

氏名	中島 芳樹		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	理学		
学位授与番号	博甲第	5969	号
学位授与の日付	平成31年 3月25日		
学位授与の要件	自然科学研究科	地球生命物質科学	専攻
	(学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Structural and functional studies of oxygen-evolving photosystem II (酸素発生光化学系 II の構造・機能解析)		
論文審査委員	教授 沈 建仁	教授 高橋裕一郎	教授 高橋 卓
学位論文内容の要旨			
<p>光化学系 II(PSII)は光合成において、光エネルギーを利用して水を分解し、酸素を放出する反応を触媒している巨大膜タンパク質複合体である。本論文では、PSII の構造と機能について以下の研究を行った。</p> <p>① PSII の水分解・酸素発生中心は Mn_4CaO_5 クラスタであり、5 つの中間状態 $S_i(i=0,1,2,3,4)$ を経て反応を触媒している。この反応機構を解明するため、各中間状態の構造を解析する必要がある。このため、閃光照射によって励起させた PSII 微結晶と X 線自由電子レーザー(XFEL)を用いたシリアルフェムト秒結晶構造解析(SFX)法を用いる必要があった。私は、この方法に使用可能な PSII の微結晶化条件を確立し、得られた微結晶の分解能を向上させるために結晶化手法・結晶サイズ・結晶化後の抗凍結剤処理条件の改善を行った。その結果、2 回光照射による S_3 相当の中間体について XFEL による高分解能の X 線回折データを収集することに成功し、構造解析の結果、Mn_4CaO_5 クラスタにおける酸素分子の形成部位とその基質について有力な知見を得ることに成功した。</p> <p>② S_3 以降の中間状態を解析するためには、高濃度抗凍結剤溶液処理による S 状態の遷移効率が低下する問題を解決する必要があったため、熱発光(TL)測定を用いて遷移効率に対する種々の抗凍結剤溶液条件の影響を調べた。その結果、これまでの高濃度グリセロール処理条件が遷移効率を低下させるが、グリセロールを高濃度のジメチルスルホキシド(DMSO)に置換することで遷移効率の低下が抑制された。一方、高濃度 DMSO を含む条件でポリエチレングリコール(PEG)濃度を徐々に上昇させると、PEG 濃度依存的に活性が低下することが観察され、S_3 以降の構造解析においては低 PEG 濃度での処理が必要であることが示された。</p> <p>③ PSII に結合するガラクト脂質の一つであるスルホキノボシルジアシルグリセロール(SQDG)の機能を明らかにするため、SQDG 合成酵素を欠損させた好熱性シアノバクテリア <i>Thermosynechococcus elongatus</i> から PSII を単離精製し、結晶化・構造解析及び分光・活性測定により機能解析を行った。それらの結果、SQDG 欠損は電子受容体であるプラストキノン Q_B の交換に影響を及ぼし、単離された PSII の酸素発生活性もわずかに低下させることが分かった。PSII モノマーあたり SQDG が 4 分子結合しているが、SQDG 欠損株ではそのうちの一つはホスホチジルグリセロール(PG)に置き換わり、他の 3 つの結合部位の電子密度は不明瞭で、分子の特定はできなかった。しかし、脂質分析の結果、PSII で PG の量が著しく増えたので、SQDG が PG へ置換されたことが示唆された。SQDG のヘッド部分と周辺アミノ酸との間で形成していた水素結合の多くが PG への置換により失われ、このため PG のヘッド領域が不安定になり、これが電子密度の不明瞭さの原因であると考えられた。従って、SQDG は PSII の機能維持に重要な役割を持っており、その機能のほとんどは PG によって補うことができるが、PSII の機能を完全に発揮するためには SQDG が必要であることが示された。</p>			

論文審査結果の要旨

光化学系II(PSII)は光エネルギーを利用して水を分解し、酸素を放出する反応を触媒する巨大膜タンパク質複合体である。本論文では、水分解の反応機構やPSIIにおける脂質の一種SQDGの機能を解明するため、以下の研究を行った。

- ① PSIIの水分解反応機構を解明するため、PSII微結晶の作成方法を最適化し、得られた微結晶の質を改善し、良質な微結晶を大量に作成する方法と条件を確立した。得られたPSII微結晶を用いて、X線自由電子レーザー(XFEL)を用いたシリアルフェムト秒結晶構造解析法(SFX)により水分解のS₃-状態遷移における中間状態の一つ、S₃状態における水分解触媒Mn₄CaO₅クラスターの構造解析に成功し、酸素分子の形成部位とその基質の結合部位について重要な知見を得た。
- ② S₃以降の中間状態の構造を解析するため、結晶の分解能向上に用いた高濃度抗凍結剤によるS状態遷移効率への影響を熱発光(TL)測定により調べ、高濃度のグリセロールやポリエチレングリコール(PEG)が遷移効率を低下させるが、高濃度のジメチルスルホオキシド(DMSO)は遷移効率を低下させないことを見つけた。従って、S₃以降の構造解析においては低PEG濃度とDMSOの組み合わせを用いて抗凍結処理を行う必要があることが示された。
- ③ PSIIに結合する脂質の一つであるスルホキノボシルジアシルグリセロール(SQDG)の機能を明らかにするため、SQDG合成酵素を欠損させたPSIIを単離精製し、結晶化・構造解析及び分光・活性測定による機能解析を行った。それらの結果、SQDG欠損は電子受容体であるプラストキノンQ_Bの交換やPSII二量体の安定性に影響を及ぼしたが、欠損したSQDGの結合部位のほとんどはホスホチジルグリセロール(PG)に置き換わったことが分かった。従って、SQDGの機能のほとんどはPGによって補うことができるが、PSIIの機能を完全に発揮するためにはSQDGが必要であることが示された。

以上の結果は、PSIIによる水分解反応の機構解明やPSIIにおける脂質の役割について重要な知見を与えるものであり、また、当該学生は博士論文発表会で適切な発表と質疑応答を行った。よって、当学位審査委員会は上記学生が博士学位の授与に十分値すると判断した。