

Title	高等植物フェレドキシンの機能分化に関する生化学的, 細胞生物学的研究
Author(s)	松村, 智裕
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39912
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	まつ 松 むら 村 とも 智 ひろ 裕
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 2 3 3 1 号
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物化学専攻
学位論文名	高等植物フェレドキシンの機能分化に関する生化学的、細胞生物学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 長谷 俊治 (副査) 教授 倉光 成紀 教授 福山 恵一

論 文 内 容 の 要 旨

植物のフェレドキシン (Fd) は、活性中心として [2Fe-2S] クラスターを持ち、生体内で起こる種々の酸化還元反応に電子を伝達する電子キャリアータンパク質である。高等植物の Fd には、光合成器官に存在する Fd と非光合成器官に存在する Fd の 2 種類の Fd イソタンパク質が見出されている。本研究では、トウモロコシ Fd イソタンパク質を材料にして、光合成器官及び非光合成器官に存在する Fd の機能分化について、生化学的、細胞生物学的な手法を用いて解析を行った。

1) トウモロコシの Fd は、タンパク質レベルでの解析から、光合成器官にのみ存在する Fd I, Fd II と、主に非光合成器官に存在する Fd III, Fd IV とに大別される。このうち、Fd I, Fd II, Fd III について cDNA をクローニングし、その遺伝子の発現解析を行った。Fd I, Fd II は光合成器官のみで発現し、光によって発現が誘導された。Fd III は光合成器官、非光合成器官の両方で発現したが、光による発現誘導は観察されなかった。これらの発現パターンは、タンパク質の挙動とよく一致しており、Fd の発現が転写段階で制御されていることを示唆している。さらに Fd I と Fd II は、2 つの光合成細胞、葉肉細胞 (MC) と維管束鞘細胞 (BSC) における分布が異なっていた。BSC 特異的な Fd II は、酸性残基として完全に保存されている 65 番目のアミノ酸残基が Asn になっていた。この部位は、FNR (Fd-NADP⁺還元酵素) との静電的な相互作用部位であることが示唆されており、Fd II は FNR を経由する電子伝達体としては不利な構造を有していることが明らかになった。

2) クローニングしたトウモロコシの Fd イソタンパク質の大腸菌発現系を利用して、生化学的解析を行った。Fd I と Fd III の電子伝達活性を比較すると、Fd I は光化学系 I から電子を受け取り FNR を介した NADP⁺ の光還元を行う反応系で、Fd III は NADPH から FNR を介して電子を受け取りチトクローム c を還元する反応系で、優れた活性を持つことがわかった。Fd は、光合成器官では光化学系 I によって還元され、非光合成器官では、NADPH によって還元されることから、Fd I と Fd III は、エネルギー代謝という観点から考えて、合理的な電子伝達特性を持っていると判断される。また、Fd II の FNR への電子伝達活性は、Fd I の約 50% であり、光合成非循環経路の電子伝達機能は低下していると考えられた。

3) トウモロコシの Fd I (光合成型 Fd) と Fd III (非光合成型 Fd) の *in vivo* における機能特性の違いを検討するために、これらの分子をラン藻 *Plectonema boryanum* 内で発現して解析する系の開発を試みた。クローニングした *P. boryanum* の内生 Fd 遺伝子 (*petF*) を破壊し、Fd I, Fd III を発現させたところ、Fd I を発現した株でのみ

*petF*欠損株が単離できた。Fd Iで相補した*petF*欠損株は、光独立栄養条件下において、野生株と同程度の光合成酸素発生活性を示し、野生株と同様に生育した。しかしながら、培地にグルコースを加えて暗所で従属栄養的に生育させたところ、ほとんど生育しなかった。これらの結果は、Fd Iはラン藻Fdの光合成的な機能は相補するが、非光合成的な機能は相補できず、Fd Iが光合成型Fdとして機能分化したFdであることを強く示唆する。Fd III発現株では、*petF*欠損株が得られないことから、Fd IIIはラン藻内では光合成的機能を発揮できないと判断される。さらにFd IIIと*PetF*の両分子を発現しているラン藻の増殖能は、光独立栄養条件下では著しく低下し、Fd IIIの発現は*PetF*の光合成的な機能を阻害する状況をもたらすことが観測された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、電子キャリアー蛋白質であるフェレドキシン (Fd) が、高等植物では構造や機能の異なるイソ蛋白質として器官や細胞特異的に発現していることをトウモロコシを材料として遺伝子と蛋白質のレベルで明らかにした。さらに、Fdを欠失させたラン藻細胞を作出し、高等植物の光合成型Fdはこの変異ラン藻のエネルギー代謝において光独立栄養機能を相補できるが、従属栄養機能は相補できないことも見いだした。以上の結果は、Fdイソ蛋白質の機能分化とその生理的意義を証明したものであり、博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。