

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 理学 )	氏名	加藤 義宣
論文題目	葉緑体 NDH-PSI 超複合体構造の獲得と形成過程の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>葉緑体NDH複合体は、光合成においてATPを生産するサイクリック電子伝達を触媒し、光化学系 I (PSI) とNDH-PSI超複合体を形成する。その際、集光タンパク質に由来するLhca5とLhca6がリンカーとして機能する。また、この超複合体形成は、NDH複合体の安定化に必須である。加藤氏は、超複合体の形成が陸上植物の進化のなかで獲得される過程を追跡し、また超複合体の構造とアセンブリ過程の研究から、超複合体形成に必要なとなった分子進化を明らかにした。</p> <p>論文は3章から成る。第1章では、鮮類ヒメツリガネゴケにおけるNDH-PSI超複合体を解析した。被子植物であるシロイヌナズナでは、NDH複合体は、Lhca5とLhca6を介して、NDH複合体の両側にそれぞれ1コピーのPSIを結合している。一方、苔類ゼニゴケでは、NDHはPSIと結合せず、単体として存在している。ヒメツリガネゴケのゲノムには、Lhca5がコードされている。加藤氏は、ヒメツリガネゴケにおいてNDH複合体がLhca5を介して1コピーのPSIと結合していることを証明し、またその超複合体形成により、NDH複合体が強光下で安定化されることを示した。</p> <p>第2章では、large-pore blue-native 電気泳動を用いて、シロイヌナズナのNDH-PSI超複合体を生化学的に解析し、NDH複合体をストロマから見て、subcomplex Aを上にしたとき、Lhca5が右側のPSIとの結合に、一方、Lhca6は左側のPSIとの結合を仲介していることを明らかにした。またLhca5のNDHとの結合部位は、NdhBであることを明らかにした。さらに、Lhca5のストマループ領域の配列が高度に保存されており、この領域を変更することで、集光アンテナからリンカーへの機能を獲得したというモデルを提唱した。</p> <p>第3章では、NDH複合体の蓄積に必要な低分子のチラコイド膜タンパク質CRR3が、NDH複合体のsubcomplex Bのアセンブリに必要な因子であることを明らかにした。CRR3は、NDH複合体が合成される未成熟葉でのみ発現する。多くの変異株を用いた解析から、CRR3はsubcomplex Bを構成するサブユニットのうち、PnsB2-B5を含むアセンブリ中間体を形成することを示した。PnsB1は、この中間体の形成に必須ではない、アクセサリーなサブユニットと考えられる。またCRR3は、このアセンブリ中間体にルーメン側のサブユニットであるPnsL3が入った後に解離するモデルを提唱した。さらに特筆すべきは、CRR3を含むsubcomplex Bアセンブリ中間体が、Lhca6を介しておそらく1コピーのPSIと結合している点である。すなわち、NDHとPSIの間の超複合体形成は、NDH複合体が完全にアセンブルされるより前に起きるということを明らかにした。</p> <p>以上をまとめると、陸上植物の進化の過程で、葉緑体NDH複合体は、Lhca5、Lhca6の順でPSIとの超複合体形成能を獲得し、それは、NDH複合体の安定化に必要であった。CRR3は、subcomplex Bのアセンブリに必要な因子であるが、CRR3を含むアセンブリ中間体は、Lhca6を介しておそらく1コピーのPSIを含んでおり、NDH複合体の他の部分やLhca5を介したPSIとのさらなる超複合体形成は、このアセンブリ中間体を足場として行われることが明らかになった。</p>			

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

葉緑体NDH複合体は、チラコイド膜に存在するタンパク質複合体のなかでも最大級の分子量をもつものであり、超複合体形成の生理的な意義、超複合体の構造及びそれが形成される過程の解明は、重要な研究課題であった。加藤氏の研究は、それらに明確に答えるものであり、高く評価できる。

シロイヌナズナにおいて、Lhca6を介した超複合体形成は、NDH複合体の安定化に重要であるが、Lhca5側の寄与はわずかであった。加藤氏は、ヒメツリガネゴケを用いて、Lhca5を介した超複合体形成がLhca6を介するものに進化的に先立ち、やはりNDH複合体の安定化に寄与することを示した。被子植物の進化の過程で、さらなる安定化の必要が生じ、Lhca6を介した2つ目の超複合体形成能を獲得した。いずれの超複合体形成においても、集光アンテナタンパク質であるLHCIのストロマループ領域を改変することで、リンカーとしての機能を獲得している。

被子植物において新たに獲得された左側の超複合体に形成に際し、リンカータンパク質Lhca6は、PSI超複合体 (PSIコアとLhca1-Lhca4の4つの集光アンテナから成る。) のLhca2と入れ替わる。それによって形成されるLhca3/Lhca6のヘテロダイマーは、NDH複合体のsubcomplex Bとの結合部位を提供する。このsubcomplex Bを中心としたNDHのアセンブリは、シロイヌナズナにおいて全てのNDH複合体がPSIと結合している事実と合致する。CRR3は、超複合体形成のNDH複合体側のコアを成すsubcomplex Bの形成に必須である。一方、PSI側の鍵因子であるLhca6を欠損しても、NDH複合体は正常にアセンブルされる。このことは、Lhca6側の超複合体形成が、被子植物の進化の過程で獲得された事実で説明可能である。

このように加藤氏の研究成果は、二つの超複合体形成の進化をアセンブリ過程を明らかにすることで解き明かした点で独創的であり、優れている。チラコイド膜に存在する巨大複合体の構造の解明は、クライオ電顕の技術の進歩で大きく進展した。NDH-PSI超複合体が報告されたのは2008年であるが、加藤氏の研究は、存在量の低いこの超複合体を構造研究の有力ターゲットの一つにするインパクトをもつものである。現在、国内外でいくつかの構造生物学のグループが、NDH-PSI超複合体の構造決定に乗り出している。

本研究の内容の一部は、植物科学の最有力国際誌の一つである、*Plant Physiology* 誌と*The Plant Journal* 誌に掲載されており、国際的にも高い評価を受けている。また加藤氏は、2017年にオランダで開かれた国際光合成会議において、ポスター発表からショートトーク発表の演者に選ばれており、そこで本研究成果の一部を発表している。このように、加藤氏の行った研究の質は高く、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。平成30年1月25日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降