

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	窒素固定型シアノバクテリアAnabaena sp. PCC 7120のレドックス制御システム
Title(English)	
著者(和文)	見原翔子
Author(English)	Shoko Mihara
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11081号, 授与年月日:2019年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:久堀 徹,若林 憲一,田中 寛,上田 宏,柘植 丈治,下嶋 美恵,日原 由香子
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11081号, Conferred date:2019/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命工学 ライフエンジニア リング	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of ( 理学 )
学生氏名： Student's Name	見原翔子		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	久堀徹
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)	若林憲一

### 要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

*Anabaena* sp. PCC 7120 (*Anabaena* 7120) は糸状性のシアノバクテリアで、窒素源が欠乏すると栄養細胞がヘテロシストに分化する。ヘテロシストでは、窒素固定酵素 Nitrogenase によって窒素がアンモニアに還元される。ヘテロシストは炭酸固定能を欠失しており、隣接する栄養細胞から輸送された炭素源を酸化的ペントースリン酸経路で代謝することで、窒素固定に必要な還元力 NADPH を獲得する。*Anabaena* 7120 では、Glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) が NADPH の生成に重要な役割を果たし、G6PDH の活性はレドックス制御されていることが報告されている。レドックス制御とは、生体内の酸化還元状態に応じてタンパク質のシステイン (Cys) 残基の酸化還元 (レドックス) 状態を変化させることで、タンパク質の活性を調節する分子機構である。光合成生物では、レドックス制御は光条件に応じた代謝系の調節に重要な役割を果たしている。植物葉緑体では、光合成電子伝達系で得られた還元力を、Ferredoxin、Ferredoxin-thioredoxin reductase (FTR)、Thioredoxin (Trx) を介して葉緑体で働く様々なタンパク質に伝達する。これまでの研究で、葉緑体では、カルビン・ベンソン回路で働く酵素が光条件下で Trx により還元されることで活性化し、対照的に酸化的ペントースリン酸経路で働く G6PDH は不活性化することが報告されている。*Anabaena* 7120 においても G6PDH 活性が還元条件下で低下することが報告されているが、光条件下で窒素固定を行なう *Anabaena* 7120 では、G6PDH は光条件下であっても活性化されている必要がある。*Anabaena* 7120 は、上記の矛盾する点をどのようにして克服しているのか不明であった。そこで、本研究では、*Anabaena* 7120 では、レドックス制御が光条件だけでなく、窒素条件の変化への応答にも関与していることを想定し、*Anabaena* 7120 のレドックス制御システムの解明を目指した。

第 2 章では、*Anabaena* 7120 の Trx 破壊株を作製し、窒素欠乏条件下での生育に与える影響を調べた。6 種の Trx 破壊株を作製して窒素欠乏条件下で培養したところ、Trx-ml 破壊株のみが著しい生育阻害を示した。第 3 章では、Trx が光条件以外にも応答するかどうかを明らかにするために、Trx への還元力伝達経路を調べた。*Anabaena* 7120 は、FTR に加えて植物葉緑体には無い NADPH-Trx reductase (NTR) を持っている。FTR は光依存的に Trx を還元するが、NTR は光に依存することなく Trx を還元できる可能性がある。生化学実験により、FTR または NTR から 6 種の Trx への還元力伝達を調べ、ほとんどの Trx は FTR により光依存的に還元されることを明らかにした。また、1 種の Trx のみが NTR により還元されたが、これらは細胞内でタンパク質として検出されなかった。第 4 章では、窒素固定に必要な NADPH を生成する G6PDH のレドックス制御の分子機構を調べた。これまでの研究で、G6PDH 活性が還元条件下で低下することは明らかになっていたが、その詳細な機構は明らかになっていない。そこで、生化学実験により G6PDH のレドックス制御機構を調べ、G6PDH 活性は活性化因子である OpcA が Trx に還元されることで低下することを明らかにした。さらに、生体内の OpcA のレドックス状態を解析し、窒素欠乏条件下では光条件下であっても OpcA の大部分が酸化されており、G6PDH 活性が維持されていることを明らかにした。第 5 章では、なぜ、光条件下であっても OpcA が酸化されているのかを調べた。G6PDH は、光条件下でもヘテロシストでは活性化されている必要があるが、栄養細胞では不活性化されている必要がある。そこで、栄養細胞とヘテロシストでレドックス制御システムが異なることを予想して、ヘテロシストのレドックス制御システムを調べた。ヘテロシストにおける Trx のタンパク質発現を調べた結果、栄養細胞に比べてヘテロシストにおける Trx 発現量が低いことが明らかになった。さらに、光条件下、窒素欠乏条件下におけるそれぞれの細胞の Trx の標的のレドックス状態を調べた結果、栄養細胞では標的が還元されているが、ヘテロシストでは酸化されていることが明らかになった。

以上の結果から、*Anabaena* 7120 では Trx は光条件に応じて標的を還元するが、ヘテロシストにおける Trx の発現量を変化させることで、窒素条件にも応じて標的のレドックス状態を調節していると結論した。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： 生命理工学  
Department of, Graduate major in ライフエンジニアリング  
系  
コース

申請学位 (専攻分野)： 博士  
Academic Degree Requested Doctor of ( 理学 )

学生氏名： 見原翔子  
Student's Name

指導教員 (主)： 久堀徹  
Academic Supervisor(main)

指導教員 (副)： 若林憲一  
Academic Supervisor(sub)

### 要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

In photosynthetic organisms, thiol-based redox regulation is crucial to regulate activities of metabolic enzymes in response to fluctuating light conditions. The redox cascade composed of ferredoxin (Fd), Fd-thioredoxin reductase and thioredoxin (Trx) is considered to be a major pathway for transferring reducing power from photosynthetic electron transfer system to target proteins in plant chloroplasts. The Calvin-Benson cycle enzymes and glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), the initial step enzyme of the oxidative pentose phosphate pathway (OPPP), are well known Trx target proteins. While Calvin-Benson cycle enzymes are activated when reduced by Trx under light conditions, G6PDH is inactivated to avoid futile cycling of carbon.

*Anabaena* sp. PCC 7120 (*Anabaena* 7120) is a filamentous, heterocyst-forming, nitrogen-fixing cyanobacterium. In the absence of combined nitrogen, some vegetative cells differentiate into specialized cells called heterocysts. In heterocysts, nitrogenase complex catalyzes nitrogen reduction under light conditions. G6PDH is the initial step enzyme of the OPPP and vital for NADPH production in heterocysts. NADPH is used for ferredoxin reduction and thus provides reducing power for nitrogenase in heterocysts. However, G6PDH is reported to be redox-regulated and inactivated under reducing conditions as well as that of plant chloroplasts, implying that G6PDH cannot provide NADPH under light conditions even though nitrogenase catalyzes nitrogen reduction in heterocysts. I hypothesized that the redox regulation system responds to nitrogen conditions to overcome above discrepancy in *Anabaena* 7120.

In this study, I aimed to reveal the redox regulation system in *Anabaena* 7120. Consequently, I found that the redox states of Trxs respond to light conditions, but not to nitrogen conditions, although Trx target protein is partially oxidized in the absence of combined nitrogen even under light conditions. I then investigated the redox regulation systems of vegetative cells and heterocysts, and found that Trx target is oxidized in heterocysts even under light conditions, probably due to the limited Trx expression in heterocysts. Taken together, I concluded that redox regulation system is altered in heterocysts, and hereby redox states of Trx target proteins in *Anabaena* 7120 respond to not only light conditions but also nitrogen conditions.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).