

| | | | |
|---------|--|--|---------|
| 氏名(本籍) | おお はし しゅん すけ 大橋 俊介(岡山県) | | |
| 学位の種類 | 博 士(工 学) | | |
| 学位記番号 | 博 甲 第 5290 号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成 22 年 3 月 25 日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 | | |
| 審査研究科 | 数理工学物質科学研究科 | | |
| 学位論文題目 | <i>Acaryochloris marina</i> の反応中心に関する研究 | | |
| 主査 | 物質創成先端科学専攻教授 理学博士 | | 中村 潤 児 |
| 副査 | 物性・分子工学専攻教授 博士(工学) | | 鈴木 博 章 |
| 副査 | 物性・分子工学専攻准教授 理学博士 | | 木 島 正 志 |
| 副査 | 物性・分子工学専攻准教授 博士(工学) | | 小 林 正 美 |

論 文 の 内 容 の 要 旨

我々はこれまでに、光合成研究史の中で長らく変性物だと言われ続けてきた微量色素が光合成の初期過程で重要な役割を担っており、それらの分子構造の違いによって反応中心を分類できることを明らかにしてきた。このように微量色素(鍵クロロフィル)が、明確な理由は未だ分からないが光電荷分離に不可欠である。何故このような特殊なクロロフィルが必須なのか、すべての光合成生物にこの法則は普遍的に当てはまるのか、今後の研究で答えが出せればタンパクや遺伝子の研究とは別の角度から光合成生物の進化を提唱することができ、最終的には人工光合成を構築する際の重要な知見となる。

第2章では、最も始原的なシアノバクテリアとされる *G. violaceus* と詳細な光化学系が明らかになっているシアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC6803 の色素分析の結果を比較することにより、*G. violaceus* の光化学系を明らかにすることを目的として実験を行った。その結果驚くべきことに、始原的なシアノバクテリア *G. violaceus* の色素組成は高等植物と同じで、主要色素が Chl *a*、微量色素として Phe *a* と Chl *a* を有していた。Phe *a* および Chl *a* の Chl *a* に対するモル比は、典型的なシアノバクテリアである *Synechocystis* と同じであることから、PS I と PS II のストイキオメトリーも通常のシアノバクテリアとほぼ同じであることを初めて明らかにした。次に酸素発生型光合成の PS I 二次電子受容体 A_1 は、フィロキノン(PhQ)であることが知られているが、光合成細菌と酸素発生型光合成との間に位置する *G. violaceus* の A_i は何であるのか分析を行った。その結果、*G. violaceus* の PS I にメナキノン(MQ)-4 が 2 分子存在することを初めて明らかにした。光化学系モデル図を比較すると、電子伝達成分で唯一異なるのは PS I の二次電子受容体が *G. violaceus* ではフィロキノンではなくメナキノンであったことである。 A_1 の観点から、*G. violaceus* はヘリオバクテリアに近いことが明らかとなった。

第3章では1996年に宮下らにより Chl *d* を主要色素に持つ新種の藻類 *Acaryochloris marina* がどのような光化学系を持っているのか興味を持ち分析を行い、また未だに明らかになっていない Chl *d* の酸化電位、P740 の面間隔を予想した。まず順相 HPLC による色素分析の結果、主要色素である Chl *d* の他に Chl *a*、Phe *a* そして Chl *d'* が微量検出された。*A. marina* には、Chl *a'* と Phe *d* が検出されないことから、*A. marina* ではブライム型色素として Chl *a'* ではなく Chl *d'* が、フェオフィチン型色素としては他の酸素発生型光合成と同じく Phe *a* が機能している事を初めて明らかにした。また逆相 HPLC、吸収スペクトルおよびマス分析から *A.*

marina の A_1 キノン は通常 の酸素 発生 型光合成 の A_1 と同じ く PhQ である ことを 初めて 明らかに した。次に Chl *d* の酸化 還元 電位 の測定 を行 った。大方 の予想 に反し、Chl *d* の酸化 電位 (0.88 V vs. SHE) は Chl *a* の酸化 電位 (0.81 V vs. SHE) より も高く、Chl *b* (0.94 V vs. SHE) より は低い 酸化 電位 を示 した。この 結果 を報告 した ところ、3 つの グループ が P740 の酸化 電位 の再測定 を行い、その 電位 は P700 とほぼ 同じ こと である が明らか にな った。この ことは P740 のスペシャル ペア の方が、P700 のスペシャル ペア より も分子 間相互作用 が強い ことを 示唆 する。Chl *a* の環 I の置換 基は ビニル 基 (-CH=CH₂) だが、Chl *d* はホルミル 基 (-CHO) である ため、P740 スペシャル ペア クロフィル 間では、中心 金属 Mg とホルミル 基の間に、水素 結合 (-C=O Mg) が生 じる。P700 の場合は、ビニル 基のため、そのような 結合 が生 じない。そのため、P740 のスペシャル ペア (Chl *d/d*) の方が、P700 のスペシャル ペア (Chl *a/a*) より も、強く 会合 すること になると 推測 される。この ことは、Q_y 帯の 吸収 エネルギー と P700、P740 および P870 の励起 エネルギー の差 から も支持 される。Chl *d* の酸化 還元 電位 の測定 結果 が予想 された 電位 より も高かった ことから、*A. marina* の系 I 型初発 電荷 分離 帯 P740 の再測定 を促す こと により、*A. marina* の光化学 系 の研究 において 大きな 影響 を与 えた。

第 4 章 では何故 植物 は酸化 力の低い Chl *a* を水の 酸化 に使用 している のだろうか 疑問 に考 えた。これ まで のモデル 図と異なる 点は、チラコイド 内膜 (ルーメン 側) の pH が弱酸性 (pH6)、水の 酸化 に過電圧 が +0.3 V 程度 必要、Mn 錯体 の酸化 還元 電位 は $S_0 \rightarrow S_4$ サイクル 中にシフト する、PS II の電荷 分離 は反応 中心 P680 から ではなく アクセサリ クロフィル の励起 から始まる という 点である。これ から 新規 の酸素 発生 スキーム を提案 し、さらに Chl *d* を主要 色素 とする *A. marina* について も同様に 新規 の酸素 発生 スキーム を提唱 した。

第 5 章 では Chl *d* の生合成 経路 は、その 分子 構造 から Chl *b* と同様に Chl *a* から酸化 的に生合成 されている と考 えられる が *A. marina* が発見 されて 約 14 年経 つが、未だに 明らか にされて いない。しかし 偶然 にも含水 アセトン 中に パパイン を加 えると Chl *a* \rightarrow Chl *d* 変換 反応 が起こる ことを 発見 した。有機 溶媒 中での 酵素 反応 は有機 溶媒 の種類 に大きく 依存 すること から、パパイン による Chl *a* \rightarrow Chl *d* 変換 効率 の高い 溶媒 を把握 する べく、種々 の溶媒 (メタノール、エタノール、2-プロパノール、アセトニトリル) を用いて 実験 を行 った 結果、アセトン が最も 高い 変換 効率 を示 した。また 至適 含水 率は 約 10% で、Chl *a* \rightarrow Chl *d* 変換 率は 最高 とな った。さらに 至適 温度 は 約 60°C であり、この 反応 が酵素的 であることを 支持 する 結果 とな った。Chl *d* の生合成 経路 は未だ 明らか にな っていない のだが、解明 の鍵 となる 可能性 のある 含水 アセトン 中に パパイン を加 える こと で Chl *a* \rightarrow Chl *d* 変換 反応 を発見 した ことから、今後 の Chl *d* 生合成 経路 の研究 に期待 される。

G. violaceus, *A. marina* の精密 色素 分析 の結果 から、電子 伝達 成分 から見た 系 I 型反応 中心 の進化 を述べる。まず 光合成 細菌 ヘリアバクテリア PS I 反応 中心 は BChl *g* を持ち、 A_1 として MQ を持つ のではないかと 考 えられる。次の 段階 である *G. violaceus* PS I 反応 中心 は (BChl *g*)₂ \rightarrow Chl *a/a* へと置き 換わる が A_1 として MQ である ことは 変わらない。BChl *g* \rightarrow Chl *a* は、我々 の過去 の研究 から BChl *g* の環 II が光照射 や弱い 酸触媒 の作用 により 異性化 を起こし、Chl *a* と同一 の構造 に容易 に変化 すること が明らか にされて いる。その 次の シアノバクテリア PS I 反応 中心 は Chl *a/a* のままで、 A_1 が MQ \rightarrow PhQ へと置き 換わ っている。*A. marina* PS I 反応 中心 は Chl *a/a* \rightarrow Chl *d/d* へと置き 換わる が A_1 は PhQ で 変わらない。これ らの こと から非酸素 発生 型光合成 から 酸素 発生 型光合成 へと生体内 環境 が大きく 進化 する 過程 で、PS I はあまり 大きな 変化 をして いない という 事 が初めて 明らか とな った。

審 査 の 結 果 の 要 旨

植物 の光合成 において、光電荷 分離 を担う 特殊 なクロフィル に関する 興味 深い 内容 の発表 であ った。

プライム 型クロフィル が系 I 型反応 中心 にのみ 1~2 個存在 し、初発 電荷 分離 帯 として 機能 している こと を確固 たる もの として 重要な 研究 だと思 われる。

さらに、系 I 型反応中心にのみ存在する他の微量成分（フェオフィチンや A₁ キノン）の同定およびその物理化学的特性から、系 I 型反応中心の進化（ヘリオバクテリア→始原的藍藻→藍藻→アカリオクロリス）を提唱・議論している点は、非常に独創的であり、評価できる。

また、アカリオクロリスで機能するクロロフィル d の酸化電位が、従来信じられていた値よりもかなりプラス側にシフトしていることを示し、その観点から水の酸化を物理化学的に丁寧に考察している点も高く評価できる。

偶然ではあるが酵素パパイニンによってクロロフィル a が d に変化するという発見、およびそのメカニズム解明への取り組みは、光合成研究の分野に大きなインパクトを与えるものだと感じられた。

以上のように、博士（工学）論文として高い完成度に達していると判断される。

よって、著者は博士（工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。