

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	シロイヌナズナの強光順化に関する因子の機能解析
Title(English)	
著者(和文)	佐藤諒一
Author(English)	Ryouichi Satou
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10293号, 授与年月日:2016年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:増田 真二,太田 啓之,久堀 徹,田中 寛,若林 憲一,増田 建
Citation(English)	Degree:., Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10293号, Conferred date:2016/9/20, 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

専攻： Department of	生体システム	専攻	申請学位 (専攻分野)： 博士 Academic Degree Requested	博士 (理学) Doctor of
学生氏名： Student's Name	佐藤 諒一		指導教員 (主)： Academic Advisor(main)	増田 真二
			指導教員 (副)： Academic Advisor(sub)	太田 啓之

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

光合成を行う生物にとって吸収した光エネルギーの効率的な利用は重要である。得られる光エネルギーが少なすぎれば十分な光合成を行えないが、多すぎても消費しきれない光エネルギーが細胞にダメージを与えてしまう。特に強光等のストレス条件では吸収した光エネルギーにより生成される還元力が炭酸固定等の代謝反応に必要な還元力を大きく上回り、活性酸素種の生成につながることで細胞に損傷を与える。そのため、光合成反応においては光エネルギーの吸収とその後の代謝反応のバランスが取れていることが重要である。特に、自然環境においては光の強さは周囲の環境に応じて非常に変動しやすく、炭酸固定等の代謝反応も温度等の影響を受けるために一定ではない。そのため、多くの光合成生物では光エネルギーの吸収量を光強度に依存して調節することで、その後の代謝反応とのバランスを取る様々な機構を保持している。高等植物に見られるそのような機構の一つとして、光強度の変化に応答して一分未満で誘導され、過剰に吸収した光エネルギーを熱として安全に消去する熱放散と呼ばれる機構がある。熱放散は吸収した光エネルギーを迅速に、かつ直接的に消去できる優れた機構であるが、過剰に誘導されてしまえば光合成に必要な光エネルギーをも消去してしまう。そのためこのような機構は、必要以上に光エネルギーを消去しないように環境に応じて適切に制御されることが重要である。しかし、その制御機構の詳細は分かっていない部分も多い。特に、熱放散誘導の中心的な役割を担う ΔpH の制御機構に関する知見は少ない。本博士論文では、熱放散制御に関与する ΔpH の制御機構に関して新たな知見を得る目的で、 ΔpH を介した熱放散誘導に関与する主要な光合成電子伝達経路の推定と新規な ΔpH 制御因子の探索を行った。

光合成電子伝達反応には直線的電子伝達 (Linear electron flow: LEF) や、循環的電子伝達 (Cyclic electron flow: CEF) などの複数の電子伝達経路が存在する事が知られている。これらの電子伝達経路はどれも ΔpH 形成に関与しており、 ΔpH を介した熱放散制御に関与するのがどの電子伝達経路であるかは明確にはなっていなかった。先行研究の結果から、LEF と、CEF における FQR 経路とよばれる電子伝達経路が主要な電子伝達経路である可能性が示唆されており、 ΔpH を介した熱放散制御にも LEF と FQR 経路が主に関わっていると考えられた。しかし、FQR 経路の電子伝達活性の測定が確立されていない為に、実際にどちらがどの程度熱放散制御を担っているのかは不明瞭であった。そこで、In silico による解析手法を併用する事で新規の FQR 経路の活性測定法

を構築し、それにより FQR 経路の熱放散制御に対する寄与率の推定をモデル植物であるシロイヌナズナを用いて行った。その結果、FQR 経路は熱放散の誘導に必要な ΔpH のおよそ 50~70% を形成していることが示唆された。

熱放散は ΔpH に依存して誘導されることから、環境中の光強度に対して適切な ΔpH を維持することで、熱放散を過度に誘導しないような熱放散抑制機構も必要であると考えられる。 ΔpH の解消に関してはチラコイド膜上の ATP 合成酵素が担っているものの、熱放散の抑制機構にも関与しているのかは不明である。また、熱放散の誘導は負のフィードバック的に光エネルギーの吸収を制御しており、 ΔpH の形成にも同様の制御が働く可能性が示唆されている。しかし、熱放散を全く誘導出来ない変異体においても ΔpH の形成は野生型とほとんど差が見られない事が報告されている。これらの事から、熱放散の抑制機構に関してはほとんど明らかになっていないと言える。そこで、シロイヌナズナを用いて、熱放散の抑制機構に関わる新規因子の同定を試みた。その結果、未だ報告されたことのない機能未知遺伝子を 1 つ候補として得たため、**Light Acclimation Protein 1 : LAP1** と命名し機能解析を行った。GFP および FLAG タグを融合させた LAP1 タンパク質の局在解析の結果から LAP1 タンパク質は葉緑体のチラコイド膜および包膜に局在する事が示唆された。また、シロイヌナズナ LAP1 遺伝子欠損変異体を用いた解析の結果から変異体では葉緑体全体のプロトン濃度が上昇し、チラコイド膜内腔のプロトン濃度が上昇したことが原因で熱放散が過剰に誘導されている事が示唆された。以上の結果から LAP1 タンパク質は ΔpH を介した熱放散の抑制機構に関与する新規因子である可能性が示唆された。

以上の結果からシロイヌナズナにおける熱放散の制御機構は CEF の一つである FQR 経路が熱放散の誘導に必要な ΔpH を形成し、LAP1 タンパク質が光強度依存的に適切な ΔpH になるように調節していると考えられた。

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 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).

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻 : Department of	生体システム	専攻	申請学位 (専攻分野) : Academic Degree Requested	博士 (理学) Doctor of
学生氏名 : Student's Name	佐藤 諒一		指導教員 (主) : Academic Advisor(main)	増田 真二
			指導教員 (副) : Academic Advisor(sub)	太田 啓之

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Plants have mechanisms to acclimate to high-light conditions by elimination of the excess light energy. These mechanisms are important for plant to perform high efficient photosynthesis. One of the mechanisms, "energy dissipation" is well known as a major acclimation mechanism for fluctuating high-light stress in land plants. The energy dissipation directly eliminates the light energy captured for photosynthesis; therefore, this mechanism has to be accurately controlled depending on light intensity. Recent studies clearly showed that the energy dissipation is controlled by pH gradient across the thylakoid membrane (ΔpH). However, detailed regulatory mechanisms of the energy dissipation are still unclear. In this doctoral thesis, the respective mechanism of induction and suppression of the energy dissipation has been studied and discussed.

The induction mechanism of the energy dissipation is related to some photosynthetic electron flows which can generate ΔpH . Recent studies indicated that major electron flows for ΔpH generation are Linear Electron Flow(LEF) and Cyclic Electron Flow(CEF). LEF generates ATP and NADPH in the process of electron transport. LEF shows high electron transfer activity because NADPH is required for carbon fixation of photosynthesis. On the other hand, electron transfer activity of CEF is still unclear because methodology for the measurement has not been established. To investigate contribution of CEF for ΔpH generation, a new measurement method was developed in this research. This method is composed of a computer simulation analysis based on data from quenching analysis of chlorophyll fluorescence. From results of the analysis with wild type and CEF deficient mutant of *Arabidopsis thaliana*, I conclude that CEF contributes 50~70% of total ΔpH generation.

The suppression mechanism of the energy dissipation is totally unclear. Generally, ΔpH is relaxed by ATP synthase located in thylakoid membrane. However there are no reports showing functional interaction between ATP synthase and the energy dissipation. In this research, I searched novel gene which is related to the suppression mechanism of the energy dissipation. Localization analyses of the gene (named LAP1) using GFP and FLAG tag suggested that LAP1 protein localizes in chloroplast thylakoid and envelope membranes. *Arabidopsis* LAP1 mutant showed highly energy dissipation compared with that in wild type without ΔpH change, suggesting that LAP1 protein controls the energy dissipation through

regulation of the total proton concentration in chloroplasts.

Taken all results together, I proposed a new regulatory model that the energy dissipation is induced by CEF and suppressed by LAP1 protein.

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).