



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                                       |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | An integrated study on the molecular mechanisms for sustained photosynthetic thermal dissipation in overwintering yew leaves [an abstract of entire text]             |
| Author(s)           | 叶, 子豪                                                                                                                                                                 |
| Description         | この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。<br><a href="https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/">https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/</a> |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                                 |
| Degree Name         | 博士(環境科学)                                                                                                                                                              |
| Dissertation Number | 甲第16224号                                                                                                                                                              |
| Issue Date          | 2025-03-25                                                                                                                                                            |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/95343">https://hdl.handle.net/2115/95343</a>                                                                                     |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                                       |
| File Information    | YE_Zihao_summary.pdf                                                                                                                                                  |



## 学 位 論 文 内 容 の 要 約/Dissertation Summary

博士 (環境科学)

氏 名/Applicant 叶 子豪

## 学 位 論 文 題 名/Title of Dissertation

An integrated study on the molecular mechanisms for sustained photosynthetic thermal dissipation in overwintering yew leaves

(越冬中のイチイの葉における光合成の熱放散の分子メカニズムに関する統合的研究)

光合成は、光の吸収、アンテナ系内での励起エネルギー伝達、電子伝達、NADPH の生成など、複数の反応からなる複雑な代謝過程である。植物において、光合成は主に光化学系 I (PSI) および光化学系 II (PSII) によって行われる。これらの複合体は、それぞれの集光アンテナ系を含む色素-タンパク質複合体から構成され、光エネルギーを吸収して光化学反応を駆動し、最終的に細胞活動に不可欠な ATP と NADPH を生成する。寒冷圏の植物においては、気温が低い時期に、光の吸収と NADPH の生成・消費のバランスが崩れ、酸素分子が電子を受け取ることによって、細胞内で活性酸素が発生し、細胞が障害を受ける危険性が高まることが知られている。そこで、寒冷圏の常緑樹は、冬季には、吸収した光エネルギーの大半を熱として放散することで、電子伝達を抑制し、活性酸素の過剰な発生を防いでいる。このような現象は光合成における持続的熱放散として知られているが、その分子メカニズムは明らかになっていない。

常緑樹における持続的熱放散のメカニズムについては、熱放散能力を持つ色素の蓄積、光化学系の再編成、光化学系サブユニットの分解、低温ストレスによるタンパク質リン酸化、PSII から PSI への励起エネルギー移動 (スピルオーバー) など、いくつかの仮説が提唱されている。これらの仮説を検証し、持続的熱放散の分子機構を解明するために、この学位論文では、北大キャンパス内のニホンイチイ (*Taxus cuspidata*) を材料とし、日向側および日陰側の葉、さらには異なる葉齢の葉における光合成に関する各種の測定や光合成色素の測定、光合成タンパク質の量の比較、RNA-Seq、時間分解クロロフィル蛍光測定などの多角的な解析を組み合わせ、持続的熱放散の分子メカニズムの解明に迫った研究内容を報告した。

本研究では、まず、持続的熱放散の誘導タイミングをより正確に把握するために、光照射条件下での実際の PSII の光合成効率を示す  $Y(II)$  を測定した。これまでの研究が  $Y(II)$  を月単位または季節単位で測定していたのに対し、本研究では週単位の測定を行うことで、 $Y(II)$  の動的变化を詳細に捉えた。その結果、 $Y(II)$  は温度と明確な線形関係を示すことが明らかとなった。

クロロフィルは光化学系内に一定の比率で結合しているため、その組成の変化は光化学系の構成変化を反映する。本研究では、複数年にわたる光合成色素の測定により、クロロフィル *a* および *b* は年間を通じて比較的安定した蓄積パターンを示すことを確認した。すなわち、これらの結果

は、ニホンイチイの光化学系が年間を通して、一定の比率で蓄積していることを示している。一方、ゼアキサンチンやルテインなどのカロテノイドは冬季に顕著に蓄積し、Y(II) の減少と強い線形相関を示すことが明らかとなった。

PSII の主要サブユニットである D1 タンパク質や PSII の集光複合体 (LHCII) は年間を通じて安定して蓄積していた。従来の研究では、他の常緑樹において冬季に PSII の量が大幅に減少することが報告されていたが、本研究ではそのような減少は観察されなかった。この安定性と色素データを踏まえると、D1 の分解を伴う典型的な光障害はイチイでは起こらなかったと考えられる。

さらに、本研究の核心的な知見は、年間を通じたトランスクリプトーム解析から得られた。RNA-Seq 解析により、第一に、日向葉と日陰葉の光強度は大きく異なるにもかかわらず、両者のトランスクリプトーム発現パターンは驚くほど類似していることが判明した。第二に、ELIP (Early Light-Induced Protein) の mRNA が総トランスクリプトームの 20% を占め、タンパク質レベルにおいても (分子数に換算すると) 主要な LHCII とほぼ同等量で存在することが示された。従来の限られた時点での測定に基づく研究とは異なり、本研究では ELIP タンパク質および mRNA の季節変動を明らかにし、持続的熱放散との相関を示した。

また、構造予測の結果、ELIP の構造は LHC に類似しているが、ELIP の 3 つのヘリクスのうち、2 番目のヘリクスの位置が LHC とは大きく異なると予想された。2 番目のヘリクスの位置はクロロフィル *b* の結合に影響を及ぼすため、構造予測の結果からは、ELIP がクロロフィル *a* とカロテノイドを結合し、クロロフィル *b* は結合していないことが示唆された。これは、以前報告されたエンドウの ELIP の精製実験の結果と一致している。

先行研究では、光化学系内部での熱放散の発生する部位について、PSII コア内で起こるとする説と、PSI を消光部位とする PSII-PSI 超複体内で起こるとする説が存在した。本研究では、時間分解クロロフィル蛍光測定により、冬季に PSII 周辺アンテナで約 30 ピコ秒の時間スケールで強い熱放散が生じていることを明らかにした。また、冬季におけるスピルオーバーの増加は観察されなかった。

これらの結果に基づき、本研究では、ELIP がクロロフィルとゼアキサンチンを結合し、冬季に PSII 周辺アンテナ内で熱放散を促進するという新たな仮説を提案した。すなわち、この仮説では ELIP がクロロフィルとゼアキサンチンを結合し、PSII アンテナ内で消光因子または調節因子として機能し、冬季のエネルギー放散を促進すると考える。本研究におけるトランスクリプトームや光化学系の変化に関する結果から、このメカニズムは寒冷圏の常緑樹が極限環境に適応する戦略の一つであると考えられる。本研究は、持続的熱放散メカニズムの理解を深めるとともに、冬季における常緑樹の光ストレス耐性に関する新たな知見と仮説、および、北方圏常緑樹の生態系理解に貢献する基盤的知識を提供した。