

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	今泉 滉
論文題目	光化学系IIの活性と安定性の制御に関わる分子機構の解析		
(論文内容の要旨)			
光化学系II (PSII) は、光エネルギーを用いて水から電子を引き抜き、酸素を発生する水分解-酸素発生反応を触媒するタンパク質複合体である。この反応は、Mnクラスターやその近傍に結合する2つの塩化物イオン (Cl-1とCl-2) を含む、PSIIの酸素発生中心にて起こる。酸素発生中心の構造や機能は膜表在性サブユニットにより制御・安定化されるが、そのサブユニット構成は生物種間で多様性があり、詳細な分子機構は未解明である。また、水から引き抜かれた電子は、PSIIのアクセプター側にてプラストキノン (Q_B) に渡される。Q_Bの近傍には、PSIIコアの構成要素であるシトクロム (Cyt) <i>b</i>₅₅₉があるが、その分子機能も未解明である。本研究では、PSIIの酸素発生中心とアクセプター側付近の両方について、活性と安定性の制御に関する解析を行った。 第1章では、緑色植物型PSIIに特有の膜表在性サブユニットPsbPについて、Mnクラスター近傍に挿入されるLoop 4領域に着目し、様々な変異を導入した組換えPsbPタンパク質と単離PSII膜を用いた<i>in vitro</i>再構成系によって当該領域の重要性を明らかにした。また、<i>in vitro</i>再構成系およびゲノム編集により作出したシロイヌナズナ変異体において、Loop 4におけるPsbP-D139N変異がPSIIの酸素発生活性を向上させることを発見し、PSII活性に向上の余地があることを明らかにした。さらに、当該変異がCl-2の結合安定化を介して活性向上をもたらすことを示し、機能未知だったCl-2の水分解-酸素発生反応における重要性を明らかにした。 第2章では、PsbPと相互作用するCyt <i>b</i>₅₅₉のチラコイド膜ルーメン側の領域について解析を行なった。Cyt <i>b</i>₅₅₉のルーメン側にアミノ酸配列がよく保存された領域を見出し、この領域が、緑色植物ではPsbPと、紅色進化系統藻類では特有の膜表在サブユニットPsbQ'と、それぞれ同様に相互作用することを発見した。この保存された相互作用は、PSII内部の電子伝達を調節し、PSIIを過剰な光から保護することを示唆した。そして葉緑体ゲノム編集によりCyt <i>b</i>₅₅₉の当該保存領域に変異を導入したシロイヌナズナの変異体を作出し、得られた変異体の表現型解析から、この領域が実際に機能的なPSIIの蓄積に必須であることを明らかにした。 第3章では、化合物アンチマイシンA (AA) が過去にCyt <i>b</i>₅₅₉の酸化還元電位を変化させると報告されていることに着目した。光合成分野においてAAは、PSIIが関与しない光化学系I周辺の循環的電子伝達 (CEF-PSI) 経路の阻害剤として広く知られ、この経路に特異的な阻害剤として頻繁に使用される。AAがCyt <i>b</i>₅₅₉以外にPSIIに直接的な影響を及ぼすのかを調べた結果、AAがPSIIの活性を低下させ、PSIIのアクセプター側の阻害条件下ではPSIIを光に対して極めて脆弱にすることを明らかにした。また、AAの構成要素である市販のAA3精製物を用いれば、PSIIに影響せずにCEF-PSIを阻害できることを発見した。以上の結果により、PSII内部にAAで阻害される未知の保護機構があることを示唆するとともに、従来のCEF-PSI研究におけるAA使用の再検討を促し、代わりにAA3の使用を提案した。			

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

光化学系II (PSII) が行う水分解-酸素発生反応は、地球の環境と生命活動を支える究極の光エネルギー変換反応である。近年、X線結晶構造解析、X線自由電子レーザーを用いた時間分解構造解析などを用いて、PSIIの水分解-酸素発生反応のメカニズムが原子レベルで解明されつつある。その中で、本論文では、光合成生物の進化を絡めた独自の構造生物学的視点と、*in vitro*再構成系や標的一塩基置換法を活用した最新の研究手法により、PSIIの活性と安定性の制御に関わる新しい知見を得た。

主要な成果として評価できる点は以下のとおりである。

1. PSIIの酸素発生中心付近に挿入されるPsbPのLoop 4領域に関して、PsbP-D139N変異がPSIIの酸素発生活性を大きく向上させることを見出し、その活性向上の分子機構に塩化物イオンの結合安定性に関わることを示した。さらに、標的一塩基置換法によりシロイヌナズナの核遺伝子のゲノム編集に成功し、作出したシロイヌナズナPsbP-D139N変異体を用いて、当該変異が*in vivo*でもPSII活性を向上させることを認めた。これによりPSIIの水分解-酸素発生反応が進化の過程で最適化されておらず、人為的に向上の余地があることを実証した。
2. PsbPと相互作用するCyt *b*₅₅₉のルーメン側の領域に着目し、*in silico*解析及び葉緑体ゲノム編集により作出したシロイヌナズナ変異体を用いて、当該領域の重要性を明らかにした。PsbPを持たない紅色進化系統藻類ではPsbPの代わりにPsbQ'がCyt *b*₅₅₉と同様に相互作用することを認め、膜表在性サブユニットの機能が進化的に保存されてきた仕組みを明らかにした。
3. PGR5依存CEF-PSI経路の阻害剤として広く使用されている化合物アンチマイシン (AA) が、PSIIの活性に顕著な阻害的効果を及ぼすことを明らかにし、AAのPGR5依存CEF-PSI経路の特異的な阻害剤として使用はできないことを示した。さらにアンチマイシン類縁体であるAA3を用いれば、PSIIに影響せずにPGR5依存CEF-PSI経路を阻害できることを明らかにした。

以上のように、本論文では構造生物学の観点から、光合成生物が進化の過程で獲得した光化学系IIの安定化と制御の機構を明らかにし、その人為的な活性向上が可能であることを実証した。また、光合成研究で汎用されてきたアンチマシンの利用法に警鐘を鳴らすだけでなく、その類縁体を用いた新たな研究展開の可能性を示した。これらの成果は、基礎研究としてだけでなく、作物の光合成機能の向上や新しい除草剤の開発などの応用展開が期待でき、植物生理学や植物栄養学、農芸化学の発展に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和8年1月21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（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)