

(第6号様式)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	中村 誠
審査委員	主査 杉浦 美羽 副査 宇野 英満 副査 朝日 剛 副査 倉本 誠

論文名

光化学系 II における副次的電子移動経路および P_{680} の構造と機能制御に関する研究

審査結果の要旨

本論文は、遺伝子組換えによって光化学系 II に部位特異的に分子構造を変化させた好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* を作製し、その構造変化がもたらす光合成機能を分光学的、熱力学的、および、生化学的な測定や解析を通して、多角的な見地より光化学系 II の副次的電子移動経路、および、光合成の初発反応を担う P_{680} について調べた研究成果をまとめたものである。

光化学系 II は 20 サブユニットタンパク質と 80 分子以上のコファクターが結合した超複合体で、太陽光エネルギーを生体エネルギーに変換する光合成電子伝達系の初発の反応を担う。光が照射されると P_{680} が励起された後、電荷分離されて P_{680}^+ になる。 P_{680}^+ は水の酸化過程で生じた電子を受容して P_{680} に戻るが、光ストレス条件下では $^3P_{680}$ になり、基底状態に戻る際に 1O_2 を生成して光合成機能を阻害する。この光阻害防御機構として、 $Cytb_{559}$ からクロロフィルや β カロテンなどを介する P_{680} への副次的電子移動経路が提唱されている。 $Cytb_{559}$ は光合成電子伝達系から副次的電子伝達系につながると推測できるが、実験的に証明されていない。更に、副次的電子伝達系の最終電子受容体で、かつ、光励起・電荷分離を担う P_{680} は総称であり、励起、電荷分離する分子の特定という基本的な理解がなされていない。そこで中村氏は、 $Cytb_{559}$ のレドックスと光阻害の関係を調べるために、 $Cytb_{559}$ のヘム鉄のリガンドやヘム周辺のアミノ酸を別のアミノ酸に置換した光化学系 II を作製し、これらの機能を詳細に解析して比較している。酸化還元差スペクトル測定から、野生型と Y19F 変異体の $Cytb_{559}$ のレドックスが高ポテンシャル型 (約 +390 mV vs. SHE) であるのに対し、T26P 変異体は低ポテンシャル型 (約 0 mV) であることを示している。一方、リガンド変異体 H23A と H23M は酸化還元不活性であり、ヘムを欠損していることを明らかにしている。更に、光阻害を起こす強光照射下において、H23M 変異体は野生型よりも速く水の酸化活性が低下し、 1O_2 が野生型よりも H23M で多く発生することを見出し、 $Cytb_{559}$ が光合成電子伝達系から副次的電子伝達系をつなぐ分子であることを初めて明らかにしている。また、副次的電子移動に関わるクロロフィル分子を同定するために、 Chl_{ZD1} および Chl_{ZD2}

のリガンドアミノ酸を His の N 原子から Gln の O 原子に置換した 2 つの組換え体を用いて、光酸化される Chl_Z 分子の同定を行い、120 K での光照射と可視—近赤外光領域の吸収スペクトル測定から、Chl_{ZD1} が副次的電子伝達系で光酸化されるコファクター分子であることを突きとめている。

次に中村氏は、P₆₈₀中の光励起と電荷分離を起こす分子を特定するために、P₆₈₀クロロフィルの非対称な分子構造に着目し、Chl_{D1}と結合距離にあるアミノ酸 (Thr) を「一般的クロロフィルリガンド型 (His)」および「Chl_{D2}と対称型 (Ile)」になるように置換した組換え体を作製し、77 Kでのlight minus dark差吸収スペクトルや熱力学的解析を行っている。その結果、4分子のクロロフィルのChl_{D1}が光励起される分子であること、電荷分離によってまずChl_{D1}が正電荷を帯びた後に正電荷がP_{D1}とP_{D2}に移動して4対1で分布することを初めて解明している。また、Chl_{D1}のリガンドを通常のクロロフィルと同じにした場合、³P₆₈₀のエネルギーレベルが変化して強く光阻害を受けることを示し、P₆₈₀の非対称で特殊なリガンドの分子構造が、光合成の要の反応である光励起と電荷分離、更には光阻害防御に重要な³P₆₈₀のエネルギー状態を制御するうえで、非常に重要な因子であることを明らかにしている。

以上のように、中村氏は光合成の初発反応である光励起、電荷分離されるP₆₈₀クロロフィル分子の同定と反応、および、光阻害防御機構として働く副次的電子移動経路に関わるコファクター分子の同定など、光化学系IIの構造と機能に関して重要な知見を与えており、光合成研究分野における貢献度は大きい。

中村氏は、提出された学位論文の研究成果の一部を査読付きの国際誌に3編公表している。本論文の公聴会を平成31年2月22日に愛媛大学総合研究棟1の4階会議室にて開催し、論文発表と質疑応答が行われた。発表および質疑に対する応答は明快かつ的確で、中村氏が高い学識、専門的知識および実験技術を有することを確認した。公聴会後に学位論文審査委員会を開いて審議を行った結果、本論文は理工学研究科の定める学位審査基準を満たしており、博士(理学)の学位を授与するに値する内容であると判定した。