわれた。光合成反応では、水の分解にはじまり NADPH が生成される linear な電子伝達の他に、alternative な電子伝達経路の存在が古くから知られている。この alternative な経路は、光化学系で吸収した光エネルギーが光合成反応で消費できる量を上回ったときなどに過剰なエネルギーの受け皿として働くと考えられているが、高等植物において alternative 電子伝達に関する変異体は光化学系 I の循環的電子伝達に欠損を示す変異体が報告されているのみで生理学的意義についても不明な点が多い。そこで本研究においては、シロイヌナズナを用いて、alternative 電子伝達に欠損を示す変異体を取得し表現型の解析を行なった。16,000 個体のシロイヌナズナの芽生えをスクリーニングし、野生型と異なるクロロフィル蛍光挙動を示す候補株を 26 個体単離した。二次スクリーニングにおいて、パルス変調蛍光測定により熱的消去過程に欠損を示す 4 個体 (36-2-20、37-19-7、22-18-21、38-14-15) を選抜し、さらなる解析に供した。

37-19-7 変異体は強光照射による熱的消去が定常状態において低下していた。マップベースクローニング法により変異部位を決定したところ、37-19-7 変異体は PGR5 という光化学系 I の循環的電子伝達に関与するタンパク質をコードする遺伝子に 1 塩基置換が生じており、125 番目のアスパラギンがリシンに置換していることが明らかとなった。光化学系 I 循環的電子伝達にはフェレドキシンを電子供与体とする FQR (Ferredoxin quinone reductase) と呼ばれる経路と NADPH を電子供与体とする NDH (NAD(P)H dehydrogenase) の経路が存在することが知られている。pgr5 は FQR の経路に欠損を示す変異体として報告されており、今回用いたスクリーニング系により alternative 電子伝達に関する変異体を取得できることが示された。

36-2-20 変異体は通常条件では光合成状態に大きな変化は見られなかった。しかし、酸素フリーの条件で野生型との違いが認められることから、酸素が関与する経路は正常である可能性が高く、36-2-20 変異体では alternative な電子伝達、おそらく光化学系 I の循環的電子伝達に影響があることが示唆された。36-2-20 変異体は HMA1 と呼ばれる重金属イオンのトランスポーターと相同性が高い遺伝子に変異が導入されていた。金属イオンへの感受性を調べた結果から、36-2-20 変異体では光化学系 I 循環的電子伝達に関与する鉄を補因子とする未知の因子、もしくは鉄硫黄センターを持つ光化学系 I やシトクロム *b₆f* 複合体への影響のため、光化学系 I の循環的電子伝達が阻害されていると考えられる。

22-18-21 変異体は強光照射初期の熱的消去は野生型と変わらないが、高い熱的消去能を維持できず、照射時間が長くなるにつれ熱的消去が減少した。光化学系 I 反応中心の P700 の変化を観察した結果から 22-18-21 変異体は光化学系 I 循環的電子伝達の NDH の経路に欠損があると考えられる。マップベースクローニング法により 22-18-21 変異体の原因遺伝子は 1 番染色体上にあることが確認された。

38-14-15 変異体は通常大気条件で励起光照射初期の熱的消去が非常に強く誘導されていた。気相を変えて光合成を測定した結果から 38-14-15 変異体は光呼吸の経路に欠損があることが示唆された。また、38-14-15 変異体はより低い光強度で光合成電子伝達速度が飽和し、強光下での光合成に欠損が生じるこ

とがわかった。このことから、光呼吸は強光時において重要な役割を持つと考えられる。

以上の変異体の解析結果から、系 I 循環的電子伝達の 2 つの経路は、生育条件によって使い分けられていること、亜鉛の排出が、鉄イオンのホメオスタシスを通して循環的電子伝達に影響を及ぼすこと、光呼吸の阻害が、生育の阻害を引き起こすことなどが明らかとなった。

なお、本論文は、主査である園池公毅との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および解析を行なったもので、論文提出者の寄与が充分であると判断する。

従って、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。