

## 論文審査の結果の要旨

近藤 久益子

本論文「Functional analysis of two types of phycobilisome in *Synechocystis* sp. PCC 6803」(シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 における二種類の集光超分子複合体フィコビリソームの機能解析)は、4章構成である。第1章では、2つ目の *cpcG* 遺伝子(*cpcG2*)のフィコビリソーム形成における役割を解析、第2章では、CpcG2 タンパク質の膜結合性と光化学系1の集光装置としての役割の解析、第3章では、CpcG2 タンパク質と光化学系1複合体相互作用の解析、第4章では、CpcG1 フィコビリソームと CpcG2 フィコビリソームのステート遷移における役割の解析を行ない、研究成果をまとめて報告している。

フィコビリソームはシアノバクテリアや紅藻、灰色藻の光合成における光捕集の役割を果たすタンパク質の巨大複合体であり、アロフィコシアニンが会合したシリンダー複合体を積み重ねた中心のコア領域に、フィコシアニンが会合した周辺のロッドが6~8本つながって形成されている。このフィコビリソームは種によって基本構造や構成成分が異なる多様な構造体で、しかも栄養飢餓や光環境の変化に応じてその構成を変化させるダイナミックな側面も持っている。このとき CpcG タンパク質はロッドの近位末端に結合するリンカータンパク質であり、フィコビリソームの構造形成の多様化にかかわる因子であるが、これまで環境応答という観点では研究されていない。本研究では、シアノバクテリアのモデル生物である *Synechocystis* sp. PCC 6803 を用いてゲノム解析で新規に見つかった *cpcG2* 遺伝子の機能解析を通してフィコビリソームの新たな機能を明らかにしている。

第1章では、*cpcG1* 破壊株、*cpcG2* 破壊株と二重破壊株からフィコビリソームを単離した。その結果、CpcG1 のみを含むフィコビリソーム(CpcG1

フィコビリソームと略)は野生株の主要なフィコビリソームと同一であること、**CpcG2**のみを含むフィコビリソーム(**CpcG2** フィコビリソームと略)はアロフィコシアニンからなる中心コア領域を含まないロッドだけの会合体であることが明らかになった。また、二重破壊株ではロッドなどの会合体は単離されず、解体したと考えられる。また、**CpcG2** フィコビリソームはフィコシアニンのみを含むにもかかわらず、低温で **668nm** の蛍光を出す特異な複合体であった。これらの結果からコアとロッドからなる従来型フィコビリソームは **CpcG1** フィコビリソームに相当し、これとは全く別の特異な複合体として **CpcG2** フィコビリソームが存在することが強く示唆された。

第2章では、各破壊株の細胞での低温蛍光スペクトルから、フィコシアニンから光化学系2、光化学系1へのエネルギー転移率を推定した。この転移率と破壊株での異なる光化学系1/光化学系2による補正を行った。こうして得たフィコシアニンから光化学系1への転移率と光化学系2への転移効率の比率は **cpcG1** 破壊株では **cpcG2** 破壊株と比べて約3倍高かった。また、**cpcG1** 破壊では光化学系1/光化学系2の比が野生株より減少(約0.5倍)、**cpcG2** 破壊株では約1.5倍に増大していた。これらは **CpcG1** フィコビリソームが光化学系2へ、**CpcG2** フィコビリソームが光化学系1へエネルギーを転移しているという仮定と一致している。また、フィコビリソームの構造を安定に保つ0.7Mリン酸緩衝液中でチラコイド膜を単離すると、**CpcG1** フィコビリソームの約半分は遊離するにもかかわらず、**CpcG2** フィコビリソームのほとんどは膜結合性であった。これらの特徴は **CpcG2** フィコビリソームがチラコイド膜もしくは光化学系1などと直接の相互作用する可能性を示している。

第3章では、これに対応して、フィコビリソームのタンパク質と光化学系の相互作用の生化学的検出を試みた。フィコビリソームの構造が安定な高イオン強度緩衝液に界面活性剤を添加して光化学系複合体を可溶化すると、両方の光化学系は単量体になってしまった。一方、低イオン強度溶液ではフィコビリソームの構造は解体したが、光化学系複合体は本来の構造を保っていた。この条件で、**CpcG2** の大半は軽い画分に回収されたが、一部は光化学系1の三量体画分に回収された。一方、**CpcG1** はこれよりも軽い画分に回収されていた。以上の結果は、**CpcG2** が特異的に光化学系1複合体に結合していることを示唆している。

第4章では、ステート遷移における役割を各破壊株を用いて解析した。

ステート遷移は2つの光化学系間の励起バランスを短時間で調整する現象で、遺伝子発現を伴わず、集光装置の再配置によって起こる。シアノバクテリアではフィコビリソームがステート遷移の主要な集光装置なので、2つのフィコビリソームに違いがあるかどうか変異株を用いて検証した。生細胞の光化学系2の蛍光をパルス励起光でモニターする測定条件で、光化学系1を励起する光(光化学系1光)をしばらく照射してステート1への遷移を完了させ、その後、光化学系1光を消すと、野生株や *cpcG2* 破壊株からは環状電子伝達の詰まりに対応する一時的な蛍光の増大がみられた。一方、*cpcG1* 破壊株や二重変異株ではみられなかった。また、生細胞に DCMU を添加してプラストキノンの光還元を阻害した条件で、光照射して光化学系1によるプラストキノンの酸化に対応するステート遷移をモニターしたところ、半減期 20 秒以上の遅い遷移成分が *cpcG1* 破壊株および二重破壊株で大きく減少していた。これらの結果は光または光+阻害剤で引き起こされるステート遷移の主要な部分に *CpcG1* フィコビリソームが関与しており、*CpcG2* はかかわっていないことを示唆している。また、FRAP(Fluorescence recovery after photobleaching)解析は、どちらの破壊株も野生株同様にフィコビリソームの移動が起こることを示唆している。これは、フィコビリソームの移動性だけでなく、*CpcG1* フィコビリソームのコア領域などがステート遷移に必要なことを示唆している。

なお、本論文の第1章は、耿暁星、片山光徳、池内昌彦との共同研究、第2章は落合有里子、片山光徳、池内昌彦との共同研究である。しかし、どちらの場合も論文提出者が主体となって研究の立案、遂行を行っており、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、本審査委員会は博士(理学)の学位を授与するにふさわしいものと認定した。