



Title	Structural studies on cyanobacterial trimeric Photosystem I-related protein complexes
Author(s)	Li, Jiannan
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/91779
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (LI JIANNAN)

Title

Structural studies on cyanobacterial trimeric Photosystem I-related protein complexes
(シアノバクテリア三量体光化学系I関連蛋白質複合体の構造研究)

Abstract of Thesis

Oxygenic photosynthesis is the most fundamental biochemical process, complete photosynthetic process consist of complex physical and chemical reactions. The photon absorption process starts in the thylakoid membrane with two light reactions taking place simultaneously at photosystem II and photosystem I (PSI) reaction centers. All photoautotrophic species utilize both pigment-protein antenna complexes to capture light energy and convert it to redox chemical energy with high efficiency. The exploration of cyanobacterial photosystems, especially the determination of the structure of these primitive but huge protein-pigments complexes will help our better understanding of the origin of photosynthesis of the early Earth and the development of photoautotrophic evolution.

In this thesis, the purification trials and structural analysis are described with the cyanobacterial PSI trimer as the study focus. Chapter II is about the purification of PSI trimers from the thermophilic cyanobacteria *Thermosynechococcus elongatus* BP-1. This includes experiments on the crystallization and optimization of the crystallization condition for X-ray diffraction measurements aimed at obtaining high resolution structure information. In Chapter III describes how PSI trimer sample was mixed together with its electron transfer partners: the Cytochrome c_2 as the electron donor and the Ferredoxin as the electron acceptor. Moreover, the chapter details structure determination of the PSI-centered triple electron-transfer complex using cryo-EM single-particle analysis and the use of the resulting density map for modeling at high resolution. The topic of chapter IV is the cultivation of iron-starved cyanobacteria for the expression of extra antenna proteins (IsiAs) surrounding PSI trimers. Comprehensive purification trials were performed to obtain PSI-IsiA supercomplex at high purity and homogeneity. The overall evaluation and conclusion of all the experimental results were included in Chapter V.

Keywords

Photosynthesis, Cyanobacteria, Photosystem I, Electron transfer, Cryo-EM

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Jiannan Li)			
論文審査担当者	(職)		氏 名
	主 査	教授	栗栖 源嗣
	副 査	教授	中川 敦史
	副 査	教授	大岡 宏造
	副 査	教授	加藤 貴之
論文審査の結果の要旨 学位申請者は、光合成ではたらく膜蛋白質複合体光化学系 I に着目し「STRUCTURAL STUDIES ON CYANOBACTERIAL TRIMERIC PHOTOSYSTEM I-RELATED PROTEIN COMPLEXES (シアノバクテリア三量体光化学系 I 関連蛋白質複合体の構造研究)」と題する研究を行った。 光合成生物は、地球上の多様で変化に富んだ光環境に対応し光合成機能を最適化させるとともに活性酸素種の発生を最小限に抑えるべく光合成機能を発達させてきた。酸素発生型の光合成電子伝達では、光化学系 I 複合体(系 I)、光化学系 II 複合体 (系 II)、シトクロム <i>b₆f</i> 複合体(Cyt <i>b₆f</i>)の3種類の巨大膜タンパク質と可溶性の電子伝達タンパク質が、非常に弱い相互作用で結合解離を繰り返しながら効率よく電子を受け渡し、さまざまな代謝酵素へと還元力を供給している。まず、系 II で光エネルギーによって水が酸化され、電子が発生する。発生した電子は、Cyt <i>b₆f</i>、シトクロム <i>c₆</i> (Cyt <i>c₆</i>)を経由して系 I に伝達される。その後、系 I が光エネルギーを利用して還元力の高い電子伝達タンパク質であるフェレドキシン (Fd) に受け渡す。これらの一連の電子伝達経路はよく研究されているものの、系 I と電子伝達タンパク質との間でどのように電子の受け渡しが行われるのか、また、その電子漏洩制御の機構は未だ明らかにされていない。そこで申請者は、電子伝達が行われている瞬間の過渡的超分子複合体(Cyt <i>c₆</i> : 系 I : Fd の三者複合体)に着目した。本論文で、申請者は過渡的な複合体形成を固定するために Fd の金属中心を鉄からガリウムに置換した [2Ga-2S]再構成 Fd を導入し、電子伝達複合体形成を促進させた。そしてクライオ電子顕微鏡による単粒子解析法を用いて 1.97 Å 分解能の高分解能で三者複合体の構造決定に成功し、系 I 周辺で起こる電子伝達機構について議論した。また、局所的な分解能が低いために Cyt <i>c₆</i> の向きを決定することはできていないが、系 I に結合した Cyt <i>c₆</i> を世界で初めて実験的に明らかにしたほか、系 I と Fd との界面における詳細な相互作用をも明らかにした。複合体形成前後の Fd と系 I の立体構造を比較解析することによって、Fd と系 I が複合体形成の際にどのように構造を変化させて解離会合をコントロールしているのかについても詳細を突き止めている。次に申請者は、Fd と系 I の分子間相互作用に着目して、高純度に精製した Fd と系 I とで ITC 測定を実施し、Fd と系 I の間の複合体形成がエントロピー駆動型で形成されることも解明した。これらの結果から、系 I を介した Cyt <i>c₆</i> から Fd への効率的な電子移動のための反応サイクル機能モデルを提案し、なぜ光合成電子伝達の過程において活性酸素種の生成を抑えて効率よく電子伝達可能であるのかを考察している。 申請者は、高度に最適化された光合成電子伝達反応における複合体形成に着目し、クライオ電子顕微鏡による単粒子構造解析法で過渡的な複合体を高分解能で解析する事により、最終的に Cyt <i>c₆</i>、系 I、Fd の3者を結びつける構造基盤を提唱するに至った。本論文の研究内容は、光合成電子伝達の制御機構を理解する上で、大変意義のある成果である。 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。			