



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	光化学系IIの構築に関わるONE-HELIX-PROTEIN1複合体の解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	前田, 華希
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第14833号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85991
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hanaki_Maeda_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 前田 華希

学位論文題名

光化学系 II の構築に関わる ONE-HELIX-PROTEIN1 複合体の解析

陸上植物を含む酸素発生型の光合成生物は2種類の光化学系 (Photosystem I, II : PS I, PS II) と呼ばれる色素タンパク質複合体で光エネルギーを吸収する。本研究で主題として扱う光化学系 II (PS II) は光エネルギーを用いて水を酸化し、電子伝達の起点の役割を担う酸化還元酵素である。PS II は葉緑体のチラコイド膜に内包される、20種類以上のサブユニットから構成された巨大なタンパク質複合体である。PS II はその構成サブユニットの多さから、*de novo* 合成の際は、中心のサブユニット (D1、D2) に周辺のサブユニットが順に結合していく段階的な過程を踏む。PS II は光合成に必要不可欠な酵素であるが、一方で、強光ストレスに弱く、光強度に比例して複合体が損傷を受け、分解されるという性質がある。これは、吸収した過剰な光エネルギーにより活性酸素が発生し、この活性酸素が反応中心サブユニットである D1 に損傷を与えることに起因する。損傷を受けた D1 を含む PS II は、複合体を一時的に分解され、新しく合成された D1 が置換された後、再度複合体が構築される。この過程を *repair cycle* と呼ぶ。

PS II は *de novo* 合成でも、*repair cycle* でも構築に段階的な過程を踏むことが知られているが、それらの構築過程がどの程度共通しているのかは不明である。また、この構築過程には完成した PS II に含まれないいくつかの補助タンパク質が関与することが報告されているが、これらの補助タンパク質が構築のどのタイミングで、どのような役割を担うのかは未解明な点が多く残っている。

われわれの研究室では2017年より、陸上植物の PS II *de novo* 合成の初期に見られる構築中間体に着目して研究を進めており、この複合体が反応中心である D1、D2 の他に、補助タンパク質である ONE-HELIX-PROTEIN1 (OHP1) を結合することを明らかにした。加えて、OHP1 複合体と名付けたこの複合体を精製し、関与する他の補助タンパク質を同定しようと試みてきた。しかしながら、OHP1 複合体は細胞内の存在量が少なく、精製過程で壊れやすいという性質があるため、精製した結果検出される複合体の種類や量が安定しないという課題を抱えていた。そこで本研究では、OHP1

複合体の精製方法を改良することで構成サブユニットを同定し、関与する補助タンパク質の機能解明を目的として研究を行った。

精製方法の改良の結果、OHP1 複合体は、D1、D2、Cytochrome b_{559} に加えて、3種類の補助タンパク質（OHP1、OHP2、High-Chlorophyll-Fluorescence 244 : HCF244）を安定して結合することが示された。一方、先行研究で結合する可能性が示唆されていた HCF136、RubA、APE1 は精製された OHP1 複合体のうち、ごく一部に結合していることが示唆された。さらに、OHP1 複合体の分光学的性質を解析し、OHP1 複合体が余剰に吸収した光エネルギーを熱として放散する仕組みを持つことを示した。また、OHP2 と HCF244 のチラコイド膜内の分布を解析し、PS II の構築の初期段階がチラコイド膜のグラナマージン、及び/あるいは、ストロマラメラと呼ばれる領域で行われる可能性を提示した。さらに、本研究室で作製した OHP2 のノックダウン株（OHP2-RNAi 株）を用いて、*de novo* 合成より repair cycle が盛んに行われると考えられる強光ストレス条件下で、損傷を受けた PS II の割合を示す Fv/Fm を測定した。その結果、WT と比較して OHP2-RNAi 株では Fv/Fm の大幅な低下が認められたため、OHP2 が *de novo* 合成だけでなく、repair cycle にも関与することが示唆された。