

[別紙 2 - 1]

審査の結果の要旨

氏名 山本 麻衣子

紅色光合成細菌はプロテオバクテリア門に属する酸素非発生型光合成を行う光合成細菌であり、光合成を含め、多様なエネルギー代謝を持つことが知られている。好気性光合成細菌は海洋表層に広く分布し、場所によっては海洋表層微生物の最優占種であることが明らかとなり、地球規模の物質循環に関わる重要な菌群であることが示唆されている。好気性光合成細菌の環境中での優占化の一因として多様なエネルギー代謝を持ち、それらを環境の変化に応じて使い分けることが考えられる。好気性光合成細菌の光合成の発現は光によって抑制されるという、一見矛盾したユニークな制御を受けていることが知られているが、その詳細な制御機構は不明な点が多い。そこで本研究では、好気性光合成細菌 *Roseobacter denitrificans* OCh114 を材料とし、その光合成制御機構を明らかにすることを目的とした。本論文は、4章からなる。第1章においてこれまでの研究を包括的に述べ、第2章では OCh114 株において光合成関連遺伝子発現への関与が示されている LOV-HK の光応答性とシグナル伝達方法について調べ、さらに第3章では光合成関連遺伝子の抑制解除機構の探索を行ない、第4章では総括と展望を述べている。

第2章においては、LOV-HK による光合成制御機構の解明を行った。

LOV-HK は一般的に N 末端側に LOV (Light, Oxygen, Voltage) ドメイン、C 末端側にヒスチジンキナーゼドメインを持つ二成分制御系のヒスチジンキナーゼである。本章では、本菌の LOV-HK タンパク質の光応答性と生体での光による光合成発現抑制との関係性及び LOV-HK のシグナル伝達経路について解析を行なった。

OCh114 株の LOV-HK を大腸菌で異種発現・精製したところ、本菌の LOV-HK は FMN を発色団として含み、他の LOV ドメインと同様に光を照射することで、フラビンとシステイン残基との間で一過的な共有結合の形成が確認され、光応答性を示すことが明らかとなった。さらに、アミノ酸置換変異体の解析から、このフラビンと共有結合を形成するシステイン残基は LOV ドメイン内の Cys69 であることを特定した。LOV-HK タンパク質で見られた青色光応答性が、OCh114 株の暗条件と青色光条件での光合成関連遺伝子の発現の違いに関与しているのかを調べるため、 Δ LOV-HK 株に野生型 LOV-HK または光応答性が失われた LOV-HK-C69A 変異体をそれぞれ相補した株を利用して、暗条件と青色光条件での光合成関連遺伝子の発現の違いを調べた。LOV-HK-C69A 変異体の相補株は野生型相補株と同様に青色光照射による光合成関連遺伝子の転写抑制が み

られ、暗条件と青色光条件での光合成発現の違いの制御に LOV-HK の Cys69 を介した光応答性は関係しないことが示され、OCh114 株の LOV-HK は光とは異なるシグナルをセンシングしている可能性が示唆された。

LOV-HK-C69A 変異体においても非共有結合的な FMN の結合は維持されていたため、LOV-HK が FMN を補因子とするレドックスセンサーとして機能していることが予想された。結果として、青色光による光合成抑制は好気条件でのみ見られ、嫌気条件では全く見られず、細胞の酸化還元状態が光合成制御において重要な因子であることが示唆された。

ヒスチジinkinナーゼのシグナル伝達はリン酸基転移によって行われる。LOV-HK のアミノ酸配列のアライメントを作製したところ、OCh114 株を含むいくつかの生物種の LOV-HK では、ヒスチジinkinナーゼにおいて保存されているリン酸化されるヒスチジン残基が保存されていないことが明らかとなり、さらに、本菌の LOV-HK はシュードヒスチジinkinナーゼの一種であり、一般的なヒスチジinkinナーゼで見られる His-Asp のリン酸リレーとは異なる、新規なシグナル伝達方法により光合成を制御していることが示唆された。

第 3 章においては光合成関連遺伝子の発現抑制解除機構の探索を行った。

LOV-HK、RD1-1653、PpaA の 3 つを PpsR のアンチリプレッサー候補としてあげ、PpsR との相互作用の解析や破壊株を作製し光合成制御との関わりを調べた。この中で、PpaA が変異株とその相補株の解析から、PpsR のコリプレッサーであることが示唆されたが、ゲルシフトアッセイでは PpsR との相互作用は見られなかった。

一方では、好気呼吸の末端酸化酵素阻害剤である NaN_3 の添加が光合成関連遺伝子の転写に及ぼす影響を調べた。 NaN_3 を添加することで *bchC* 転写レベルの上昇が見られた。ゲルシフトアッセイ結果から、 NaN_3 の添加による *bchC* 転写レベルの増加は、 NaN_3 が PpsR に直接作用したためではなく、呼吸阻害による酸化還元状態の変化による可能性が考えられた。OCh114 株では呼吸の電子受容体がない条件や（第 2 章）、末端酸化酵素が阻害されている条件といった還元力の消費がしづらい条件で光合成関連遺伝子の発現抑制が解除されるという制御が働くことが示された。

第 4 章においては、本研究を総括し、展望を述べている。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。