



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_review.pdf, 審査の要旨



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 前田 華 希

審査担当者	主査	教授 田 中 亮 一 (低温科学研究所)
	副査	教授 藤 田 知 道
	副査	助教 高 林 厚 史 (低温科学研究所)

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

博士学位論文審査等の結果について (報告)

本論文の主題である光化学系 II は、光合成反応において、光エネルギーを用いて水を還元し、電子伝達を行う酸化還元酵素として機能する。光化学系 II は 20 種類以上のサブユニットから構成される巨大な複合体であり、植物の光合成において必須の酵素であるが、一方で、光感受性が高く、強光ストレスによって複合体が損傷を受け、分解されることが知られている。これに対し、植物細胞内では、30 分程度の短い時間スケールで、光化学系 II を構築し直すことで光合成活性を維持している。光化学系 II のこのような特徴から、光化学系 II の構築と分解・修復は光合成研究において、重要な課題の一つである。

光化学系 II の構築は、反応中心サブユニットである D1 サブユニットに、D2 サブユニットが結合し、次いで、周辺のサブユニットが順に結合する段階的な過程を踏むことが知られている。また、構築過程には完成した光化学系 II には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。しかしながら、どのような補助タンパク質が構築過程のどの段階で関与するのか、それぞれの補助タンパク質にはどのような役割があるのか、構築過程と修復過程で、同一の補助タンパク質が関与するのか、といった様々な疑問が残されている。本論文は、光化学系 II の構築と修復に焦点を当て、その過程に関与する補助タンパク質の同定や機能を解析することで、構築と修復の制御機構を明らかにすることを目的としている。

申請者は光化学系 II の D1 サブユニットと D2 サブユニットが結合した段階の構築中間体に着目して研究を行った。始めに、この複合体に関与することが知られている、OHP1 と呼ばれる補助タンパク質に FLAG タグを付加した OHP1-FLAG を過剰発現するシロイヌナズナの形質転換株から、FLAG アフィニティー精製を行い、OHP1 複合体と名付けた複合体の精製を行った。次に、精製した OHP1 複合体に含まれるタンパク質を解析し、D1、D2 サブユニットの他に、OHP1、OHP2、HCF244 と呼ばれる 3 種類の補助タンパク質が安定して結合することを明らかにした。また、先行研究から OHP1 複合体に結合する候補としてあげられていた補助タンパク質である HCF136、APE1、RubA は精製された OHP1 複合体のうち、ごく一部に結合することが示唆された。さらに、OHP1 複合体の蛍光スペクトルおよび時間分解クロロフィル蛍光測定によってクロロフィル蛍光寿命を解析し、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、光化学系 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、OHP2 のノックダウン株 (OHP2-RNAi 株) を用いて、光化学系 II の構築より修復が盛んに行われると考えられる強光ストレス条件下で、損傷を受けた光化学系 II の割合を示す光化学系 II の最大量子収率 F_v/F_m を測定した。その結果、WT と比較して OHP2-RNAi 株では F_v/F_m の大幅な低下が認められたため、補助タンパク質である OHP2 が構築だけでなく、修復にも関与す

ることが示唆された。

これを要するに、著者は、光化学系 II の初期の構築中間体である OHP 1 複合体と関与する補助タンパク質の性質、並びに機能について新知見を得たものであり、植物の光合成研究において重要な分野である光化学系 II の構築機構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。