

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 桜井 勇

光合成の初期反応は、ラン藻や植物の葉緑体のチラコイド膜でおこり、光エネルギーは生物が利用できる化学エネルギーへと変換される。この光エネルギー変換反応を担う光合成装置は、いくつかの超分子複合体により構成される。光合成装置の構造や電子伝達の機構については、これまでの多くの研究から、その詳細が明らかにされつつある。しかしながら、光合成装置に結合している脂質の機能については不明な点が多く、その解明が待たれている。そこで、本論文提出者は、チラコイド膜に唯一のリン脂質として存在するホスファチジルグリセロール (PG) に着目し研究を行った。従来の PG の機能に関する研究は、単離したチラコイド膜をホスホリパーゼで処理するなど、煩雑な操作を伴う解析手法が用いられていた。そのため、そのような解析から得られた知見が *in vivo* における PG の機能を反映しているのかについては疑問が残されていた。このような問題点を克服するために、本論文提出者は、PG の合成能を欠損するラン藻 *Synechocystis* sp. PCC6803 の *pgsA* 変異株 (以下、変異株と略) を解析に用いた。変異株は、PG を含む培地では野生株と同様に生育するが、PG を含まない培地に移すと、細胞分裂にともなって PG 含量が低下し、いずれ増殖を停止する。しかし、PG を培地に再添加すると、細胞は増殖を再開する。このように、変異株では、生細胞のままチラコイド膜における PG 含量を制御することができるため、これまで *in vitro* に限られていた解析手法を大きく発展させることが可能となった。本論文提出者は、このような変異株の長所を生かし、PG が光合成の初期反応、特に光化学系 II 複合体 (PSII 複合体) において果たしている機能について解析を行った。

本論文提出者は、PG を含む培地で培養した変異株を PG の含まれない培地に移すと、光感受性が増加し、光強度条件下では、著しい生育阻害が引き起こされることを見出した。この生育阻害が、光合成の光阻害に起因するものと推測し、PG と光阻害の関係について解析した。PG を含まない培地で培養し、PG 含量が低下した変異株に強光照射を施すと、光合成活性が速やかに低下した。これに対して、PG を添加すると活性は低下せず、PG が強光条件において、光合成装置の活性維持に重要であることが示された。続いて、PG が光合成装置の失活と修復のいずれの過程に重要であるかを検討した。強光条件に移す際、リンコマイシンにより光合成装置の修復に重要となる新規タンパク質の合成を阻害した場合には、光合成活性は PG の有無にかかわらず大きく低下した。また、強光照射を施し、活性が低下した変異株を弱光下に移した際には、PG の添加により活性の回復が大きく促進され、PG は光合成装置の修復を促進するために重要であることが明らかとなった。これまでの研究において、光合成の光阻害はおもに PSII の機能低下

に起因し、また、ダメージを受けた PSII 反応中心 D1 タンパク質の速やかな取り替えによって修復されることが報告されている。そこで、変異株において D1 タンパク質のターンオーバーを分析したが、変異株においても D1 タンパク質は、野生株と同様に合成、分解されており、また、複合体へのアセンブリーも正常に行われていた。しかしながら、PG 含量の低下した変異株では、強光条件下において、PSII 複合体の単量体が蓄積することが観察された。また、PG の再添加による光合成活性の回復に伴い、二量体の形成が促進することも観察された。これらの結果は、PG が PSII 複合体の二量体化を促進することで、光合成装置の修復に寄与することを示している。続いて、野生株および PG 含量が低下した変異株から PSII 複合体の単量体と二量体を精製し、各複合体の性質を比較することにより、PSII 複合体の形成に果たす PG の機能を詳細に解析した。変異株より精製した PSII 複合体の単量体、二量体の光合成活性は、野生株の 40% であり、また、野生株、変異株いずれにおいても二量体は単量体の 3 倍ほどの活性を有していた。タンパク質サブユニット組成を調べたところ、変異株の PSII 複合体からは、PsbO、PsbV、PsbU、PsbQ、Psb27 といった Mn クラスターの安定化に寄与する、表在性タンパク質が複合体から解離しており、活性低下の原因となっていることが考えられた。また、PG 含量が低下した変異株において、複合体から解離していた PsbO が、PG の再添加によって PSII 複合体に再結合したことから、PG は PsbO の結合に重要であることが示された。変異株において Mn クラスターの構築に異常が生じている可能性を考え、複合体に結合する Mn 量を定量したところ、活性型と考えられる PSII 複合体の二量体について、変異株の Mn 量は、野生株に比較して 75% 程度であった。これらのことから、変異株においては、PG 含量の低下によって表在性タンパク質が複合体から解離し、Mn クラスターを安定に維持することができないために光合成活性が低下することが示された。以上のように、本論文提出者は、PG が表在性タンパク質の結合という、PSII 複合体形成の重要なステップに必要であることを明らかにした。

本博士論文の研究内容は、これまで未解明であったチラコイド膜脂質の機能を分子レベルで解析し、光合成装置の形成における脂質の重要性を明らかにした点で優れており、光合成の研究分野に貴重な知見を提供するものである。したがって、本審査委員会は、博士(学術)の学位を授与するにふさわしいと認定する。