The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Studies on the chloroplast homologue of signal recognition particle receptor protein cpFtsY : Its roles in protein targeting to thylakoids and chloroplast biogenesis
Author(s)	朝倉, 由香里
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45079
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名　朝倉由香里（あさくら ゆかり）

博士の専攻分野の名称　博　士（理　学）

学位記番号　第　18414　号

学位授与年月日　平成16年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

理学研究科生物科学専攻

学位論文名　Studies on the chloroplast homologue of signal recognition particle receptor protein cpFtsY : Its roles in protein targeting to thylakoids and chloroplast biogenesis
（葉緑体におけるチラコイド膜への蛋白質輸送に関与するcpFtsYの解析）

論文審査委員　（主査）
教　授　長谷　俊治

（副査）
教　授　寺島　一郎　　教　授　金澤　　浩　　助教授　中井　正人

論文内容の要旨

〈序〉

葉緑体のチラコイド膜への蛋白質輸送経路には、必要なエネルギーとストロマ因子が異なる4種類の輸送経路が知られている。中でも集光性クロロフィルa/b結合蛋白質（LHCP）等の挿入に関与するSRP（シグナル認識粒子）依存性経路に関わるコンポーネントとしては、cpSRP43、cpSRP54、SRPレセプターのcpFtsYおよびALB3が同定されているが、各蛋白質の機能の詳細は明らかではない。本研究ではトウモロコシを材料に、cpFtsYがチラコイド膜への蛋白質輸送及び葉緑体のバイオジェネシスにおいてどのような役割を担っているのかを明らかにすることを目的として、トウモロコシ変異株を用いた解析を行った。

〈結果および考察〉

cpFtsYの遺伝子座の異なる部位に挿入変異を有する2個の*csr1-1*、*csr1-3*（*chloroplast SRP receptor 1*）を用いて解析を行った。トランジット配列に相当するエキソンに挿入変異を有する*csr1-1*変異株では、cpFtsYが全く発現しておらず、葉は黄緑色を呈した。一方、イントロンに*Mu*の挿入のある*csr1-3*変異株は、cpFtsYがわずかに発現しており、葉は薄緑色を呈した。両変異株は劣性で、ホモ接合体は従属栄養期が終わる播種後2週間で枯死した。電子顕微鏡を用いた観察により、変異株の葉緑体は、葉肉細胞においてはチラコイド膜のスタックが著しく減少し、維管束鞘細胞においては、チラコイド膜とともに澱粉粒の減少が観察された。一方、暗黒下で生育させた*csr1-1*変異株のエチオプラストではプロラメラボディ構造は正常に見えたが、そこからのびる膜（pro-thylakoid膜）の長さが野生株と比較して短く、チラコイド膜の形成が阻害されていることが推察された。

SRP経路で輸送されると考えられるLHCP蛋白質群についてウエスタン解析を行なったところ、変異株においてその存在量は顕著に減少していたが、cpFtsYが全く発現していない*csr1-1*においても野生株の30%以上発現しているLHCPが有り、cpFtsYを介さないLHCPの輸送経路が存在すること、またLHCPの種類によりその依存性が異なることが推察された。変異株のLHCPの減少が、cpFtsYの欠損によるチラコイド膜への挿入阻害である事を確認するため、変異株から単離した葉緑体へのLHCPの輸送実験を行った。変異株の葉緑体への輸送は野生株と同程度であったが、チラコイド膜への挿入が顕著に減少しており、一部ストロマへの蓄積も観察された。この事は、変異株に

おいて確かにLHCPのチラコイド膜挿入過程にdefectが生じている事を示している。

光合成に関わる様々なチラコイド膜蛋白質のウエスタン解析を行ったところ、変異株において有意な減少が確認された。また変異株の葉緑体をBlue native電気泳動法により分離すると、チラコイド膜に存在する多くの光化学系の膜蛋白質複合体が減少しており、葉緑体の光合成装置に多面的なdefectが生じていることが示唆された。一方、cpFtsY以外のチラコイド膜への蛋白質輸送に関わるコンポーネントは変異株においても野生株と同程度存在していた。また、変異株においてストロマのシャペロン類やチラコイド膜のプロテアーゼのウエスタン解析を行ったところ、変異株において有意に増加していた。これはチラコイド膜へ挿入されずにストロマに蓄積した蛋白質やチラコイド膜に結合したものの複合体を形成できなかったチラコイド膜蛋白質等の分解に働いていると考えている。

論文審査の結果の要旨

本論文は、高等植物葉緑体に存在するシグナル粒子受容体蛋白質であるcpFtsYの生化学的解析と、その遺伝子を欠損したシロイヌナズナ変異体植物の表現型の解析を系統的に行い、本蛋白質の生理的重要性を解明したものである。朝倉由香里君は、cpFtsYは葉緑体のチラコイド膜や黄色体のプロラメラ体に表在し、この蛋白質が欠損することによりチラコイド膜の光化学系やその周辺の蛋白質群に顕著な減少が起こること、一方cpFtsY以外の輸送装置の蛋白質は不変であることを見出した。そしてcpFtsY蛋白質欠損葉線体を用いたLHCPの輸送実験によりチラコイド膜への挿入過程に異常が起こることを突き止めた。これらの結果は葉緑体の生合成機構に新たな知見をもたらしたものであり、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。