HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Mg-dechelatase Encoded by Chlamydomonas Stay-Green is Involved in the Formation of Photosystem II but not in Chlorophyll Degradation [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	陳, 穎
Citation	北海道大学. 博士(生命科学) 甲第13612号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/74324
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	CHEN_YING_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士（生命科学）　　氏　名　　CHEN YING

審査担当者	主査	特任教授	田中　歩
	副査	教　授	藤田　知道
	副査	助　教	伊藤　寿

学 位 論 文 題 名

Mg-dechelatase Encoded by Chlamydomonas *Stay-Green* is Involved in the Formation of Photosystem II but not in Chlorophyll Degradation
（Stay-Green 遺伝子の産物 Mg-脱離酵素はクラミドモナスではクロロフィルの分解ではなく光化学系 II の形成に関与する）

博士学位論文審査等の結果について（報告）

近年、光化学系の形成・分解についての研究が大きく進展してきた。しかしながら、どの様な因子が形成・分解に関わっているのかは不明のままである。本研究はクラミドモナスの光化学系 II の形成における、クロロフィル代謝酵素 Mg-脱離酵素の役割を明らかにすることを目的としたものである。

Mg-脱離酵素（SGR）は、クロロフィル *a* の中心金属である Mg を引き抜き、クロロフィル *a* をフェオフィチン *a* に転換する酵素である。この反応はクロロフィル分解の最初の反応である。そのため、シロイヌナズナのような維管束植物においては、SGR は老化過程においてクロロフィル分解を制御する重要な酵素であり、SGR 欠損株はクロロフィルを分解できず Stay green の形質を示す。一方、フェオフィチン *a* は光化学系 II の初期電化分離を担う分子で、光化学系 II の機能には必要不可欠であるため、SGR が光化学系 II の形成にも関わっていることが考えられる。

まず著者はクラミドモナスの SGR 欠損株を用い、SGR の光化学系 II の形成に関する役割を調べた。SGR 欠損株は炭素源の存在に関わらず野生型に比べ増殖が遅く、光化学系 II の活性を測定したところ、野生型に比べ低い値を示した。このことは、SGR が光化学系 II の機能発現に関与していることを示している。この点を明らかにするため、Blue-native polyacrylamide gel electrophoresis（BN-PAGE）を用いて光化学系を分離した。その結果、LHCII や光化学系 I については野生型と SGR 欠損株の間で大きな違いは見られなかったが、光化学系 II に関連する複合体が SGR 欠損株で大きく減少していた。さらに、抗体を用いた実験において、光化学系 II のサブユニットである D1、D2、CP43 や CP47 が、SGR 欠損株では野生型の 1/4 以下に減少していた。

また、クラミドモナス細胞の蛍光スペクトルを調べたところ、SGR 欠損株では光化学系 II に由来する蛍光の減少が見られたが、光化学系 I 反応中心である P700 を定量すると、SGR 欠損株と野生型には大きな違いはなかった。さらに光化学系 II に 2 分子存在するフェオフィチン *a* は、SGR 欠損株では野生型に比べ約半分しか蓄積しなかった。これらの結果は、クラミドモナスでは SGR がフェオフィチン *a* を供給することで光化学系 II の形成に関与していることを示している。

シロイヌナズナやイネの研究から、SGR がクロロフィルの分解に関与することが明らかになっている。そこで、窒素欠乏によってクロロフィルの分解を誘導し、SGR の影響を調べた。しかし、SGR 欠損株と野生型にはクロロフィルの分解には大きな違いはなかった。このことは、クラミドモナスにおいて SGR はクロロフィルの分解に関与していないことを示している。

次にシロイヌナズナにおいて、SGR の機能を詳しく検討した。シロイヌナズナは 3 つの SGR 遺伝子（SGR1、SGR2、SGRL）を持っている。SGR の機能を調べた従来の研究は SGR1 と SGR2 の変異株を用いていたため、SGR の触媒機能が残っていることが考えられる。そこで、SGR の機能を完全になくした SGR1 SGR2 SGRL の 3 重変異体を作成した。3 重変異体では、光化学系 I と光化学系 II が野生型と同じように蓄積し、植物体の大きさも 3 重変異体と野生型で違いが見られなかった。しかし、自然老化、暗所強制老化において、3 重変異体は強い Stay green の形質を示した。このことは、シロイヌナズナでは SGR は光化学系 II の形成には関与しておらず、クロロフィル分解において重要な役割を果たしていることが解った。

最後に、クラミドモナス SGR とシロイヌナズナ SGR が酵素機能として異なるのかを検討した。以前の報告で、両方の SGR は同じようにクロロフィル *a* からＭｇを脱離する活性を持っており、触媒機能としては同じであることが報告されている。そこで、SGR が、存在する細胞によってその生理的機能が異なる可能性を明らかにするため、クラミドモナス SGR をシロイヌナズナの SGR 欠損株に導入した。このシロイヌナズナの形質転換株は老化時にクロロフィル分解を誘導した。このことから、細胞内環境の違いが SGR の異なった生理的機能を生み出していると考えられる。

これらの実験から、Mg-脱離酵素 SGR は、シロイヌナズナではクロロフィルの分解、クラミドモナスでは光化学系 II の形成に関与していることが本研究によって初めて示された。

これを要するに、著者は、SGR の生理的機能について新知見を得たものであり、光合成研究に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。