

葉緑体 NDH-PSI 超複合体構造の獲得と形成過程の解析

加藤 義宣

葉緑体 NADH dehydrogenase-like (NDH) 複合体は、光化学系 I (Photosystem I: PSI) サイクリック電子伝達系を担う。NDH 複合体は 5 つのサブ複合体 (SubA、SubB、SubL、SubM、SubE) から成り立ち、さらに被子植物ではリンカータンパク質 Lhca5、Lhca6 を介して 2 コピーの PSI-Light Harvesting Complex I (LHCI) と結合し、NDH-PSI 超複合体を形成している。特に、Lhca6 を介した PSI-LHCI との超複合体形成は NDH 複合体の安定化に必須である。一方、基部陸上植物ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) では NDH 複合体は単独で機能することが知られており、陸上植物の進化の過程において NDH 複合体は急速な巨大化を遂げた。

第一章では、蘚類ヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) における NDH 超複合体の解析を行い、NDH-PSI 超複合体形成が陸上植物の進化の過程でどのように獲得されてきたのかを調べた。ヒメツリガネゴケは、ゼニゴケよりも後に被子植物との共通祖先から分岐している。ヒメツリガネゴケでは相同組み換えによる遺伝子ターゲティングが可能であり、作出した変異体の解析から、NDH 複合体は Lhca5 を介した PSI-LHCI との超複合体形成を獲得しているが、Lhca6 は獲得されていないことを明らかにした。また Lhca5 による NDH-PSI 超複合体の形成は、ヒメツリガネゴケにおいて NDH 複合体の安定化に寄与していることも見出しており、被子植物では主要な役割が Lhca5 から Lhca6 に移行していると考えられる。

第二章では、オオムギ (*Hordeum vulgare* L. cv. Akcent) を用いた先行研究の電子顕微鏡による解析で報告された NDH 複合体に PSI-LHCI が複数コピー結合した超複合体を、シロイヌナズナにおいて生化学的に分離した。さらに *lhca5*、*lhca6* 変異体においてその超複合体の形成異常を解析した。また、NDH

複合体において Lhca5 の結合に必要な部位の絞り込みを行った。得られた知見と先行研究で構築された psuedo atomic モデルを合わせ、より詳細な NDH-PSI 超複合体構造のモデルを提唱した。

第三章では、シロイヌナズナにおいて NDH 活性に必須であるものの機能未知であったタンパク質 CHLORORESPIRATORY REDUCTION 3 (CRR3) の解析を行った。CRR3 を含むタンパク質複合体を ショ糖密度勾配超遠心において分離・検出し、CRR3 が SubB の形成に関わるアセンブリ因子であることを明らかにした。また、種々のシロイヌナズナ NDH 欠損変異体を用いて解析し、SubB が組み上がる途中の段階で、既に Lhca6 を介した PSI-LHCI との超複合体形成が開始されていることを見出した。この事実は、元々独立に機能していた NDH 複合体と PSI-LHCI の結合は、必ずしも完成した複合体同士の結合では無いことを示唆する。得られた結果をもとに SubB アセンブリモデルを提唱し、柔軟な光合成電子伝達系複合体の組み上げ過程を考察した。また本モデルは、NDH 複合体における Lhca6-PSI-LHCI の結合部位は SubB であるという、NDH-PSI 超複合体の構造に関する示唆も同時にもたらす。

本学位論文は、葉緑体 NDH-PSI 超複合体構造と超複合体形成の意義の進化的な変遷、さらにその巨大構造の形成過程に関する知見をもたらすものである。