

## (論文内容の要旨)

シアノバクテリアから葉緑体への進化の過程で多くの遺伝子が機能分化し葉緑体機能を調節していると考えられている。酸素発生系タンパク質 (Oxygen-Evolving Complex proteins: OEC) ファミリーも、そのような核コードの葉緑体タンパク質群の一つである。シロイヌナズナのOECファミリーには、光合成の初期反応を担う光化学系II (PSII) の膜表在性サブユニットとして酸素発生活性を制御するOECタンパク質 (PsbO、PsbP、PsbQ) の他に、そのホモログとしてPsbP-like (PPL)が2つ、PsbP domainタンパク質 (PPD) が6つ、PsbQ-like (PQL) が3つ存在している。本研究ではチラコイド膜ルーメンに存在するこれら機能未知なOECホモログ群の機能をシロイヌナズナを材料に分子生物学的・生化学的に解析した。

第1章ではまず、Web上に公開されているマイクロアレイデータを解析し、転写パターンのプロファイルから、OECホモログ群はPSIIのストレス応答、循環的電子伝達のNAD(P)H dehydrogenase (NDH) 経路に関わる可能性のあるグループ等に大別できることを明らかにした。

第2章では、代表的な転写プロファイルを示したPPL1とPPL2遺伝子に関して、各々のT-DNA挿入変異株の単離と解析を行い、*ppl1*変異株では強光によって損傷を受けたPSIIの修復が遅れること、また*ppl2*変異株ではNDH複合体の蓄積/活性が特異的に失われることを認めた。さらにBlue Native-PAGE解析を行い、PPL1タンパク質はPSIIに強く結合する因子ではないこと、及び、PPL2タンパク質はNDH複合体の新規サブユニットである可能性を示した。

第3章では、3つのPQL遺伝子についてT-DNA挿入変異株の解析を行い、PQLタンパク質群はPPL2と同様に、全てNDH複合体の蓄積/活性に必須の因子であることを明らかにした。PPL2とPQL群は高等植物特異的な遺伝子であり、高等植物におけるチラコイドルーメン側からの新規なNDH活性調節機構の存在が示唆された。

第4章では、PPL1のチラコイド膜局在を解析し、PPL1はPSII修復系においてPSII中間体が蓄積するストロマチラコイドに局在し、何らかのタンパク質複合体と相互作用している可能性を示した。また、PPL1の蓄積量は非常に強い光条件下や、光阻害を受けやすい*psbo1*変異株などで増加していることを認め、さらにPPL1と共発現するOECホモログであるPPD3のT-DNA挿入変異株 (*ppd3*) においてPSIIの光傷害が亢進していること、またPPL1の蓄積量が増加していることを認めた。

以上、本研究によって、シロイヌナズナのOECホモログ群のうち、少なくともPPL1, PPL2, PPD3, PQL1, PQL2, PQL3は、PSII構成因子であるPsbP, PsbQとは全く異なる生理機能、すなわち、PSII修復系の補助タンパク質や電子伝達鎖のレドックスバランスを調節するNDH複合体の新規サブユニットなどの機能を持ち、光合成電子伝達系の環境応答因子として多様化してきたことを明らかにした。

## (論文審査の結果の要旨)

本研究は、光合成酸素発生系タンパク質 (Oxygen-Evolving Complex proteins: OEC) ファミリーを対象に、光合成の初期反応を担う光化学系II (PSII) の膜表在性サブユニットとして酸素発生活性を制御するOECタンパク質 (PsbO、PsbP、PsbQ) のホモログとして存在する 2 つのPsbP-like (PPL)、6 つのPsbP domainタンパク質 (PPD)、3 つのPsbQ-like (PQL) の機能をシロイヌナズナを材料に分子生物学的・生化学的に解析したものである。評価できる点は以下の通りである。

1) Web 上に公開されているマイクロアレイデータを解析し、OEC ホモログ群は PSII のストレス応答、循環的電子伝達の NAD(P)H dehydrogenase (NDH) 経路に関わるグループ等に大別できることを明らかにした。

2) 代表的な転写プロファイルを示した *PPL1* と *PPL2* 遺伝子に関して、各々の T-DNA 挿入変異株の単離と解析を行い、*ppl1* 変異株では強光によって損傷を受けた PSII の修復が遅れること、また *ppl2* 変異株では NDH 複合体の蓄積/活性が特異的に失われることを認めた。さらに Blue Native-PAGE 解析を行い、*PPL2* タンパク質は NDH 複合体の新規サブユニットである可能性を示した。

3) 3 つの *PQL* 遺伝子について T-DNA 挿入変異株の解析を行い、*PPL2* と同様に、全て NDH 複合体の蓄積/活性に必須の因子であることを明らかにした。*PPL2* と *PQL* 群は高等植物特異的な遺伝子であり、高等植物におけるチラコイドルーメン側からの新規な NDH 活性調節機構の存在を示唆した。

4) *PPL1* のチラコイド膜局在を解析し、*PPL1* は PSII 修復系において PSII 中間体が蓄積するストロマチラコイドに局在し、何らかのタンパク質複合体と相互作用している可能性を示した。また、*PPL1* の蓄積量は非常に強い光条件下や、光障害を受けやすい *psbo1* 変異株などで増加していることを認め、さらに *PPL1* と共発現する OEC ホモログである *PPD3* の T-DNA 挿入変異株において PSII の光傷害が亢進していること、また *PPL1* の蓄積量が増加していることを認めた。

以上、本研究によって、シロイヌナズナの OEC ホモログ群のうち、少なくとも *PPL1*, *PPL2*, *PPD3*, *PQL1*, *PQL2*, *PQL3* は、PSII 構成因子である PsbP, PsbQ とは全く異なる生理機能、すなわち、PSII 修復系の補助タンパク質や電子伝達鎖のレドックスバランスを調節する NDH 複合体の新規サブユニットなどの機能を持ち、光合成電子伝達系の環境応答因子として多様化してきたことを明らかにした。これらの知見はシアノバクテリアから葉緑体に至る進化の過程において遺伝子の機能分化の多様性を示すものであり、植物分子生理学に寄与するところが多い。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。