

博士論文審査報告書

氏名	石原 知子 (イハラ トモコ)
学位の種類	博士 (理学)
学位記番号	博理第 8 9 号
学位授与報告番号	甲第 2 5 9 号
学位授与年月日	平成 2 8 年 3 月 2 2 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
論文題目	Functional analysis of light harvesting complexes of diatom 「珪藻の光捕集系の機能解析」
論文審査委員	(主査) 教授 吉久 徹 (副査) 教授 吉田 秀郎 (副査) 教授 宮澤 淳夫 (副査) 教授 高橋 裕一郎 (岡山大学大学院自然科学研究科) (副査) 准教授 菓子野 康浩

1. 論文内容の要旨

海洋性中心目珪藻 *Chaetoceros gracilis* の fucoxanthin chlorophyll *a/c* binding protein (FCP) 複合体をショ糖密度勾配遠心法によって精製した。動的光散乱測定の結果、得られた FCP 複合体には単一種の粒子のみが含まれていたため、純度の高い複合体であることが示された。変性条件下での電気泳動により、その FCP 複合体からはほぼ同量含まれる 2 つのポリペプチドバンドおよびそれらよりも顕著に少ない 1 つのポリペプチドバンドが分離された。いずれの N 末端もブロックされてアミノ酸配列を得ることができなかつたため、各バンドからポリペプチドを抽出した後、リシルエンドペプチダーゼによって限定分解し、内部アミノ酸配列解析を行った。加えて、独自に考案した膜タンパク質をも分離可能な等電点二次元電気泳動を用い、各ポリペプチドの泳動度と pI の差を明らかにした。このようにして、FCP 複合体を構成する主要タンパク質の 2 つを同定した。これらは、ゲノム解析済みの他種珪藻で Fcp3 および Fcp4 と名付けられたタンパク質と相同のものだと推定された。

この精製 FCP 複合体を用いて機能の解析を行った。光吸収スペクトル測定および色素分

析により、FCP 複合体に多量の Chl *c* と fucoxanthin が結合している一方で、強光保護機構に関わっているとされている色素 Diadinoxanthin は少量であることが示された。さらに、77K での蛍光スペクトルの解析により、FCP 複合体によって吸収された光エネルギーは、光化学反応中心複合体に伝達されることが示された。したがって、細胞内 Chl *a* の約 60% を結合した FCP 複合体の主な機能は、光捕集機能であるといえる。

従来、珪藻の FCP 複合体は多種の FCP タンパク質により構成されており、構成サブユニットの異なる複合体が存在するとされていたが、本論文では、複合体としては単一であり、それを構成する主要タンパク質が 2 種類であることを示した。この研究の過程では、膜タンパク質の等電点電気泳動を可能にする系の考案を行い、活用した。そして、FCP 複合体の機能について、先行論文で述べられているような強光保護機能ではなく、もっぱら光捕集アンテナとして働くことを示した。したがって、FCP 複合体は、珪藻が弱光下で効率的な光合成を行う上で、非常に重要な存在であると言える。

2. 論文審査結果

弱光適応型光合成生物である珪藻のフコキサンチン・クロロフィル結合タンパク質 (FCP) 複合体をショ糖密度勾配遠心法により精製し、生化学的・分光学的解析によりその構成成分と機能を明らかにした論文である。精製した FCP 複合体は、動的散乱の測定により単一種の粒子、つまりほぼ均一の重合度の複合体であることが示された。そして、細胞の Chl *a* の約 60%、Chl *c* の約 70% もが結合していたが、ポリペプチドの内部配列解析や質量分析を行うことにより、ゲノムに含まれる約 30 の FCP 相同遺伝子の内わずか 3 種類のタンパク質で当該複合体が構成されていると示した。この過程において、分子量の近似したポリペプチド構成を詳細に解析するために、アガロースを用いて等電点電気泳動法の開発を行った。その結果、従来の手法では困難であった膜タンパク質の等電点による分離を可能にするるとともに、FCP 複合体が従来の多くの報告とは異なり、少数のタンパク質で構成されていることを支持することができた。さらに、分光学的測定を組み合わせ、この FCP 複合体が、従来主張されてきた強光保護というより、専ら光捕集の機能を果たしていることを証明した。これらの解析により、海洋の弱光環境下での活発な光合成を可能としている珪藻の分子的基盤を明らかにしたことが高く評価できる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成 28 年 1 月 19 日、論文内容およびこれに関連する事項について諮問を行った結果、合格と判定した。