



Title	A quantitative study of endogenous and exogenous intracellular redox change in photosynthetic organisms
Author(s)	田中, 謙也
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82322
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

氏 名 (田 中 謙 也)	
論文題名	A quantitative study of endogenous and exogenous intracellular redox change in photosynthetic organisms (光 合 成 に お け る 内 因 性 お よ び 外 因 性 の 細 胞 内 レ ド ッ ク ス 変 動 に 関 す る 定 量 的 研 究)
論文内容の要旨	
近年、光合成生物を利用したエネルギー・有価物質生産や環境修復技術が関心を集めている。細胞内レドックス状態は光合成生物の代謝や遺伝子発現に対して様々な影響を与え、光合成効率を大きく左右する。レドックスと生理学との間の複雑な関係を解明するためには、細胞内レドックスの定量が必要である。本研究では光合成生物シアノバクテリアにおける外因性および内因性のレドックス状態変動を新たに開発した手法で定量し、レドックス状態の変動が光合成の光エネルギー変換特性および細胞外環境に及ぼす影響を物理化学的観点から明らかにすることを目的にした。 細胞膜透過性を有する電子メディエーター (pMFC-Me₈: $E_M = 0.18 \text{ V}$) を使った細胞内レドックスの電気化学的in vivo測定手法を確立するため、pMFC-Me₈と主要な細胞内化学種との反応性について調べた。その結果、pMFC-Me₈と細胞内プラストキノン、活性酸素種、および酸素との間に特に優位な反応性が認められた。この電気化学的手法を用いて外因性および内因性のレドックス状態変動を定量的に評価したところ、シアノバクテリアにおける外因的光強度変化による開放電位の変化幅は約10 mVであった。一方、恒明条件下では、内因的要因 (概日時計システムの働き) により、開放電位は約190~240 mVの周期的変動を示した。さらに、EPR測定によってシアノバクテリア細胞由来の活性酸素種の濃度変動を測定したところ概日性のリズムが検出された。以上の結果は、内因性制御が活性酸素種レベルを制御していることを示している。一方、外因的な明暗環境変化に対するNADP⁺/NADPHレドックス状態変化を定量した。新規のNADP(H)抽出方法で測定したシアノバクテリア細胞内のNADP⁺/NADPHレドックス比の明暗変化は、in vivoで測定可能なNADPH蛍光の時間変化と定性的に合致した。この抽出方法を用いて明暗条件下におけるNADP(H)を定量測定したところ、その電位変動幅は僅か14 mV (-330~-316 mV)に留まることが明らかになった。最後にシアノバクテリア細胞内のレドックス状態変動が細胞外環境へ与える影響について調べた。 以上の結果を元に、光合成における外因性および内因性のレドックス状態変動について定量的な全体像を提示する。さらに、本研究を通して得られた知見を元に、光合成を利用したエネルギー・有価物質生産や環境修復技術の今後の発展可能性について述べている。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 （ 田 中 謙 也 ）			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	中西 周次
	副 査	教 授	岩井 成憲
	副 査	教 授	福井 賢一

論文審査の結果の要旨

昨今の地球環境の保全に対する関心の高まりを受け、光合成生物を利用したエネルギー・有価物質生産や環境修復技術が注目を集めている。光合成微生物太陽電池や、藻類等の代謝を使用した二酸化炭素を原料とする化学材料・燃料の光生産は、そうした技術の最たる例である。光合成生物には、光環境が変動する条件下においても、電子の光励起や水の酸化反応、二酸化炭素の還元反応などの重要なプロセスを協同的に進める能力が備わるが、こうした機能には細胞内のレドックス（酸化還元）状態が深く関与している。従って、光合成生物を利用した技術を確立する上では、細胞内レドックス変動と種々の機能との相関を理解することが不可欠である。しかし、分子生物学的・遺伝学的な従来研究でのレドックス変動に関する議論は定性的範囲に留まっていた。

こうした背景の下、本研究では、光合成における外因性および内因性のレドックス状態変動を定量的に測定する手法を開発し、レドックス状態の変動が光合成の光エネルギー変換特性、および周辺環境に及ぼす影響を物理化学的観点から明らかにすることが目的として掲げられている。学位論文においては、光合成を用いた光エネルギー変換・環境修復技術における細胞内レドックス状態の重要性について説明し、本論文研究の位置づけについて述べられている。その上で、以下の研究成果について論述している。

本研究では、まず、外因性および内因性のレドックス状態変動が定量的に比較検討されている。電気化学的手法を駆使することで、外因的光強度変化によるレドックス変動に比べ、恒明条件下における内因的要因（概日時計システムの働き）によるレドックス変動が顕著に大きいことが明らかにされた。この実験的発見を契機に、モデル光合成生物シアノバクテリアにおける活性酸素耐性の内因的変動について検討が深められた。電子スピン共鳴（EPR）測定によって、活性酸素種の濃度変動を測定したところ概日性のリズムが検出された。さらに様々な主観的時間において活性酸素種を意図的に一定量発生させることにより、シアノバクテリア細胞の生存率が約24 時間周期で変動することが示された。以上の結果は、内因性のレドックス変動が活性酸素耐性に影響を与えることを示している。

次に、外因的な明暗環境変化に対するNADP⁺/NADPH レドックス状態変化を定量した結果について記述されている。新規なNADP(H)の定量測定法の開発を通して、その電位変動幅が-330~-316 mVという狭い範囲に留まることが明らかにされている。これは、NADP⁺/NADPH 対が恒常性を有することを単細胞シアノバクテリアにおいて定量的に示した初めての例である。さらに、シアノバクテリア細胞内のレドックス状態変動が周辺環境へ与える影響についても電気化学的手法を駆使して調べられている。より具体的には、グルコース存在下において大きな微生物電流の発生を介して水酸化鉄（III）が還元溶解されることが明らかにされた。このとき、細胞内NADP⁺/NADPH が還元的になることも合わせて確認されている。以上の結果は、細胞内レドックス状態が細胞外環境のレドックス化学に影響を及ぼすことを示している。

以上のように、本研究においては、光合成微生物における内因性および外因性の細胞内レドックス変動の定量化を通して、光合成の新しい側面が明らかにされている。これは、光合成の環境適応能に関する深い理解、ならびに光合成太陽電池や光環境修復等の技術向上に繋がる重要な基礎的知見であり、博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。