

(論文内容の要旨)

葉緑体チラコイド膜上に存在する NAD(P)H dehydrogenase (NDH)複合体は NAD(P)H を基質として光合成電子伝達鎖のプラストキノンの還元を行うことで光化学系 I を中心とした循環的電子伝達経路を形成し、ATP の生産に寄与する。近年、NDH 関連遺伝子の同定が進み、葉緑体 NDH 複合体はその祖先と考えられるシアノバクテリア NDH 複合体が有する親水性サブコンプレックス(subcomplex A)、疎水性サブコンプレックス(subcomplex C)以外にさらに親水性サブコンプレックス(subcomplex B)を有することが示唆され、これらのサブコンプレックスを含めた葉緑体 NDH 複合体の構造モデルが提唱されるに至っている。本研究では新規な NDH 関連因子の同定とその機能、ならびに NDH 関連遺伝子の進化について解析を行った。

第一章では NDH 活性に関与する新規な因子 NDF5 の機能の解明を試みるるとともに、*ndh* 変異体を用いた解析から NDH 複合体の構造に関する知見を得た。はじめに、*ndf5* 変異体の NDH 活性測定から、NDH 活性に NDF5 が必須であることを明らかとした。次いで NDF5 と弱い相同性を示す NDF2、および NDF5 のホモロジー解析から、NDF5、NDF2 のそれぞれのホモログが高等植物において存在する一方で、シアノバクテリアには存在しないことを明らかとした。続いて、葉緑体内の局在性の解析により、NDF5 が葉緑体膜上に存在することを明らかとした。一方、NDH 複合体サブユニット NdhH の安定性についてのウエスタン解析から、NdhH を含む少なくとも一部の NDH 複合体サブユニットの欠損により *ndf5* 変異体の NDH 活性が消失することを明らかとした。さらに、NDF5 と NDH 複合体サブコンプレックスの関連性を明らかとするため、*ndf5* 変異体および subcomplex A, B, C に属する NDH 複合体サブユニットの欠損変異体における NDF5 および各サブコンプレックスのサブユニットの蓄積量について、ウエスタン解析を行い、subcomplex B に NDF5 が結合している可能性を示唆した。さらに、NDF5 の *ndh* 変異体、野生株における NDF5 の蓄積が subcomplex A のサブユニット NdhH の蓄積と負の関係にあることを示唆した。以上の結果を総合し、NDF5 と NDH 複合体の構造に関する新規モデルを考察した。

第二章では全ゲノム配列が解読されている陸上植物、シアノバクテリアにおける NDH 関連遺伝子の生物種間保存性の解析と新規 NDH 関連遺伝子の選抜を行った。まず、ゲノム比較に用いるホモログ遺伝子決定方法の改善を試み、改良したゲノム比較法により正確な生物種間のホモログ保存性予測が可能であることを明らかとした。さらに、改良型ゲノム比較法を用いた解析から、NDH 複合体サブユニットの種間保存性に様々な様式が存在することを明らかとした。特に、subcomplex B のサブユニットは生物種間におけるホモログの保存性が多様で、進化的過程で subcomplex B が基本となる NDH 複合体に段階的に付加された可能性、もしくは陸上植物において各ホモログが新規機能を獲得した可能性を示唆した。

(論文審査の結果の要旨)

葉緑体チラコイド膜上に存在する NAD(P)H dehydrogenase (NDH)複合体は NAD(P)H を基質として光合成電子伝達鎖のプラストキノンの還元を行うことで光化学系 I を中心とした循環的電子伝達経路を形成し、ATP の生産を行う。本研究は新規な NDH 関連因子の同定とその機能、葉緑体 NDH 複合体の構造、ならびに NDH 関連遺伝子の進化について解析を行ったものであり、評価できる点は以下の通りである。

1) NDH 活性に関与する新規な因子 NDF5 の機能の解明のために、*ndf5* 変異体の NDH 活性測定から、NDH 活性に NDF5 が必須であることを明らかとした。次いで NDF5 と弱い相同性を示す NDF2、および NDF5 のホモロジー解析から、NDF5、NDF2 のそれぞれのホモログが高等植物において存在する一方で、シアノバクテリアには存在しないことを明らかとした。また、葉緑体内の局在性の解析により、NDF5 が葉緑体膜上に存在することを明らかとした。

2) NDH 複合体サブユニットに対するウエスタン解析から、*ndf5* 変異体の NDH 活性の消失は NdhH を含む NDH 複合体サブユニットの安定性の低下が原因であることを明らかとした。さらに、*ndf5* 変異体および subcomplex A, B, C に属する NDH 複合体サブユニットの欠損変異体における NDF5 および各サブコンプレックスのサブユニットの蓄積量について、ウエスタン解析を行い、subcomplex B に NDF5 が結合している可能性、ならびに、NDF5 が subcomplex A サブユニットの蓄積と負の関係にあることを示唆した。以上の結果を総合し、NDF5 と NDH 複合体の構造に関する新規モデルを考察した。

3) 全ゲノム配列が解読されている陸上植物、シアノバクテリアにおける NDH 関連遺伝子の生物種間保存性の解析と新規 NDH 関連遺伝子の選抜を行うために、ゲノム比較に用いるホモログ遺伝子決定方法の改善を試み、改良したゲノム比較法により正確な生物種間のホモログ保存性予測が可能であることを明らかとした。

4) 改良型ゲノム比較法を用いた解析から、NDH 複合体サブユニットの種間保存性に様々な様式が存在することを明らかとした。

以上の結果は、近年、光合成の調節因子として注目を集めている NDH 複合体の構成因子とその複合体構造、ならびに進化の解明に重要な知見を与えるものであり、植物分子生理学に寄与するところが大きい。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

なお、平成 21 年 2 月 3 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(生命科学)の学位を授与される学力が十分にあるものと認めた。