

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	杉本 和彦
論文題目	アンチマイシンAで阻害されるサイクリック電子伝達系に必須なPGR5タンパク質の機能解析		
(論文内容の要旨)			
<p>アンチマイシンAは、シロイヌナズナなどの高等植物で、PGR5タンパク質に依存するサイクリック電子伝達を阻害するが、その阻害部位は不明であった。テーダマツ (<i>Pinus taeda</i>) のPGR5遺伝子を過剰発現させたシロイヌナズナは、破裂葉緑体におけるフェレドキシン依存のプラストキノン還元活性がアンチマイシンA耐性であることを明らかにした。この活性は、葉でのサイクリック電子伝達を反映するものである。また生葉においても、光合成電子伝達は、アンチマイシンAによる阻害を受けなかった。シロイヌナズナのPGR5とテーダマツのPGR5の間で異なる8アミノ酸のうち、アンチマイシンA耐性を付与する残基を決定する目的で、それぞれの遺伝子を基に1アミノ酸置換を引き起こす変異を導入し、その変異遺伝子をシロイヌナズナ <i>pgr5</i> 変異株に導入した。その結果、成熟型タンパク質の3番目のアミノ酸がリジンであるとアンチマイシンA耐性、一方でバリンであると感受性を示すことが明らかになった。破裂葉緑体において、アンチマイシンA耐性はテーダマツPGR5タンパク質の蓄積量に依存した。対照的に、生葉における光合成では、テーダマツPGR5または3番目のアミノ酸をリジンに置換したシロイヌナズナPGR5において、内在性のPGR5と同等の蓄積レベルで完全なアンチマイシンA耐性を示した。これらの結果は、サイクリック電子伝達の部分的な回復が光合成におけるレドックス恒常性を維持するのに十分であることを示している。以上の結果から、アンチマイシンAはPGR5またはPGR5近傍に位置するタンパク質の機能を阻害すると考えられる。</p> <p>また破裂葉緑体において、大腸菌で発現させた組換え体PGR5タンパク質は、<i>pgr5</i> から単離した破裂葉緑体においてサイクリック電子伝達を再構成した。さらに、PGR5と相互作用し、サイクリック電子伝達を触媒することが示唆されているPGRL1を欠損する <i>pgr11</i> 変異株においても、この電子伝達活性を相補した。<i>pgr11</i> 変異株では、PGRL1に加えて、PGR5も不安定化する。これらの結果は、<i>pgr5</i> と <i>pgr11</i> における、サイクリック電子伝達欠損の原因が、PGR5タンパク質の欠損によるものであり、PGRL1タンパク質は活性に必須ではない可能性を示唆している。</p> <p>以上の結果から、PGR5タンパク質に依存するサイクリック電子伝達は、古くに発見されたアンチマイシンA耐性のサイクリック電子伝達と同一のものであることが明らかになった。さらにアンチマイシンAは、未同定のタンパク質を含むと考えられるPGR5タンパク質を含むタンパク質複合体の機能を阻害することが示唆された。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

杉本和彦氏が研究したサイクリック電子伝達は、半世紀以上前に発見された。近年、シロイヌナズナにおいて突然変異株が単離されたことで、高等植物での生理的な重要性が理解されるに至った。しかし、その電子伝達を触媒する装置に関しては、PGR5とPGRL1タンパク質が関わること以外は、充分理解されていない。発見当時から、サイクリック電子伝達は、アンチマイシンAによって阻害されることが知られている。しかしアンチマイシンAの阻害部位は知られておらず、その解明は、電子伝達経路の特定の鍵となると考えられてきた。

杉本氏は、テーダマツ由来のPGR5タンパク質遺伝子が、シロイヌナズナにおいてアンチマイシンA耐性を付与することを発見した。さらに、シロイヌナズナとテーダマツのPGR5タンパク質の間で違いのある8つのアミノ酸残基を入れ換え、成熟型PGR5タンパク質の3番目のアミノ酸がリジンであるときにアンチマイシンA耐性、バリンであるときに感受性になることを明らかにした。その際、破裂葉緑体を用いたサイクリック電子伝達測定に加えて、生葉にアンチマイシンAを処理し、光合成に対する影響を評価する系を確立した。このことは、アンチマイシンAが、PGR5タンパク質、あるいは、PGR5タンパク質の近傍に位置するタンパク質の機能を阻害することを示唆している。したがって、長らく実体のわからなかったアンチマイシンA感受性のサイクリック電子伝達は、PGR5依存の電子伝達と同一であることを示しており、当該分野で特筆できる重要な成果である。

さらに杉本氏は、大腸菌で発現させた組換えPGR5タンパク質を*pgr5*変異株から単離した破裂葉緑体に加えて、フェレドキシン依存プラストキノ還元を再構成する系を確立した。予想外なことに、組換えPGR5タンパク質は、*pgr11*変異株のプラストキノ還元も再構成した。この結果は、フェレドキシン依存のプラストキノ還元にはPGRL1タンパク質が必要でないことを示唆している。近年、PGRL1タンパク質がプラストキノンへの電子伝達を触媒するモデルが提唱されたが、杉本氏の発見は、このモデルに矛盾し、さらなる因子の存在を示唆する重要なものである。

本研究は、アンチマイシンA感受性のサイクリック電子伝達の実体がPGR5依存の電子伝達であり、またアンチマイシンAの阻害部位が、PGR5かその近傍に位置するタンパク質であることを示しており、当該分野の研究分野の長い議論に終止符を打つものとして高く評価された。また、電子伝達を触媒する未知のタンパク質の存在を示唆するものであり、今後の研究に新しい視点を与えるものである。本論文の内容の一部は、植物科学の有力国際学術誌の一つである*Plant Cell Physiology*誌に掲載された。杉本和彦氏が実施した研究の質は高く、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成26年1月30日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った。その結果合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降