

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	嶋村 大亮
論文題目	緑藻のピレノイド局在性因子ならびに核局在性因子による無機炭素濃縮機構の調節		
(論文内容の要旨)			
<p>地球上の一次生産の約半分を担う水圏光合成生物にとって、二酸化炭素 (CO₂) の供給速度は光合成の律速要因となるため、微細藻類は能動的に無機炭素 (Ci) を葉緑体内に取り込み、CO₂ 固定酵素 ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) に CO₂ を供給する無機炭素濃縮機構 (CCM) をもつ。この CCM には、複数の膜局在型の Ci 輸送体と炭酸脱水酵素 (CA) に加えて、葉緑体内で CO₂ 固定の場となる Rubisco の集合体であるピレノイドの形成が重要である。CCM の発現は、大気レベルの CO₂ を含む空気を通気する低 CO₂ 条件で誘導され、逆に 5% (v/v) CO₂ を含む空気を通気する高 CO₂ (HC) 条件では抑制されるが、誘導や抑制の機構はまだ明らかにされていない。本研究において申請者は、CCM 関連遺伝子の発現誘導時におけるピレノイドの形態形成の重要性を検証すると共に、細胞外の CO₂ 濃度上昇による CCM の抑制に必要な因子の同定に成功した。</p> <p>申請者は、CO₂ 要求性変異株をスクリーニングすることで、既知の CCM 誘導因子である亜鉛結合性の核タンパク質 CCM1 ならびにカルシウム結合性タンパク質 CAS が正常に蓄積するにも関わらず、複数の Ci 輸送体タンパク質の蓄積レベルが低下する株を単離した。この変異株では野生株では単一のピレノイドの個数が増加し、デンブン鞘の伸長、ピレノイドチューブの数の減少といったピレノイドの形態が異常となっており、ピレノイドを構成するタンパク質 StArch Granules Abnormal 1 (SAGA1) をコードする遺伝子に変異していた。さらにこの変異により発現が低下する遺伝子の中には、CCM1 ならびに CAS に依存して発現誘導される CCM に必要な Ci 輸送体 HLA3 と LCIA や、CA をコードする核コードの遺伝子が含まれていた。</p> <p>また、核内で CCM1 と複合体を形成する CCM1-binding protein 1 (CBP1) は、CCM の誘導に関わる可能性が考えられていたが、CBP1 欠損変異株では CCM の誘導は正常である一方、HC 条件で CCM 抑制が不完全となり、光合成における細胞の Ci に対する親和性が上昇した。さらに、HC 条件で本来発現が抑制される Ci 輸送体や CA など をコードする 21 個の遺伝子の発現が部分的に誘導されたことから、CBP1 は CCM 関連遺伝子の発現抑制に寄与する新規因子であることが明らかになった。</p> <p>以上の結果から、本研究は、水圏における CO₂ 欠乏環境への順化に必要な CCM の誘導に伴う核遺伝子の発現に葉緑体内のピレノイドの形態形成が必要であること、さらに細胞外 CO₂ 濃度の上昇に伴う CCM の抑制ならびに CCM 関連核遺伝子の発現抑制を担う新規核タンパク質の同定に成功し、CO₂ 環境の変動に応答する光合成の制御機構の一端を明らかにした。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

水圏光合成生物にとって CO₂ の供給速度は光合成の律速要因となるため、微細藻類は能動的に無機炭素 (Ci) を葉緑体内に取り込み、CO₂ 固定酵素 ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) に CO₂ を供給する無機炭素濃縮機構 (CCM) をもつ。この CCM の発現は、細胞外の CO₂ 濃度が低下すると誘導され、逆に濃度が上昇すると抑制される。CCM の誘導を制御する因子として、亜鉛結合性の核タンパク質 CCM1 とカルシウム結合性タンパク質 CAS が同定されているが、CO₂ が十分な環境で CCM が抑制される機構については知見がない。本論文で申請者は、モデル緑藻クラミドモナスの変異株を用いて、光合成の生理学的特性を決定する CCM の制御を担う新規因子に関して、下記の点を分子遺伝学的に明らかにした。

1) CO₂ 要求性変異株をスクリーニングすることで、既知の CCM 誘導因子である CCM1 ならびに CAS が正常に蓄積するにも関わらず、複数の核コードの Ci 輸送体タンパク質の発現レベルが低下する株を単離することに成功した。この変異株ではピレノイドの複数化、デンプン鞘の伸長、ピレノイドチューブの減少といったピレノイドの形態異常が認められ、ピレノイド構成因子 SAGA1 をコードする遺伝子に変異していた。またこの変異により発現が低下する遺伝子の中には、CCM に必要な Ci 輸送体 HLA3 と LCIA、さらに炭酸脱水酵素をコードする核遺伝子が含まれていた。これらの事実より、CCM に必要な因子をコードする核遺伝子の発現が、葉緑体内のピレノイドの形態形成に依存することを初めて示した。

2) 核内で CCM1 と複合体を形成する CCM1 結合タンパク質 CBP1 は、CCM の誘導に必要ではなく、CO₂ が十分な環境で CCM の抑制に働く新規因子であることを、遺伝子破壊株を用いて証明した。さらに CBP1 は、Ci 輸送体や炭酸脱水酵素などをコードする核遺伝子の RNA レベルでの発現を、CO₂ が十分な環境で抑制する機能をもつことを示した。

以上述べたように、水圏における CO₂ 欠乏環境への光合成特性の順化に、葉緑体内の相分離オルガネラであるピレノイドの形態形成が必要であることを発見したこと、さらに細胞外 CO₂ 濃度の上昇に伴う CCM の抑制機構の存在を遺伝子レベルで実証した点は、光合成の環境応答機構を理解する上で大きな意義をもつ。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、植物科学分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい概念が示されており、論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって博士 (生命科学) の学位論文として価値あるものと認めた。更に、令和 5 年 2 月 7 日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公開可能日： 年 月 日