

氏 名 田 中 祐 二

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第471号

学位授与の日付 平成12年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 分子生物機構論専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 クラミドモナスにおける光合成の高温耐性獲得の分子機構

論 文 審 査 委 員 主 査 教 授 飯 田 滋
教 授 大 隅 良 典
教 授 村 田 紀 夫
教 授 林 秀 則 (愛媛大学)

論文内容の要旨

光合成の光化学系II酸素発生複合体は、植物細胞の中で最も高温による損傷を受けやすい部位の一つである。しかし高温に適応した植物では高温に対してより安定な酸素発生能を示すため、光化学系II複合体の高温耐性の獲得が植物の高温適応に重要な役割を担っていると考えられる。本研究では緑藻クラミドモナスを用いて光化学系II複合体の高温耐性獲得の分子機構を解明することを目的とした。本論文は次の4章から構成されている。

第1章: 序論 本研究の目的およびその背景をまとめた。植物の高温適応と高温耐性に関しては古くから生理学的な研究がおこなわれており、異なる温度環境で生存する植物の生理現象を比較することによって、さまざまな高温耐性の機構が論じられている。その顕著な例が光合成の高温耐性の獲得である。この適応現象は植物種やその生存する環境に限らずに幅広く見られている。近年、光合成の高温適応を分子レベルで解明することが試みられ、ラン藻を用いた研究から光合成の高温適応に関与するタンパク質が複数見つかっている。しかしながら、その分子機構の全貌はいまだ解明されていない。本研究では、緑藻クラミドモナスを用いて光化学系II複合体の高温適応の分子機構を解明することを目的とした。クラミドモナスは「緑の酵母」といわれるほど高等植物の光合成のモデル生物として研究されている。この生物の実験系としての利点と問題点についても議論した。

第2章: クラミドモナスの光化学系II複合体の高温適応能 クラミドモナスの光化学系II複合体の高温適応能について、酸素発生能およびクロロフィル蛍光を指標に生理学的な解析を行った。

クラミドモナスの細胞を異なった温度で生育させて光化学系II複合体の熱安定性を比較した。その結果、クラミドモナスの至適生育温度である20℃から35℃の範囲では、光化学系II複合体の熱安定性は生育温度に依存して増大した。次に低温(20℃)で生育した細胞を高温(35℃)に移すと、約4時間の間に酸素発生能に顕著な高温耐性の増大が見られ、約8時間後には35℃で生育した細胞と同等の高温耐性を獲得した。この現象に対するタンパク質合成阻害剤の影響を調べたところ、光化学系II複合体の高温耐性獲得は、核ゲノム由来のタンパク質合成を阻害するシクロヘキシミドや葉緑体ゲノム由来のタンパク質合成を阻害するクロランフェニコールおよびリンコマイシンにより阻害された。これらの結果から、クラミドモナスの光化学系II複合体の高温耐性獲得は、核ゲノムおよび葉緑体ゲノム双方由来のタンパク質の新規合成を必要とすることがわかった。

光合成に関係するタンパク質の中にはその合成経路に光の影響を受けるものが多い。しかしながら、光化学系II複合体の高温耐性の増大は暗条件下でも明条件下と同様に起こった。したがって、光化学系II複合体の高温耐性獲得に関与するタンパク質の発現は光のシグナルを必要とせず、温度のみにより調節されることが示唆された。35℃で培養した細胞を20℃に移しても、一度獲得した光化学系II複合体の高温耐性は12時間以上維持された。

第3章: 高温適応と熱ショックタンパク質の関係 熱ショックタンパク質は高温で誘導される最もよく知られているタンパク質であるが、高温適応における機能についてはよく分かっていない。本研究では、熱ショックタンパク質が光化学系II複合体の高温耐性獲得に関与するかどうかを検討した。

熱ショックタンパク質の量的変動をHsp60、Hsp22、Hsp70の3種類の抗体を用いてウェスタンブロット法により調べた。熱ショックタンパク質の誘導が起こる温度を調べるために、20℃で培養した細胞をさまざまな温度に2時間さらした。その結果、光合成の高温適応が起こる35℃以下の温度ではHsp60とHsp70の相同タンパク質の量は増大せず、Hsp22の蓄積は全く見られなかった。また、高温適応した細胞に41℃の熱ショックを与えて細胞内の熱ショックタンパク質を誘導させても、光化学系II複合体の高温耐性はそれ以上増

大しなかった。これらの結果から、クラミドモナスの高温適応による光化学系II複合体の高温耐性獲得に熱ショックタンパク質は関与しないことが示唆された。

第4章：結論 全体の考察と本研究の現状と位置づけ、および今後の展望について記述した。

論文の審査結果の要旨

光合成の光化学系 II 複合体は、植物細胞の中で最も高温による損傷を受けやすい部位の一つである。しかし植物は高温に適応する能力を備え、高温適応に伴って光化学系 II 複合体を高温耐性にする。本研究は、緑藻クラミドモナスをモデル生物として、光化学系 II 複合体の高温耐性能の獲得の分子機構を解析したものである。論文は次の 4 章から構成されている。

第 1 章：序論 高温適応における光合成の高温耐性能獲得の分子機構において、関与が示唆されている因子を取り上げ、その特徴について記している。さらに研究の目的を記述している。

第 2 章：クラミドモナスの光化学系 II 複合体の高温適応能 クラミドモナスにおける生育温度と光化学系 II 複合体の熱失活の関係を解析し、クラミドモナスもまた高温適応に伴って光化学系 II 複合体の高温耐性能を獲得することを明らかにした。さらにこの現象は核ゲノム由来のタンパク質と葉緑体ゲノム由来のタンパク質の新規合成をともに必要とすることも明らかにしている。

第 3 章：高温適応と熱ショックタンパク質の関係 クラミドモナスの高温適応における光化学系 II 複合体の高温耐性能の獲得において熱ショックタンパク質の関与の有無を明らかにするため、Hsp60、Hsp22、Hsp70 の 3 種類の熱ショックタンパク質の量的変動をウェスタンブロット法により解析した。実験結果から、光合成の高温適応が起こる温度では熱ショックタンパク質の発現が誘導されないこと、高温適応した細胞に熱ショックを与えて熱ショックタンパク質を誘導しても光化学系 II 複合体の高温耐性は増大しないことを明らかにした。これらの事実から、光化学系 II 複合体の高温耐性の獲得に熱ショックタンパク質は直接関与していないことを示唆している。

第 4 章：結論 研究成果に関する考察と位置づけ、および今後の展望について記述している。

以上のように、申請者の研究の内容はクラミドモナスの高温適応と光合成の高温耐性との関係を明らかにし、光合成の高温耐性能獲得機構に新たな知見を示している。よって、本論文が博士論文にふさわしいものと判断し、合格と判定した。

さらに、専門分野およびその基礎となる分野に関して口頭で審査し、十分な学力を有するものと判断した。

また、英語能力に関して審査した。添付された英文の参考論文等の審査により、十分な英語能力を備えているものと判断した。