

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 理 学 )	氏名	Leonardo Basso
論文題目	Optimization of accelerator and brake in photosynthetic electron transport (光合成電子伝達におけるアクセルとブレーキの最適化)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>光合成の明反応は、水から引き抜かれた電子が最終的にNADP<sup>+</sup>の還元に使われる。この電子移動に連動して、チラコイド膜を介したプロトンの電気化学的な濃度勾配が形成され、プロトン駆動力としてATP合成に使われる。このリニア電子伝達に加えて、サイクリック電子伝達は、酸素発生やNADPHの合成なしに、プロトン駆動力の大きさ、ATPの合成速度を調節する。プロトンは正の電荷をもつため、濃度勾配 (<math>\Delta pH</math>) に加えて、膜電位 (<math>\Delta\Psi</math>) がプロトン駆動力に寄与する。</p> <p>野外の光環境では、光強度は植物がCO<sub>2</sub>の固定に使える強さを頻繁に上回る。このとき、電子伝達にブレーキをかけ、過剰に生じた還元力が光合成装置を破壊する (光傷害) ことを防いでいる。植物は、この光の過剰を<math>\Delta pH</math>の増大によるチラコイドルーメンの酸性化をモニターすることで感知している。したがって、プロトン駆動力の増大はATP合成を介して光合成のアクセルを踏むが、<math>\Delta pH</math>の増大は、逆にブレーキをかけることになる。したがって光合成を最適化するには、プロトン駆動力の大きさと成分を正確に調節する必要がある。KEA3は、チラコイド膜からH<sup>+</sup>を排出し、K<sup>+</sup>をアンチポートすることで、<math>\Delta pH</math>を<math>\Delta\Psi</math>に置き換え、そのことで、ブレーキの解除に働く。</p> <p>Basso氏は、プロトン駆動力の大きさを制御するサイクリック電子伝達と成分を制御するKEA3の連携を調べるため、一連のシロイヌナズナ変異体の表現型を調べた。一晩、暗所に置かれた植物に光を照射すると、二酸化炭素の固定反応が動き出すまで (およそ1分間)、電子伝達にブレーキがかかる。このブレーキの誘導には、<math>\Delta pH</math>を形成するサイクリック電子伝達が必要である。一方、この誘導期を過ぎると、ATPが二酸化炭素の固定に使われ始め、<math>\Delta pH</math>が解消されることで、ブレーキが解除される。KEA3は、この解消期にブレーキを速やかに解除するのに働く。Basso氏は、サイクリック電子伝達を触媒するNDH複合体の欠損は、KEA3の欠損の異常 (ブレーキの解除の遅れ) をさらに深刻化することを明らかにした。この意外な結果は、NDHが解消期にサイクリック電子伝達ではなく、逆の反応を行う可能性を示唆している。Basso氏は、光合成の誘導期～解消期にプラストキノンプルーに電子が溜まり、大きなプロトン駆動力が形成される状況で、NDH複合体の逆反応が誘導されるという作業仮説をたて、この状況を生み出す形質転換体 (PGR5過剰発現株) で、同様のNDH複合体の貢献を確認した。また、このNDH複合体とKEA3の協調が、一晩暗所に置いた植物 (カルビン・ベンソン回路が不活性化された状態) で重要であることを明らかにした。また、ガス交換を解析することで、NDH複合体とKEA3の協調が、一晩暗処理後に二酸化炭素固定を効率的に上昇させることに必要であることを示した。NDH複合体のプロトン駆動力に対する寄与はそれほど大きくなく、この複合体の生理機能は、はっきりとしない部分があったが、Basso氏の研究は、NDH複合体が、正逆の反応を使い分けることで、光合成の電子伝達、特に誘導期の制御に柔軟性をもたせる働きがあることが、初めて明らかにした。</p>			

(続紙 2 )

Basso氏は、次の段階として、プロトン駆動力の制御を人為的に再調整することに挑戦した。用いた遺伝子は、KEA3の大量発現 (KEA3ox) であり、 $\Delta\Psi$ のプロトン駆動力への貢献が大きくなるために、電子伝達速度が増大することが報告されている。しかし、この植物は、電子伝達のブレーキが効かないために、弱光から強光に移った瞬間に電子伝達系に過剰な電子が流入し、内部の電子伝達系に損傷を与える。Basso氏は、KEA3oxにさらに、電子伝達系から過剰な電子を吸い出す働きのある (安全弁) Flavodiironタンパク質 (Flv) をコードする遺伝子を導入した (二重形質転換体)。Flvは、光合成生物に広く保存されているが、被子植物は、なぜかこの遺伝子を失っている。KEA3ox株は、強度が変動する光環境に強い感受性を示すが、Flvの導入により、この欠点は克服された。一方、二重形質転換体は、光強度の変動 (弱光から強光、および強光から弱光) に対して迅速に反応 (ブレーキの誘導と解除) することを明らかにした。このことは、KEA3oxとFlvの組み合わせが、自然光のように強度が変動する光環境で、光合成に利点をもたらす可能性を示唆している。

光合成の強化は、極めて困難な課題であるが、光環境への適応の最適化にその可能性が残されている。Basso氏の研究は、KEA3oxのようなブレーキとアクセルの直接的な変更、NDH複合体やFlvのように制御に柔軟性を与えるものを補ってやることで、道が拓かれることを示唆している。

(論文審査の結果の要旨)

Basso氏は、近年、注目を浴びながらほとんど知見のない、プロトン駆動力のサイズの調節機構 (サイクリック電子伝達) と成分分配の制御のクロストークについて、先駆的な研究を行った。その結果、NDH複合体が正逆の反応を使い分けることで、電子伝達の制御に柔軟性を与える新しい機能を発見した。NDH複合体の逆反応は、しばしば可能性が指摘されてきたが、Basso氏の研究は、初めてそれを変異体の表現型として示したものである。Basso氏の研究は、複数の遺伝的背景で丁寧に確認を行っており、光合成の解析も独立の手法を用いて、詳細に行われている。その成果は、高い評価を受け、植物科学の有力国際誌であるPlant Physiology誌に掲載されている。

Basso氏は、さらに研究を光合成の環境への再最適化に向けた電子伝達制御の人為的改変まで広げている。近年、光合成のアクセルとブレーキを調節する主役が分子レベルで明らかになってきているが、その調整は、光の積極的な利用と光傷害の回避の間に存在するトレードオフに関係するため、容易ではない。Basso氏は、ブレーキとアクセルのバランスを動かすことで、より積極的に光を光合成を使いながら、Flvに依存する過剰電子の安全弁を導入することで、変動光における光化学系 I の光傷害を回避する植物の作成に成功している。前述の結果と合わせて、電子伝達制御の人為的改変の可能性は、制御の中枢部の微調整に加えて、制御の柔軟性を強化してやることを示している。

Basso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。令和3年2月2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： 2021年 4月 1日以降