

京都大学	論文博士（生命科学）	氏名	石川 規子
論文題目	葉緑体 NDH を介した光化学系 I 循環的電子伝達経路が C ₄ 光合成で果たす役割についての生理学的解析		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>葉緑体 NAD(P)H デヒドロゲナーゼ複合体 (NDH) は光化学系 I (PS I) の電子受容体である ferredoxin (Fd) からプラストキノンへの電子伝達 (光化学系 I 循環的電子伝達経路 (NDH 経路)) を形成し、NADPH を生成することなく ATP の生成に必要なプロトン駆動力 (<i>pmf</i>) を発生させることが可能である。NDH 経路は光合成電子伝達で生成される ATP/NADPH 比の調節に寄与すると考えられており、C₃ 植物では強光や高温ストレス下での光合成の維持に NDH 経路が重要となることが知られている。一方、植物には NDH 経路とは別に PGR5 (PROTON GRADIENT REGULATION5) 等に依存した光化学系 I 循環的電子伝達経路 (PGR5-PGRL1 経路) が存在しており、C₃ 植物における NDH 経路の役割は補助的なものと考えられている。一方、C₄ 植物では大気中の CO₂ を濃縮するため、より多くの ATP を生成する必要があるため、C₄ 植物では NDH 経路がより重要な役割を果たしている可能性が提唱されてきた。そこで本研究は C₄ 光合成における NDH 経路の果たす機能を明らかにするために NDH の発現を抑制した C₄ 植物を作成し、NDH 経路の生理学的解析をおこなった。</p> <p>第 1 章では形質転換可能な C₄ 植物 <i>Flaveria bidentis</i> を材料に葉緑体 NDH の必須サブユニット <i>NdhN</i> を標的として RNAi およびアンチセンス法により発現抑制株を作出した。得られた形質転換体において、NDH を介した電子伝達が顕著に低下することをクロロフィル蛍光測定により確認するとともに、葉緑体 NDH の蓄積減少を示し、NDH 経路の機能解析に必要な NDH 活性を抑制した C₄ 植物を得た。</p> <p>第 2 章では NDH 抑制株を用いた光合成活性の解析をおこなった。NDH 抑制株では光化学系 II (PS II) の電子伝達速度は低下しないが、PS I への電子供与が抑制されることを示した。また NDH 抑制株では、チラコイド膜間でのプロトン勾配の発生をトリガーとするフィードバック熱放散に由来した non-photochemical quenching (NPQ) の誘導が抑制されることを示した。これらの結果から、NDH の抑制によりチラコイド膜間のプロトン輸送能の低下が示唆された。そこで NDH 抑制株で <i>pmf</i> の生成能を測定し、NDH 経路が <i>pmf</i> の生成を通じて C₄ 植物で ATP 生成に寄与することを明らかにした。更に NDH 抑制株では ATP 生成速度が律速となる弱光-中光条件において CO₂ 吸収速度および CO₂ 濃縮効率の指標となる炭素同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) が低下することを示し、NDH 経路の抑制により ATP 生成が低下すると C₄ 光合成による炭酸固定が低下することを明らかにした。さらに、NDH 経路の抑制は弱光条件下において NDH 抑制植物の著しい生育遅延を引き起こすことを示した。一方、別の光化学系 I 循環的電子伝達経路である PGR5-PGRL1 経路の活性は NDH 抑制株でも維持されており、C₄ 光合成における NDH 経路の機能は PGR5-PGRL1 経路だけでは補完できないことが明らかとなった。</p> <p>上記の結果により、NDH 経路が ATP の生成に機能しており、特に弱光条件下での C₄ 光合成の維持に不可欠な役割を果たすことを明らかにした。以上の結果と既知の C₃ 植物における NDH 経路の役割をもとに、C₄ 化による炭酸固定系の進化と ATP 要求性の変化において NDH 経路が果たす役割について考察した。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

葉緑体 NAD(P)H デヒドロゲナーゼ複合体 (NDH) は光化学系 I (PS I) の電子受容体である ferredoxin (Fd) からプラストキノンへの電子伝達 (光化学系 I 循環的電子伝達経路 (NDH 経路)) を形成し、NADPH を生成することなく ATP の生成に必要なプロトン駆動力 (pmf) を発生させる。NDH 経路は光合成電子伝達で生成される ATP/NADPH 比の調節に寄与し、 C_3 植物では強光や高温ストレス下での光合成の維持に重要となることが知られている一方、NDH 経路とは別の PGR5 (PROTON GRADIENT REGULATION5) 等に依存した光化学系 I 循環的電子伝達経路 (PGR5-PGRL1 経路) が主たる経路として機能していることが示されてきた。一方、 C_4 植物では、 C_3 植物以上に多くの ATP を生成する必要がある、NDH 経路がより本質的な役割を果たしている可能性が提唱されてきた。本研究は C_4 光合成における NDH 経路の果たす機能を明らかにするために NDH の発現を抑制した C_4 植物を作成し、NDH 経路の生理学的解析をおこなったものであり、以下のような成果を得ている。

1) 形質転換可能な C_4 植物 *Flaveria bidentis* を材料に NDH の必須サブユニット *NdhN* 遺伝子を標的とした RNAi 法により発現抑制株を作出し、実際に、NDH を介した電子伝達の顕著な低下、ならびに、葉緑体 NDH の蓄積減少を示した。

2) NDH 抑制株では光化学系 II (PS II) の電子伝達速度は低下しないが、PS I への電子供与が抑制されることを示した。

3) NDH 抑制株では、non-photochemical quenching (NPQ) の誘導が抑制されること、また、 pmf の生成能が低下することを示し、NDH 経路が pmf の生成を通じて ATP 生成に寄与することを明らかにした。

4) NDH 抑制株では ATP 生成速度が律速となる弱光-中光条件において CO_2 吸収速度および CO_2 濃縮の指標となる炭素同位体比 ($\delta^{13}C$) が低下することを示し、NDH 経路の抑制による C_4 光合成能の低下を明らかにした。

5) さらに、NDH 経路の抑制は弱光条件下において C_4 植物の著しい生育遅延を引き起こすことを示した。

6) 一方、別の光化学系 I 循環的電子伝達経路である PGR5-PGRL1 経路の活性は NDH 抑制株でも維持されており、 C_4 光合成における NDH 経路の機能の重要性を明らかとした。

上記の結果は、 C_4 植物における NDH の機能、特に弱光条件下での C_4 光合成の維持における NDH の不可欠な役割を明らかにするものであり、 C_4 光合成の分子機構ならびに機能制御、さらには、炭酸固定系の進化について極めて有用な知見を与えるものであった。以上、植物生命科学に関する高度で幅広い学識、植物生理学分野における優れた研究能力、そして植物生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見等が示されるとともに、論理的かつ一貫性をもって記述されていることから、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 29 年 1 月 23 日 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。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第 8 条の規定により、猶予期間は学位授与日から 3 ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日