

学 位 論 文 題 名

# Study on the Oxygen-Dependent Electron Transport in Chloroplasts

（葉緑体における酸素依存電子伝達に関する研究）

## 学位論文内容の要旨

植物における光合成電子伝達系は、二酸化炭素固定系より養分欠乏に対する耐性が強いと考えられている。従って、養分欠乏状態での過剰な電子は、葉緑体呼吸が高等植物葉に存在するのであれば PQ プールから酸素へ流れ、さらに Mehler 反応として PSI の電子アクセプターから酸素へ流れることが予想される。Mehler 反応では酸素から有毒な活性酸素が生成されるが、光合成のためには酸素が必要であることを示すいくつかの証拠がある。なぜ酸素が光合成の為に必要なのか、葉緑体呼吸が存在するかどうかは未だ不明である。

本研究は、(i) 葉緑体呼吸の存在、(ii) 正常な状態と養分欠乏状態で生育した各種の陸生植物葉における酸素依存電子伝達、および (iii) 酸素依存電子伝達の役割と蛍光誘導の機構を明らかにすることを目的として実施した。得られた結果の概要は以下の通りである。

1) Rosid で  $C_3$  植物 (*Maackia amurensis*, ダイズ), Monocot で  $C_3$  植物 (ヨシ、ササ)、および Monocot で  $C_4$  植物 (トウモロコシ) などの陸生植物葉における酸素依存電子伝達を酸素存在または酸素欠如状態で蛍光誘導を測定することにより推定した。酸素による PQ プールの酸化と関係があると考えられる酸素除去による ピーク (P) の増加は トウモロコシ、ヨシ、およびササなどの Monocot 植物で Rosid 植物 (*Maackia amurensis*, ダイズ) より高かった。一方、酸素除去による slow quenching の最終段階における蛍光強度の増加は ヨシ、ササ、ダイズ、および *Maackia amurensis* などの  $C_3$  植物で トウモロコシ のような  $C_4$  植物より高かった。このことは酸素除去による slow quenching の最終段階における蛍光強度の増加が光呼吸と関係があることを示唆した。

2) 銅欠乏のトウモロコシ、コムギ、イネ、およびダイズの葉における蛍光誘導の特長は、I - レベルの増加、P - ピークの減少、ならびに slow quenching の遅延にあった。HgCl<sub>2</sub> と methylviologen を用いた実験結果は、

plastocyanin における電子伝達が銅欠乏によって抑制されることを示した。そこで、銅欠乏を PSI 電子伝達抑制の手段として、酸素による PQ プールの酸化と Mehler 反応を別々に測定するために利用した。酸素除去による slow quenching の増加は銅欠乏によって抑制されたが、酸素除去による P-ピークの増加は銅欠乏によって増加もしくは変わらなかった。これらの結果は酸素による PQ プールの酸化あるいは葉緑体呼吸が高等植物葉に存在することを示すものであり、葉緑体呼吸は酸素除去による P-ピークの増加によって測定することが可能であることを示す。Mehler 反応は酸素除去による 4.5-60 s 間での slow quenching の増加から見積ることができる。

3) 標準、-N、-P、-K、および -S 処理で栽培した植物（トウモロコシ、コムギ、ダイズ、ヒマワリ、ササ、*Maackia amurensis*、および *Populus maximowiczii*）における酸素依存電子伝達を測定した。すべての植物で葉緑体呼吸および Mehler 反応が -N と -S 処理によって増加した。-N および -S 処理は、variable fluorescence ( $F_v = P - O$ ) によって見積られた PSII での電荷分離を減少させたが、 $F_v/P$  によって見積られた PSII の光化学効率は -N 及び -S 処理によって影響を受けなかった。

4) 進化レベルを異にする陸生植物の葉における酸素依存電子伝達を酸素の存在および欠如状態で蛍光誘導を測定することにより判定した。低い P-ピークと slow quenching の早期発現は Conifers、Ginkgo、Cycads、Pteridophytes、および Bryophytes のような進化的に古い植物の蛍光誘導の主な特性であった。進化的に古い植物における葉緑体呼吸および Mehler 反応は、進化的に新しい植物より高かった。

5) 進化レベルを異にする陸生植物の葉緑体のグラナ構造を電子顕微鏡を用いて調べた。進化的に新しい植物ではチラコイドの数が多く、チラコイド間隙が狭い長方形のグラナが良く発達していた。一方、進化的に古い植物ではチラコイドの数が少なく、チラコイド間隙が広い平行四辺形の未発達なグラナが観察され、グラナが見られないものもあった。進化的に古い植物の蛍光誘導 transients の酸素除去に対する反応が進化的に新しい植物より高かったことと、それらの早期発現は、進化的に古い植物における酸素依存電子伝達と光に対する光合成系の適応が進化的に新しい植物より速いことを示した。酸素依存電子伝達がない場合には光合成系の光適応性が低下した。これらの結果はグラナ構造が蛍光誘導のパターンと酸素依存電子伝達を制御していることを示す。進化的に新しい植物では PSII $\alpha$  クラスターがグラナ構造を作り出し、二酸化炭素固定酵素を PSII $\alpha$  における電荷分離によってグラナに取り込み、グラナ構造を安定させ、光合成電子伝達を効率的にし、酸素依存電子伝達を減少すると結論した。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 但 野 利 秋

副 査 教 授 喜久田 嘉 郎

副 査 助教授 大 崎 満

## 学 位 論 文 題 名

# Study on the Oxygen-Dependent Electron Transport in Chloroplasts

(葉緑体における酸素依存電子伝達に関する研究)

本論文は、図 19、表 10、引用文献 166 を含む総頁数 82 の英文論文であり、別に参考論文 9 編が添えられている。

本研究の目的は、(i) 葉緑体呼吸の存在、(ii) 正常な状態と養分欠乏状態で生育した各種の陸生植物葉における酸素依存電子伝達、および (iii) 酸素依存電子伝達の役割と蛍光誘導の機構を明らかにすることである。得られた結果の概要は以下の通りである。

1) 銅欠乏植物の葉における蛍光誘導の特長は、I - レベルの増加、P - ピークの減少、ならびに slow quenching の遅延にあった。HgCl<sub>2</sub> と methylviologen を用いた実験結果は、plastocyanin における電子伝達が銅欠乏によって抑制されることを示した。そこで、銅欠乏を PSI 電子伝達抑制の手段として、酸素による PQ プールの酸化と Mehler 反応を別々に測定するために利用した。酸素除去による slow quenching の増加は銅欠乏によって抑制されたが、酸素除去による P - ピークの増加は銅欠乏によって増加もしくは変わらなかった。これらの結果は酸素による PQ プールの酸化あるいは葉緑体呼吸が高等植物葉に存在することを示すものであり、葉緑体呼吸を酸素除去による P - ピークの増加によって測定することが可能であることを示す。Mehler 反応は酸素除去による 4.5-60 s 間での slow quenching の増加から見積ることができる。酸素除去による T-level (slow quenching の最終段階における蛍光強度) の増加は C<sub>3</sub> 植物で C<sub>4</sub> 植物より高かった。このことは酸素除去による T-level の増加が光呼吸と関係があることを示唆する。

2) 標準、-N、-P、-K、および -S 処理で栽培した植物（トウモロコシ、コムギ、ダイズ、ヒマワリ、ササ、*Maackia amurensis*、および *Populus maximowiczii*）における酸素依存電子伝達を測定した。すべての植物で葉緑体呼吸と Mehler 反応が -N と -S 処理によって増加した。-N および -S 処理は、variable fluorescence ( $F_v = P - O$ ) によって見積られた PSII での電荷分離を減少させたが、 $F_v/P$  によって見積られた PSII の光化学効率は -N 及び -S 処理によって影響を受けなかった。

3) 進化レベルを異にする陸生植物の葉における酸素依存電子伝達を酸素の存在および欠如状態で蛍光誘導を測定することにより判定した。低い P-ピークと slow quenching の早期発現は Conifers、Ginkgo、Cycads、Pteridophytes、および Bryophytes のような進化的に古い植物の蛍光誘導の主な特性であった。進化的に古い植物における葉緑体呼吸と Mehler 反応は、進化的に新しい植物より高かった。進化的に新しい植物の中では Monocot 植物における葉緑体呼吸が Rosid 植物より高かった。

4) 進化レベルを異にする陸生植物の葉緑体のグラナ構造を電子顕微鏡を用いて調べた。進化的に新しい植物ではチラコイドの数が多く、チラコイド間隙が狭い長方形のグラナが良く発達していた。一方、進化的に古い植物ではチラコイドの数が少なく、チラコイド間隙が広い平行四辺形の未発達なグラナが観察され、グラナが見られないものもあった。進化的に古い植物の蛍光誘導 transients の酸素除去に対する反応が進化的に新しい植物より高かったことと、それらの早期発現は、進化的に古い植物における酸素依存電子伝達と光に対する光合成系の適応が進化的に新しい植物より速いことを示した。酸素依存電子伝達がない場合には光合成系の光適応性が低下した。これらの結果はグラナ構造が蛍光誘導のパターンと酸素依存電子伝達を制御していることを示す。進化的に新しい植物では PSII $\alpha$  クラスターがグラナ構造を作り出し、二酸化炭素固定酵素を PSII $\alpha$  における電荷分離によってグラナに取り込み、グラナ構造を安定させ、光合成における電子伝達を効率的にし、その結果、酸素依存電子伝達は減少すると結論した。

以上のように、本研究は植物の光合成電子伝達系における酸素依存電子伝達の存在とその役割を明らかにしたものであり、学術的に高く評価される。よって審査員一同は、ソドフ・ダムディンスレン が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。