

論文内容の要旨

申請者氏名 上妻 馨梨

強光乾燥ストレス下では余剰な光エネルギーによる傷害が起きやすいが、このとき、光合成の場であるチラコイド膜の電気化学ポテンシャルがどのように制御されているについては知見が少ない。そこで、強光乾燥耐性の C_3 植物である野生スイカを用いて、チラコイド膜タンパク質の挙動を解析した。その結果、葉緑体 ATP 合成酵素の ϵ サブユニットの蓄積量が強光乾燥ストレスにより特異的に減少することが見出された。そこで、この時期をストレス中期として以下の実験を行った。 ϵ サブユニットはチラコイド膜ルーメンからストロマへのプロトンの流れと ATP 合成を共役させるのに重要な役割を担う。従って、 ϵ サブユニットの消失によりプロトンがストロマへ漏出することが予想された。そこで酸素電極や pH プローブを用い、単離チラコイド膜の共役率を解析した。その結果、ストレス葉由来のチラコイド膜は共役率が低下しており、組換え ϵ サブユニットの添加に伴い共役率は復帰した。また、Electrochromic shift (ECS) 解析によりチラコイド膜のプロトン透過度を *in vivo* で解析したところ、ストレス中期ではプロトン透過度が上昇する実験結果が得られた。以上の解析から、野生種スイカはストレス中期において、 ϵ サブユニットの選択的分解によりチラコイド膜の共役率を低下させていることが示唆された。

次に、野生種スイカにさらに長期のストレスを付与し、チラコイド膜タンパク質の挙動を観察した。その結果、葉緑体 ATP 合成酵素の他サブユニットも減少し、複合体全体の蓄積量が低下していることが示唆された。この時期をストレス後期として、ECS 解析によりチラコイド膜を介したプロトンの透過度や流量を解析した。その結果、直鎖型電子伝達量当たりのプロトン透過流量は、ストレス後期において顕著に大きいことが見出された。また、methyl viologen を浸潤させたリーフディスクを用いて同様の測定を行なったところ、プロトン透過流量の顕著な低下が見られた。これらの実験結果は、強光乾燥ストレス下の野生種スイカ葉において、光化学系 I 循環的電子伝達経路が活性化していることを示唆していた。さらに、ストレス後期のチラコイド膜は、ストレス中期とは異なり、そのプロトン透過度が 4 分の 1 に低下していることが明らかとなった。このプロトン透過度低下の一因として、プロトンチャネルである ATP 合成酵素複合体の蓄積量がストレス後期において顕著に低下していることが考えられた。これらプロトン透過度の低下と、光化学系 I 循環的電子伝達経路の活性化は、ストレス後期において余剰光を熱散逸させる qE を誘導するために重要であると示唆された。

本研究の結果、野生スイカは強光乾燥ストレス下において、葉緑体 ATP 合成酵素の構造や蓄積量を変化させ、また光化学系 I 循環的電子伝達を活性化させることで、チラコイド膜の電気化学ポテンシャルを調節することが示された。これらの結果は、余剰光に暴露される植物の光合成エネルギー代謝制御を理解する上で、新しい知見を提供した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 上妻 馨梨

申請者は、植物光合成の中枢を担う葉緑体チラコイド膜における電気化学ポテンシャルの制御機構について、特に強光乾燥ストレス下における挙動を中心に研究遂行してきた。その過程で、葉緑体 ATP 合成酵素がそのサブユニット構成や蓄積量をストレス下で変化させること、またこれらの変化が、チラコイド膜の電気化学的ポテンシャル制御に大きな影響を及ぼすことを明らかとした。従来までの研究においては、葉緑体 ATP 合成酵素の研究は *in vitro* での生化学的解析が専らであり、本酵素の *in vivo* 挙動、特に環境ストレス下における挙動についてはほとんど判明していなかった。申請者の本論文は、葉緑体チラコイド膜の主要なプロトンチャネルである ATP 合成酵素が、ストレス初期においてエプシロンサブユニットを消失させ、またストレス後期において複合体全体の蓄積量を減少させることを初めて示したもので、ストレス下の光合成電子伝達およびチラコイド膜の電気化学的ポテンシャル制御を理解する上で重要な知見を報告した。

さらに本論文では、チラコイド膜の電気化学的ポテンシャルを解析するに当たり、Electrochromic shift (ECS) を利用した非破壊的解析を、強光乾燥ストレス応答の研究に導入している。ECS は、光照射下においてチラコイド膜の内外に形成される膜電位に依存して、カロテノイドの吸収波長スペクトルが長波長へシフトする現象を利用して、そのシフト前後の差スペクトルからチラコイド膜の電気化学的ポテンシャルを測定する手法である。本方法は、チラコイド膜を介したプロトン流量や透過度を測定することのできる極めて強力な実験手法であるが、高度な測定技術と測定装置を要し、世界の光合成研究においても数か所の研究室において研究が先行しているにすぎない。本論文では、ECS 解析における世界的権威であるワシントン州立大学の David Kramer 教授グループとの共同研究の成果を報告しており、環境ストレス下におけるチラコイド膜の電気化学的ポテンシャルの動態を初めて記述した例である。特に、本方法を用いて、光化学系 I 循環的電子伝達経路の流量を定量的に測定することに初めて成功していることは特筆に値する。

以上のように、本論文は、環境ストレス下における植物光合成エネルギー代謝を理解する上で基礎的知見を提供するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。