

## 論文審査の結果の要旨

氏名 宮田 一範

本論文は5章からなる。第1章はイントロダクションで、本研究における問題意識が述べてある。葉への入射光が強いつき、葉緑体の光合成系 II は光阻害を受け、その光阻害の程度は光化学系 II 反応中心を擁する D1 タンパク質の光損傷と修復とのバランスによって決まる。D1 タンパク質のターンオーバー速度は速く、その半減期は強光下では30分程度という短さなので、D1 タンパク質のターンオーバーには大きなエネルギーコストがかかるはずである。しかし、コストの定量例は乏しい。また、植物間の違いはほとんど明らかになっていない。これらを解明することは、生理生態学として大きな意義がある。光化学系 II 光阻害は、過剰なエネルギーによって D1 タンパク質が損傷されることによって起こると考えられてきた（過剰エネルギー説）。しかし、2005年に提出された2ステップ説によれば、まず、酸素発生複合体中の Mn クラスターから Mn イオンが解離し酸素発生活性が失われ、これが原因となって D1 タンパク質が損傷を受けるとされる。Mn クラスターの不活性化は Mn による光吸収がきっかけとなるため、著しい光波長依存性を示す。一方、Mn クラスターの再活性化には、光が必要であることがわかっている。しかし、光化学系 II の修復において、不活性化した Mn クラスターの再活性がどのように行われているのかは、全く明らかにされていない。この課題への取り組みとして、本研究で行った、キュウリの葉を暗黒下で低温処理して Mn クラスターを損傷したモデルシステムを用いた解析の意義も述べられている。

第2章には、光化学系 II の D1 タンパク質を修復するためのエネルギーコストの定量した研究について述べてある。異なる光強度で栽培した、ホウレンソウ成熟葉の D1 タンパク質の損傷 ( $k_{pi}$ ) と修復 ( $k_{rec}$ ) の反応速度定数を、損傷と修復を一次反応式で表現したモデルに基づいて算出した。光化学系 II の D1 タンパク質ターンオーバーのコストは、HL 葉、LL 葉ともに光合成産生 ATP 量に対して 0.5%以下であった。これらの結果をもとに、修復速度定数 ( $k_{rec}$ ) が日積算光合成量に及ぼす影響をシミュレーションした。 $k_{rec}$  を半減させれば日積算光合成量は大きく低下するが、 $k_{rec}$  を倍加させても日積算光合成量はそれほど変わらなかった。この結果は、修復速度が適切に設定されていることを初めて明確に示したものである。

第3章には、野外植物における光阻害と光環境の関係が述べてある。 $k_{rec}$  は光馴化によって最適値となるという仮説を立て、野外の植物を用いて検証を試みた。野外植物の  $k_{rec}$  を定量するために、東京大学構内において群生している植物 6 種を用いた。 $k_{rec}$  は、生育光強度の増加にともない大きくなった。このことは、 $k_{rec}$  の生育光強度依存性が、普遍的な反応であることを示している。また、野外植物は栽培植物に比べ、高い非光化学消光能を有することも明確になった。これに関しては、野外植物は変動光下にあり、普段から強光に曝される機会があるためであると考察した。

第4章には、光化学系 II Mn クラスターの光再活性化に関する実験結果が述べられている。キュウリの葉を氷水に浮かべ暗所に48時間置くと、Mn クラスターから Mn イオン

ンが解離する。この状態の葉を室温に戻し、異なる光強度の白色光、青色光、緑色光、赤色光を 30 min 照射した。光再活性化後のキュウリ葉から葉緑体を単離し、光化学系 II による dichlorophenol indophenol (DCIP) の光還元を、光化学系 II 反応中心への電子供与体である diphenylcarbazide (DPC) を存在下／非存在下で測定した。不活性化状態の Mn クラスターの光再活性化に最適な PPFD は、どの色の光でも  $5 - 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の弱光であった。特に、 $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の緑色光で Mn クラスターが最も光再活性化された。緑色光が Mn クラスターの光再活性化に最も有効である結果に関する考察が述べられている。強光下では、Mn の光活性化よりも不活性化が起こったので、2 ステップ説で光阻害が起こるとすれば Mn クラスターの修復には特殊な機構が必要であるはずである。

最終章には、本研究の成果がまとめてあり、将来の研究への展望が述べられている。修復速度定数 ( $k_{\text{rec}}$ ) は、生育光強度に強く依存している。また、種間差もある。修復速度の律速過程を明らかにし、その律速過程の環境依存性を明らかにしなければならない。また、Mn クラスターが傷むとする 2 ステップ説が正しいとするならば、強光下で Mn クラスターが最活性化するメカニズムを検討することは最重要課題の 1 つである。

なお、本論文第 2 章は、野口航、寺島一郎との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を進め、論文を執筆した。論文提出者の寄与が十分であると判断する。

本論文は、2 つの方向から光阻害の実体解明を進め、意義ある問題提起を行ったもので、当該分野への貢献は十分である。したがって、博士の学位を授与できると認める。