

博士論文審査報告書

氏名 Yu Huaxin (于 華鑫)
学位の種類 博士 (理学)
学位記番号 博理第134号
学位授与報告番号 甲第434号
学位授与年月日 令和4年3月24日
学位授与の要件 学位規則第4条1項該当
論文題目 Structural and functional analysis of photosystem complexes using cryo-electron microscopy
「クライオ電子顕微鏡を用いた光化学系複合体の構造と機能解析」
論文審査委員主査 (主査) 教授 城 宜嗣
(副査) 教授 吉田 秀郎
(副査) 教授 樋口 芳樹
(副査) 教授 沈 建仁
(副査) 教授 伊福 健太郎
(京都大学大学院農学研究科教授)
(副査) 教授 Long-Jiang Yu
(Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Professor)

1. 論文内容の要旨

光合成において、光化学系II(PSII)は光エネルギーを利用して水を分解し、得られた電子をプラストキノンQBに伝達する役割を持つ巨大膜タンパク質複合体である。細胞内でPSIIは主に二量体として機能しているが、二量体になる前の一部は単量体で活性を持っている。また、光損傷などによりPSIIが壊れ、タンパク質の合成等を経て再構築される途中でも単量体として存在する。PSII二量体の構造はX線結晶構造解析法により1.9 Å分解能で解析されたが、単量体の構造は3.6 Å分解能程度の解析結果しか報告されていない。また、クライオ電子顕微鏡法では、常温性シアノバクテリア由来で、表在性タンパク質が脱落したPSII単量体が解析されているのみである。本研究では、PSII単量体の高分解能構造をクライオ電子顕微鏡法で解析し、二量体構造との比較から、二量体形成に重要な因子の探索を行った。好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus vulcanus* 由来のPSII単量体をクライオ電子顕微鏡法により2.78 Å分解能で解析した結果、二量体中の単量体-単量体境界面に存在していた2つの脂質分子 (SQDG) と、一つのβ-カロテン分子が単量体では脱落していたことが分かり、これらの分子が二量体構造の形成・維持に重要であることが示唆された。また、PSIIの酸素発生活性に重要なD1サブユニットについては、V185T変異体由来PSIIを精製し、その酸素発生活性の減衰を確認し、負染色電子顕微鏡写真から二量体を形成していることを確認した。さらにクライオ電子顕微鏡法による構造解析において、cryoSPARKとRelionの異なるプログラムによる解析結果を比較した。その結果、cryoSPARKは見かけ上高

い分解能を与えるが、得られた電子ポテンシャル図はRelionの方が優れていることを明らかにした。

2. 論文審査結果

本論文は、好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus vulcanus* 由来光化学系 II(PSII) 単量体の構造をクライオ電子顕微鏡を用いて初めて高分解能で解析し、二量体の構造との比較から、二量体の形成に重要な因子を特定した。また、PSII による水分解反応の活性に重要なアミノ酸残基の一つ、D1-Val185 をスレオニンに変異した変異株について、その培養、PSII 精製、活性測定を行い、同残基が酸素発生活性に重要であることを確認した。負染色による電子顕微鏡イメージから、同試料は二量体を形成し、クライオ電子顕微鏡による構造解析が可能であることを示した。さらにクライオ電子顕微鏡構造解析において、データ処理用ソフトウェアである cryoSPARK と Relion のパフォーマンスを比較し、cryoSPARK は処理時間が短く、見かけ上高い分解能を与えるが、Relion の方がよりよいマップを与えることを確認し、cryoSPARK と Relion の2つのソフトウェアの併用により、データ処理の効率と質が向上することを提案した。

本論文は、今後のクライオ電子顕微鏡法による構造解析におけるデータ処理方法の最適化について重要な知見を与えるものである。また、今回のクライオ電子顕微鏡法により得られた PSII 単量体や変異体の構造解析結果は、PSII のアセンブリー機構の解明に大きく貢献すると期待できる。

以上の研究内容から、申請者が博士として十分な素養を身に付けていると考えられる。また、申請者を筆頭著者とする PSII 単量体のクライオ電子顕微鏡による構造解析の研究論文は学術誌 *BBA-Bioenergetics* に発表されており、本専攻博士課程の修了要件を満たしている。

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られる。

また、令和4年1月25日、論文内容及びこれに関連する事項について試問を行なった結果、合格と判定した。