



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Dynamics of chlorophyll b in the photosystems of <i>Arabidopsis thaliana</i> [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	贾, 婷
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第12270号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61785
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Ting_JIA_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 Ting JIA

学 位 論 文 題 名

Dynamics of chlorophyll *b* in the photosystems of *Arabidopsis thaliana*
(シロイヌナズナにおけるクロロフィル *b* の動態)

近年、様々な光合成生物のゲノム情報の充実や、光化学系複合体の構造解明の進展を受けて、精密な光合成の解析が行われている。その一方で、光化学系複合体の形成や分解については未解明な部分が多い。本研究において、シロイヌナズナを材料とし、クロロフィル *b* の合成、分解を制御し、クロロフィル *b* の動態を解析した。この結果より、クロロフィル *b* と光化学系の構築、分解の詳細な関係が明らかになった。

光合成装置は光化学系 I、II よりなる。それぞれの光化学系はコア複合体と周辺アンテナ複合体よりなっている。植物はクロロフィルとしてクロロフィル *a* とクロロフィル *b* を持つ。クロロフィル *b* はクロロフィリド *a* オキシゲナーゼ (CAO) によってクロロフィル *a* より合成される。クロロフィル *a* はコア複合体、周辺アンテナ複合体の両方に存在するが、クロロフィル *b* は周辺アンテナ複合体にしか存在しない。光環境によって変動する周辺アンテナ複合体の量は、クロロフィル *b* の量に依存することが知られている。そのため CAO を持たずクロロフィル *b* を合成できない変異体では、周辺アンテナ複合体の量は大幅に減少している。

第一章において、クロロフィル *b* の合成と光合成装置の構築の関係を調べた。クロロフィル *b* が光合成装置の構築に重要な役割を果たしていることは古くから知られていた。しかし、適切な実験系がなかったため、これまで実証的な結果は十分には報告されてこなかった。そこで本研究において、成長した植物においてクロロフィル *b* を後発的に合成し、光合成装置の構築過程を調べる実験系を確立した。まずクロロフィル *b* を持たないシロイヌナズナの変異体に、クロロフィル *b* を合成する CAO をデキサメタゾンにより条件的な誘導ができる形質転換体を作製した。この形質転換体をデキサメタゾンで処理したところ、クロロフィル *b* が蓄積し、後発的に誘導された CAO も酵素として機能することが示された。光化学系のタンパク質の蓄積を調べたところ、クロロフィル *b* の合成に伴って周辺アンテナ複合体のタンパク質が顕著に増加していた。また、新しく合成された周辺アンテナ複合体が、コア複合体と結合し、野生株と同様の巨大複合体を形成していた。このことは、成長が終了し、完成した葉緑体内でも新規な光化学系複合体が形成できることを示していて、光合成装置の柔軟性を示している。また、光化学系 I と II の数とその周辺アンテナ複合体の大きさを調べたところ、クロロフィル *b* の合成によって光化学系の数と周辺アンテナ複合体の大きさが光化学系 I と II で異なる増加量を示した。しかし、光化学系 I と II の励起される比率はバランスがとれるような変化を示していた。このことは光化学系の励起を調節し、光化学系 I から光化学系 II への電子の流れのバランスを取るという、光合成の基本的な原則を新しい実験系により証明したことを意味している。

第二章において、クロロフィル *b* の合成、分解にかかわる遺伝子、およびタンパク質の発現量を詳細に調べた。クロロフィル *b* の合成、分解は周辺アンテナ複合体の量に直接関与するため、光環境適応などにおいて重要な役割を果たしている。しかしクロロフィル *b* の分解にかかわる因子がすべて明らかになったのは比較的最近のことであるため、クロロフィル *b* の合成、分解の制御については不明な点が多い。そこで本研究において、クロロフィル *b* の合成、分解にかかわる様々な変異体を利用して、クロロフィル *b* の合成、分解にかかわる

遺伝子や酵素について解析を行った。クロロフィル *b* は CA0 だけによって合成される。クロロフィル *b* の分解は二段階の還元反応よりなり、最初の還元反応は相同性のある NYC1、NOL と呼ばれる酵素が担っている。これらの酵素によりクロロフィル *b* は還元され、さらにもう一段階、単独の酵素によって還元されクロロフィル *a* に戻る。その後はクロロフィル *a* の分解経路によって分解が進む。クロロフィル *b* を合成できない変異体、クロロフィル *b* を過剰に蓄積する変異体などにおいて、クロロフィル *b* の合成、分解にかかわる遺伝子の発現量を調べた。その結果、すべての変異体において、遺伝子の発現量に違いは見られなかった。このことは、それぞれの基質の量が遺伝子の発現量には影響を与えていないことを意味している。次にそれぞれの酵素の蓄積量を調べた。その結果、クロロフィル *b* の分解にかかわる NYC1 がクロロフィル *b* を蓄積しない変異体では検出されなかった。調べた中では、この NYC1 だけが遺伝子の発現量とタンパク質の蓄積量が一致しなかった。NYC1 は遺伝子が発現しているにもかかわらずタンパク質が検出されなかったことから、転写後調節が行われていることが明らかとなった。この NYC1 はクロロフィル *b* を合成できない変異体では蓄積しなかったことから、クロロフィル *b* を合成する酵素、つまり CA0 と複合体を作り安定していることが予想されたので、複合体の有無を検討した。非変性一次元電気泳動、変性二次元電気泳動を行い、イムノブロットにより NYC1 と CA0 を検出したところ、両者は複合体を作っていないことが示された。解析に使った様々な変異体の周辺アンテナ複合体の量を、クロロフィル蛍光により見積もったところ、NYC1 との相関がみられた。このことから、エネルギー伝達に関与していない周辺アンテナ複合体が何らかの方法により NYC1 を安定化していることが示された。周辺アンテナ複合体に存在する過剰なクロロフィル *b* を NYC1 が分解すると仮定した場合、この結果は合理的だと考えられる。

第三章において、クロロフィル *b* 分解酵素の NOL の過剰発現体のクロロフィル *b* の量を調べた。クロロフィル *b* 分解酵素の NOL の組換えタンパク質がクロロフィル *b* を分解できることについては既に報告されていた。しかし NOL を過剰発現した場合、実際に植物内においてクロロフィル *b* を分解するかどうかについては報告がなかった。NOL の過剰発現した形質転換体のクロロフィル *b* の蓄積量を調べたところ、一つの個体において、どの葉でも NOL の蓄積量に違いは見られなかった。しかしクロロフィル *b* の量を測定したところ、新しい葉に比べて古い葉では顕著にクロロフィル *b* の量が減少していた。また、それに伴って周辺アンテナ複合体の量も減少していた。このことからクロロフィル *b* 分解酵素が周辺アンテナ複合体の大きさを制御できることが示された。また、クロロフィル *b* の分解において、NOL 以外の何らかの因子がクロロフィル *b* の分解を補助していることが示唆された。

以上より、本研究において、クロロフィル *b* が光合成装置の構築に重要な役割を果たすこと、またそのためクロロフィル *b* の合成が様々な制御を受けていることが示された。この成果は、光合成を理解するうえで、基礎的で普遍的な知見を提供している。