論文審査の結果の要旨

広瀬 侑

本論文「Biochemical and physiological analysis of cyanobacterial chromatic acclimation sensors」(シアノバクテリアの補色順化を制御する光受容体の生化学・生理学的解析)は、3章構成である。第1章では Synechocystis sp. PCC 6803のフィコビリソームの発現を調節する光応答系を解明、第2章では、グループ2型の補色順化を示す Nostoc punctiforme の光応答系を解明、第3章では、グループ3型の補色順化を示す Fremyella diplosiphon の光受容体 FdRcaE の分光特性および発色の新規分子機構を解明し、これらをまとめることで補色順化の全貌を明らかにしている。

酸素発生型光合成を行う原核生物シアノバクテリアは集光装置として 多様なフィコビリソームをもち、光環境に応じてさまざまな調節のしくみが知られている。中でも、補色順化は、赤色光培養でフィコシアニンを蓄積して細胞が青緑色を呈し、緑色光培養でフィコエリスリンを蓄積して細胞が赤色を呈する非常に興味深い現象として100年以上前から注目されてきた。近年、その光応答系の遺伝子が一部推定されていたが、光受容体としての実体はまったく不明であった。

第1章では、Synechocystis sp. PCC 6803 のフィコビリソームの発現を調節する光応答系を解明した。Synechocystis はフィコエリスリンをもたないが、光質応答を示すこととその光受容体遺伝子が従来の研究で推定されていた。本研究では、この遺伝子 SyccaS を大腸菌とシアノバクテリアで発現精製し、SyCcaS タンパク質が色素フィコシアノビリンを共有結合し、672 nm の赤色光を吸収する Pr型と 535 nm の緑色光を吸収する Pg 型が可逆的に光変換できるまったく新しい光受容体であることを実証した。さらに、SyCcaS タンパク質は緑色光照射で促進される自己リン酸化活性をもつ緑色光受容体であること、そのリン酸基を転写因子 SyCcaR に転移することを見出した。

第2章では、グループ2型の補色順化を示す Nostoc punctiforme の光応

答系を解明した。このグループはフィコエリスリンをもち、補色順化を示すことが知られていた。この生物の ccaS と ccaR ホモログ遺伝子を破壊して、赤色光照射で減少し、緑色光照射で誘導されるフィコエリスリンの蓄積およびその遺伝子の発現誘導が破壊株で消失することを実証した。また、光受容体の遺伝子破壊株は補色順化の中間の表現型を示し、NpCcaS が緑色光でリン酸化を促進するだけでなく、赤色光で脱リン酸化を促進するデュアルセンサーであることを実証した。

第3章では、典型的なグループ3型の補色順化を示す Fremyella diplosiphonの光受容体 FdRcaEの分光特性および発色の新規分子機構を解明した。この生物で推定されていた光受容体候補遺伝子 FdrcaE を大腸菌で発現精製することで、上記の SyCcaS や NpCcaS とよく似た分光特性をもつ光受容体であることを実証した。しかし、自己リン酸化活性の測定によって、CcaS とは反対に、赤色光照射で活性化される赤色光受容体であることを示した。さらに FdRcaE の発色が外液の pH に依存することを見出し、その pH 依存性と各種の部位特異変異導入体を解析した。これによって、色素分子のコンフィグレーションとは別にプロトン化によって赤吸収型になり、脱プロトン化によって緑吸収型に変換されることと、このような変換にリジン 261、アスパラギン酸 217、ロイシン 249が重要な役割を果たしていることを明らかにした。

なお、本論文の第1章は、嶋田崇、成川礼、片山光徳、池内昌彦との 共同研究、第2章は成川礼、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した。

以上の結果は、これまでよく研究されていた植物や細菌のフィトクロムとは全く異なる光応答性をもつ光受容体一群を解明し、そのプロトン化・脱プロトン化が発色のしくみであることを初めて実証したものとして、高い評価を受けた。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。