

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名：渡邊麻衣

光合成の明反応を行う光化学系複合体は光エネルギーの吸収と伝達、電荷分離と電子伝達という高度に組織化された色素と膜タンパク質からなる複雑なシステムである。その構造は近年の結晶構造解析により明らかになってきたが、その一方で、チラコイド膜内でこれらが超構造をとっていることも示唆されてきた。しかし、膜タンパク質の超構造の詳細な研究は少なく、普遍性や進化、機能との関連などわかっていないことが多い。本研究では、このような問題意識をもって、超構造の解析法の改良を含めて網羅的に研究した。論文の第1章では、好熱性シアノバクテリアの光化学系複合体をブルーネイティブ・ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で解析し、光化学系Ⅱ複合体の超構造を明らかにし、第2章では、この手法を多くの種類に適用し、光化学系Ⅰ複合体の四量体構造を発見し、第3層では窒素固定型シアノバクテリアの光化学系Ⅰとフィコビリソームの超複合体を単離同定した。研究の詳細は以下の通りである。

第1章では、光化学系Ⅰ、系Ⅱ複合体の結晶構造がすでに決定されている好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongates* BP-1 を用いて、ブルーネイティブ・ポリアクリルアミドゲル電気泳動法の手法と光化学系複合体の超構造を検討した。界面活性剤ドデシルマルトシドの濃度にかかわらず、系Ⅰはすべて3量体であったが、系Ⅱは低濃度で単量体が多く、高濃度で二量体が増加するという予想外の傾向を見出した。また、結晶構造の二量体境界面に存在する PsbTc や PsbM サブユニットの遺伝子破壊株を解析し、単量体の増加を確認した。これは、二量体が本来の構造であることを示唆している。結晶構造によれば、脂質とともに界面活性剤もタンパク質の表面の凹所にはまり込んでいる。そのため、高濃度では分子サイズが小さい界面活性剤が脂質を置換して二量体を安定化することが考えられる。つまり、可溶化する際に単量体もしくは二量体として単離されたが、本来の光化学系Ⅱ複合体はゆるい二量体構造をとっているというまったく新しい超構造を提案した。このような系Ⅱの超構造は、ダイナミックな光損傷と修復サイクルと関係があるかもしれない。

第2章では、前章で確立したブルーネイティブ・ポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いて、他のシアノバクテリアや真核藻類の光化学系複合体の超構造を解析した。窒素固定型シアノバクテリア *Anabaena* sp. PCC 7120 と灰色藻 *Cyanophora paradoxa* NIES-39 は光化学系Ⅰが四量体と二量体に分離され、多くのシアノバクテリアで知られている三量体構造をとらないことが示された。この四量体は、共同研究で単粒子解析によって、二量体が2個つながった環状の超構造であることが示された。また、原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* 10D の系Ⅰは光捕集クロロフィル複合体と結合した2種類の単量体を形成しており、二量体も少量確認された。これは光捕集クロロフィル複合体との結合が系Ⅰ四量体を不安定化したことを示唆しており、藻類の光化学系Ⅰ超構造としては、*Anabaena* と似た四量体を基盤として進化してきたと推測される。一方、光化学系Ⅱ複合体は、*Anabaena*、*Synechocystis*、*Cyanophora*、*Cyanidioschyzon* のどの場合も、界面活性剤の濃度が高いとき、二量体構造が安定化されることを明らかにした。これは、光化学系複合体のゆるい二量体構造が普遍的なものであることを強く示唆している。

第3章では、前章で分離した *Anabaena* の系 I 四量体を溶液中で単離するため、シヨ糖密度勾配遠心法を検討した。膜タンパク質分離で通常用いられる濃度よりはるかに低い濃度（ドデシルマルトシド 0.01%）にて、四量体のバンドの下にさらに大きな超複合体が得られた。そのタンパク質を分析し、系 I のほぼすべてのサブユニットとともに、フィコビリソーム形成する CpcB、CpcA、CpcG3（CpcL と改名）、CpcC が検出された。このうち CpcB、CpcA、CpcC はフィコビリソームのロッド部分を構成する成分として知られていたが、CpcL はこれまで報告されたロッドとコアからなる典型的なフィコビリソームの画分には存在せず、今回初めて発見された。CpcL の C 末は疎水性領域が存在するので、この領域で系 I の電子受容側に特異的に結合していると推定される。この超複合体に含まれるフィコビル色素を励起して系 I のクロロフィルへのエネルギー移動を確認した。また、*Anabaena* は窒素固定条件でおもに系 I をもったヘテロシストを分化するので、ヘテロシストと栄養細胞を分離した。その結果、ヘテロシストには CpcL が濃縮されていることがウェスタン解析で示された。窒素固定に必要な ATP は系 I のまわりの環状電子伝達によって供給されると考えられるので、系 I に CpcL を結合したフィコビリソームのロッド部分が特異的なアンテナとしてはたらいっていることが期待される。

以上、本研究は光化学系 II 複合体が特殊なゆるい二量体構造を普遍的に形成していること、*Anabaena* や灰色藻の光化学系 I 複合体が四量体構造をとること、さらに *Anabaena* ではこの光化学系 I 複合体四量体と CpcL を結合したフィコビリソームが超複合体を形成し、とくにヘテロシストに濃縮されていることを明確に示した。これらの結果は、これまで見逃されてきた光合成の光化学系複合体の超構造の実体と生理的意義を示唆するものとして、光合成の基礎研究と応用研究の両面で大きな貢献をするものと認められる。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ものと認定する。