

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	葉緑体ATP合成酵素の活性制御サブユニットの構造機能相関
Title(English)	
著者(和文)	秋山健太郎
Author(English)	Kentaro Akiyama
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12343号, 授与年月日:2023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,瀧ノ上 正浩,村上 聡,増田 真二,山田 康之
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12343号, Conferred date:2023/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第		号	学位申請者氏名	秋山 健太郎	
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	久堀 徹	教授	審査員	村上 聡	教授
	審査員	若林 憲一	准教授		増田 真二	准教授
		田中 寛	教授		山田 康之	教授
		瀧ノ上 正浩	教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「葉緑体 ATP 合成酵素の活性制御サブユニットの構造機能相関」と題し、和文で書かれ、6 章で構成されている。

第 1 章「序論」では、すべての細胞のエネルギー供給を担っている ATP 合成酵素の重要性と、分子モータータンパク質として明らかにされている、そのユニークな動作機構を概説している。更に、光合成生物がレドックス制御という光環境に適応する独自の制御機構を備え、葉緑体 ATP 合成酵素（以下、 CF_0CF_1 と呼ぶ）がその制御を受ける酵素の一つであること、この制御機構を分子レベルで解明するために単細胞緑藻クラミドモナスを用いた実験系を新たに構築することのメリットを述べ、本論文がこの制御機構の解明によって新たな制御モデルと提案するものであると述べている。

第 2 章「 CF_0CF_1 のレドックス制御に関係する変異株の作出」では、レドックス制御に関わる ATP 合成酵素のサブユニット $CF_1-\gamma$ の変異株の作出と、その変異株の生育および変異型 $CF_1-\gamma$ のレドックス状態の明暗応答を調べた結果について述べている。制御部位に変異を導入した株の光合成条件における明暗応答の解析から、制御部位の配列個々の制御機能に対する重要性を指摘している。

第 3 章「クラミドモナス CF_0CF_1 の精製と精製標品の分析」では、クラミドモナス由来の CF_0CF_1 の精製およびその精製標品の分析結果について述べている。精製用タグを付加した CF_0CF_1 を発現するよう遺伝子組換えをしたクラミドモナス株 (FUD50::8×His-tagged atpB) を用い、クラミドモナス細胞から得たチラコイド膜を非イオン界面活性剤で処理して、可溶化したタンパク質を Ni-NTA アフィニティクロマトグラフィーとサイズ排除クロマトグラフィーをすることにより、 CF_0CF_1 を半日以内に高純度で精製する手法を確立したこと、および得られた CF_0CF_1 の生化学的性質を明らかにしたことを報告している。

第 4 章「変異型 CF_0CF_1 の ATP 合成 / 加水分解活性とレドックス制御の関係」では、第 3 章で確立した手法で精製した野生型 CF_0CF_1 および第 2 章で作成した変異型 CF_0CF_1 の ATP 合成 / 加水分解活性を測定した結果について述べている。まず、野生型 CF_0CF_1 を再構成したプロテオリポソームを用いて、ATP 合成活性測定のための標準条件を決定したこと、次に、第 2 章で作出した $CF_1-\gamma$ 変異株と精製用タグ付きの $CF_1-\beta$ を発現する株と掛け合わせることで、変異型 CF_0CF_1 を容易に精製することができ、酸化還元状態における ATP 合成 / 加水分解活性を測定したと述べている。その結果、 $CF_1-\gamma$ 上の Cys 残基ペアに由来するレドックス制御は光合成生物に特有の β -hairpin ドメインと Redox loop ドメインが酸化還元状態に応じて協調的に作用することで成立すると結論付けている。

第 5 章「不活性型および活性型 CF_0CF_1 の構造解析」では、クライオ電子顕微鏡を用いた、酸化状態すなわち不活性化状態の野生型の CF_0CF_1 と、還元状態をミミックするようにレドックス制御を担う Cys 残基を Ser 残基に置換した C198S/C204S 変異体の単粒子解析について述べている。その結果、不活性型と活性型 CF_0CF_1 との間で、Redox loop ドメインの柔軟性は変化するが、全体構造はほぼ同一であることが分かったと述べている。そして、レドックス状態による活性制御は回転停止位置では起こらない、すなわち回転中に起こることが予想されると結論している。

第 6 章「総括と今後の展望」では各章の結果を踏まえて、ラチェットモデルに基づいた CF_0CF_1 のレドックス制御機構を提案している。そして、本研究で築いた変異株の作出手順および変異体の精製・解析方法は、本論文で提唱したラチェットモデルに基づいたレドックス制御機構の検証やレドックス制御の生理学的意義の探索をする上で広く応用され、今後の CF_0CF_1 に関する研究の幅を大きく広げられると今後の展開を展望している。

以上を要するに、本論文は光合成生物の ATP 合成酵素のレドックス制御の分子機構を明らかにしたものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ(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。