

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	熊沢 穰
論文題目	紅色進化系統藻類における光捕集タンパク質複合体の分子進化と機能		
（論文内容の要旨） 真核光合成生物は、シアノバクテリアとの細胞内共生を通じて葉緑体を獲得した。それらは一次植物と呼ばれ、紅藻、緑色植物、および灰色藻の3群に分類される。さらに複数の二次または三次細胞内共生イベントにより、多様な真核藻類が生じた。紅色進化系統の二次共生藻類は紅藻類に由来する葉緑体を獲得しており、現代の海洋で優占する珪藻類やハプト藻類などの重要な海洋生物群を含む。真核光合成生物は、より効率的な光の捕集を可能にするため、2種類の光化学系 (PS) の周辺に光捕集アンテナを有する。これらのアンテナは光捕集色素を保持するタンパク質複合体であり、光から獲得した励起エネルギーは効率的に反応中心に伝達される。紅藻類は、光化学系 II (PSII) のストロマ側に表在性の光捕集アンテナ複合体であるフィコビリソームを持ち、光化学系I (PSI) の周囲に二次元的に配置された膜貫通型の光捕集色素タンパク質複合体 (LHC) を有する。LHCは緑色植物、紅色進化系統二次共生藻類、緑色進化系統二次共生藻類、および渦鞭毛藻類のPSI及びPSIIにおいても光捕集アンテナとして機能しており、生物種によって異なる様々な種類のクロロフィルとカロテノイドが捕集色素として結合している。分子系統に基づき、紅色進化系統藻類のLHCは6つのサブファミリー (Lhcr、Lhcz、Lhcq、Lhcf、Lhcx、およびCgLhcr9ホモログ) に分類される。紅藻類はLhcrサブファミリーのみを持ち、クリプト藻類はLhcrとLhczサブファミリーのみを有する。 近年、極低温 (クライオ) 電子顕微鏡による立体構造解析の進歩により、報告された立体構造モデルからPSIに結合するLHC (LHCI) の分子集合体の進化過程を議論することが可能となった。しかしながら、紅色進化系統PSI-LHCIの分子進化モデルは、これまで立体構造中におけるサブユニットの空間配置のみに基づいて議論されており、これらは分子系統情報に基づかないため誤った推定を含む問題があった。そこで、紅色進化系統PSI-LHCIの複合体分子進化を立体構造情報と分子系統解析を組み合わせることによって明らかにした。さらに紅色進化系統藻類の珪藻<i>Chaetoceros gracilis</i>において、光防御機構の1つである非光化学的消光 (NPQ) を担うLhcx1の進化的な起源、局在、機能を、ゲノム編集で作出した遺伝子欠損変異体を利用して解析した。 第1章では、LHCIの詳細な系統解析とPSI-LHCIの構造情報を組み合わせることにより、紅色進化系統藻類におけるLHCIのオーソログ関係を明らかにした。その結果、LHCI中の7つのLhcrグループが紅藻亜門において保存されていることを明らかにし			

た。さらに、紅藻類のCyanidioschyzonalesにおけるゲノム縮小と、クリプト藻に至る細胞内共生の過程で、一部のLHCIが失われ、既存のLHCIまたは分化したLHCIによって置換されたことを見出した。特にクリプト藻では、独自に多様化したLhcrが3セットのヘテロ三量体を形成し、PSIのアンテナサイズの拡大に寄与しており、この分類群の現代における生態学的な繁栄につながったと考えられた。そして、これらのLHCIの柔軟なLHCIの再編成を「Neolocalization」と命名した。以上の研究によって、紅色進化系統藻類におけるPSI-LHCIの多様化過程に新たな知見を提供し、LHCIの進化過程を理解するためには、分子系統と構造情報の両方が必要であることを明確にした。

第2章では、紅色進化系統藻類を特徴づけるLHCのサブファミリーであるLhcxサブファミリーの特性と機能について、ツノケイソウ*Chaetoceros gracilis*を対象に以下の観点から重要な知見を得た。(1) 分子系統解析により、珪藻類のLhcxと緑藻類のLhcsrが共通の祖先から進化したことを示した。両者は紅色進化系統藻類に由来し、緑色植物は水平伝播によってLhcsrを獲得したと考えられた。(2) Lhcxの局在に関して、新たに開発されたAmphipol A8-35を用いた分析方法により、CgLhcx1がFCP L-dimerと相互作用することを明らかにした。このL-dimerはC₂S₂M₂ PSII-FCPIIのさらに外側の集光アンテナとして機能していると考えられた。(3) 珪藻細胞全体を用いた時間分解蛍光測定により、非光化学的消光 (NPQ) のシグナルを明確に検出することに成功し、Lhcx1のL-dimerを介した消光がQ1消光 (脱離したアンテナでの消光) に相当することを示した。(4) Lhcx1欠損株 (*lhcx1*) が、強光順化により野生株よりも高いPSII実効量子収率を示すことを認め、アンテナサイズの縮小と炭素固定能の上昇に起因することを明らかにした。また、呼吸鎖が光合成誘導時の重要な電子シンクとして機能していることも明らかにした。さらに、*lhcx1*では色素組成も変化し、DtxやDdxのキサントフィル量の増加を確認した。以上の結果は、ツノケイソウにおける光防御システムが複雑に制御されており、環境適応において重要な役割を果たしていることを示す。その中で、NPQを担うLhcxの欠損に対して複数の代償メカニズムが働くことで、むしろ高い光合成効率を実現できることを明らかにした。

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。

(論文審査の結果の要旨)

紅色進化系統の微細藻類は、海洋の炭素同化を担う一次生産者として重要なだけでなく、漁業資源や持続可能な社会の実現に向けた次世代の生物資源としても利用価値が高い。本論文では、紅色進化系統藻類の光合成を支える光捕集システムの成立過程を明らかにし、その環境適応において中心的役割を持つLhcxサブファミリーの特性と機能を解析した。本論文で評価できる点は以下の通りである。

1. 複合体構造情報と分子系統の統合的な理解により、紅藻におけるゲノム縮退と、紅藻からクリプト藻に至る過程の両方において、一部のLHCIが失われ、既存のあるいは分化したLHCIによって置換されたことを明らかにした。これらのLHCIの柔軟な再編成の現象を「Neolocalization」と命名した。
2. 珪藻類のLhcxと緑藻類のLhcsrが、紅色進化系統に特徴的なLHCサブファミリーから進化したことを明らかにした。Lhcxは珪藻PSII-FCPIIの外部に結合するFCPIIと相互作用すると考えられた。野生株とLhcx1欠損株を比較した時間分解蛍光の結果から、Lhcxが少なくともエネルギー的にC₂S₂M₂複合体から脱離したFCPIIにおける消光を担うことを示した。Lhcx1欠損株ではNPQの誘導能が失われるが、複数の代償メカニズムが働くことで、むしろ高い光合成効率を実現できることを明らかにした。

以上のように、本論文では、構造生物学および分子系統学の観点から紅色進化系統の微細藻類の光捕集タンパク質の分子進化を解析し、その成立過程について従来にない新しいモデルを提唱した。また、珪藻Lhcxによる過剰な光エネルギーの散逸機構の解明に成功した。その成果は、今後の当該微細藻類の利用開発において有用と考えられ、応用生物化学、植物生理学、藻類学の発展に寄与するところが大きい。

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7年1月24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）