



Title	Analysis of protein translocation across the chloroplast inner envelope membrane
Author(s)	Zhao, Xueyang
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/89498">https://hdl.handle.net/11094/89498</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">&lt;/a&gt;</a> 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 ( 趙 雪 洋 )	
論文題名	<p><b>Analysis of protein translocation across the chloroplast inner envelope membrane</b></p> <p>葉緑体内包膜におけるタンパク質輸送機構の解析</p>
<p>論文内容の要旨</p> <p>Chloroplasts are unique sub-cellular organelles that perform specific functions in photosynthesis and development. They are conserved in almost all plant lineages, arising from an ancient endosymbiotic event approximately one billion years ago. Most chloroplast proteins are nuclear-encoded and synthesized in the cytosol, before being transported into the organelle. Protein translocons located at the outer and inner envelope membranes of chloroplast, termed TOC and TIC, respectively, are vital for translocation of chloroplast proteins.</p> <div data-bbox="252 1131 751 1758"> <p>A model of chloroplastic import machineries. An alternative TIC component, Tic9k, is predicted to have direct association with Tic20-I and is considered to be involved in the protein import process. OE: outer envelope; IE: inner envelope.</p> </div> <p>Previous studies have examined the main components of two translocons in <i>Arabidopsis thaliana</i>. TOC consists of Toc159/Toc34/Toc75, while TIC is composed of Tic214(Ycf1)/Tic100/Tic56/Tic20-I. TOC and TIC are highly conserved in green lineages. While TOC components have been extensively characterized, the components of TIC which are directly involved in preprotein translocation still require further investigation.</p> <p>Previous studies from our laboratory identified an as-yet-characterized small protein was found associated with preprotein translocation intermediates in <i>Arabidopsis thaliana</i> as well as in</p>	

*Chlamydomonas reinhardtii*. This study aims to investigate whether this small protein exists within the TIC complex and plays an essential role in protein translocation across the inner envelope membrane.

This tiny protein, tentatively named Tic9k, consists of 98 amino acids and is encoded by At3g09860 of the nuclear genome in *Arabidopsis*. This protein is highly conserved in green lineages including plants and green algae. A null mutant of *tic9k* and a double knock-out mutant of *tic9k tic20-I* exhibited very similar albino seedling lethal phenotype to that of the *tic20-I* mutant. This result suggests that Tic9k functions similarly to Tic20-I during chloroplast protein import. Actually, by pull-down assay, Tic9k was found associated with Tic20-I-containing TIC complex. Trypsin protease treatment of chloroplasts further provided an evidence supporting its localization at the inner envelope membrane. Furthermore, two-dimensional BN/SDS-PAGE analysis showed that Tic9k was detected together with other TIC complex components, around 1-MDa size. Tic9k was copurified with various translocation intermediates, and the UV crosslinking experiments indicated that this protein directly interacted with a transit peptide of preprotein at the early stages of protein translocation across the inner envelope membrane.

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( Xueyang Zhao )		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 教 授	柿本 辰男
	副 査 教 授	高木 慎吾
	副 査 准教授	中井 正人
論文審査の結果の要旨		
<p>申請者 Xueyang Zhao 氏は、葉緑体の内包膜に存在する蛋白質輸送装置の解析を行った。葉緑体は独自のゲノムを保持しているが、そこで機能する 2 千種類を超える蛋白質は核ゲノムにコードされている。これらの蛋白質は葉緑体の外側サイトゾルでアミノ末端側に局在化シグナル配列となるトランジット配列を付加された前駆体蛋白質として合成された後に、葉緑体の外包膜および内包膜それぞれに存在する蛋白質輸送装置複合体 TOC、TIC を通過して、葉緑体内部に運ばれる。Zhao 氏の所属する研究室では TIC の必須構成因子として、シロイヌナズナから Tic20, 56, 100, 214 の 4 つの蛋白質を見出している。Zhao 氏は、先行研究の情報から、この TIC に含まれる可能性のある新奇因子を検索し、実際に Tic9k と名付けた蛋白質が TIC の構成因子として、葉緑体蛋白質の内包膜透過において必須の役割を担っている事を生化学的、遺伝学的解析から明らかにした。特に、Tic9k が TIC の前駆体膜透過チャネルの中核を形成する Tic20 と共に、前駆体の内包膜透過のごく初期過程においてトランジット配列のアミノ末端側と直接相互作用している事を見出した。Tic9k が緑藻や植物に広く保存されているという系統進化的考察も加えて、Tic20 と Tic9k が TIC の機能的な中核を形成していると結論づけた。</p> <p>以上の研究成果は重要なものであり、よって本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>		