HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	クロロフィルタンパク質複合体の構築と分解に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	下田, 洋輔
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11405号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55743
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yousuke_Shimoda_review.pdf, 審査の要旨

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　　下田　洋輔

審査担当者
主　査　教　授　田 中　歩
副　査　教　授　山 口 淳 二
副　査　准教授　藤 田 知 道

学 位 論 文 題 名

クロロフィルタンパク質複合体の構築と分解に関する研究

博士学位論文審査等の結果について（報告）

近年、クロロフィル（Chl）代謝研究は大きな進展を見せ、代謝に関わるほぼすべての酵素遺伝子が単離された。Chl 合成系に関しては、酵素的な研究も進展し、代謝経路が確定している。さらに、Chl *a* 分解についても、多くの研究グループによって活発に研究が行われ、現在までに Mg-dechelatase を除くすべての Chl *a* 分解酵素が同定され、分解経路が確定された。一方、Chl *b* の分解については、未解決な点が残されている。Chl *b* の分解経路は酵素の基質特異性の研究が遅れているため、正確な経路が未定のままである。また、光化学系の形成分解は Chl の合成分解と密接な関係にあるが、その機構については不明な点が多い。本論文は、Chl *b* 分解経路とその生理的役割、そして光化学系の形成分解の解明を目指したものであり、以下の成果を得た。

Chl *b* は、Chl *b* 還元酵素（CBR）により、7 位のフォルミル基がヒドロキシメチル基に還元され、7-hydroxymethyl chlorophyll *a* (HMChl *a*)になる。さらに HMChl *a* 還元酵素(HCAR)により、ヒドロキシメチル基がメチル基に還元され、最終的に Chl *a* に変換されて分解が進む。しかしながら、CBR は、Chl *b* だけでなく、葉緑体に存在しうる中心金属の Mg を失った Pheophytin *b* (Phein *b*)やさらにフィチル基を失った Pheophorbide *b* (Pheide b)などの Chl *b* 派生物のフォルミル基を還元し、幅広い基質の特異性を示す。このことから、複数の Chl *b* 分解経路が提案されているが、実際どの経路で Chl *b* が分解されるのかに関しては、実験的な証拠はなかった。

CBR の基質特異性は極めて広い。そのため、Chl b 分解経路を決定するための鍵は、HCAR の基質特異性にある。そこで、まず HCAR の組み換えタンパク質を用いて、基質特異性を調べた。その結果、HCAR は、HMChl *a* を基質にするが、中心金属を失った HMPhein *a* と HMPheide *a* は基質にすることができなかった。この結果から、フォルミル基のメチル基への転換において、Chl *b*→HMChl *a*→Chl *a* が唯一の経路であることが示された。

さらに、植物が何故この経路を採用したかを解明するため、Chl *b* が通常の経路では分解されず、Mg-dechelatase が先に働き、HMPheide *a* や Pheide *b* を蓄積する形質転換株を作製した。その結果、蓄積した HMPheide *a* や Pheide *b* が細胞死を誘導することが解った。これらの結果から、(1) Chl *b* の分解経路は、Chl *b*→HMChl *a*→Chl *a* の順に還元され、そのあとに Mg の離脱が起こること、(2) それ以外の経路で分解されると細胞死が誘導されることが明らかになった。

次に、Chl-タンパク質複合体の構築機構、特に光化学系 II (PSII) に関する研究を行った。合成された Chl がどのようにして Chl-タンパク質複合体のアポタンパク質へ組み込まれるのか、あるいは Chl 合成経路と光化学系の Chl-タンパク質複合体がどのように協調して合成されていくのかについては不明である。高等植物の場合、コアアンテナの Chl-タンパク質複合体欠損体はアルビノ、あるいは致死を示すためである。本研究では、PSII に焦点を絞り、Chl が光化学系に組み込まれてから光合成色素として機能するまでの反応過程を解明することを最終目的とし、まず PSII 構築機構に関わる制御因子を同定することで、PSII 構築の過程を明らかにしようとした。そこで、緑藻クラミドモナスを用いた PSII 異常変異体のスクリーニングを行い、約 7 万の変異体プールから PSII 異常変異体を多数単離した。次に、TAIL-PCR によって網羅的に PSII 異常変異体のタグの挿入位置を決定した。最終的に、相補テストを行うことで、3 つの PSII 異常変異体について新規の原因遺伝子を同定することができた。

本研究では、陸上植物の Chl *b* 分解経路を確定することができた。また、緑藻から PSII 異常変異体を多数単離し、その中から 3 つの PSII 構築に関与する新規因子を同定することができた。

以上のように、著者は Chl *b* の分解経路とその生理的役割を明らかにし、また光化学系 II の形成機構についても多くの知見を得、光合成研究に貢献した。

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。