

氏名	稲垣純子		
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 1305 号		
学位授与の日付	平成 6 年 9 月 30 日		
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文題目	STUDIES ON TRANSPORT OF THE NUCLEUS-ENCODED 30 kDa PROTEIN OF PHOTOSYSTEM II INTO <i>EUGLENA</i> CHLOROPLASTS (ユーグレナ光化学系 II 30kDaタンパク質の葉緑体への輸送に 関する研究)		
論文審査委員	教授 佐藤 公行	教授 榎本 雅敏	教授 香川 弘昭
	教授 白石 友紀	教授 土屋 友房	

学位論文内容の要旨

ユーグレナの葉緑体チラコイド内腔タンパク質である酸素発生系30kDaタンパク質(OEC30)が、細胞質で分子量45kDaの単量体前駆体タンパク質として合成されることをmRNAのin vitro翻訳産物の免疫沈殿と、in vivoのパルス-チェイス実験から明らかにした。パルス-チェイス実験で、OEC30前駆体の成熟化が高等植物のOEC33前駆体の成熟化に較べ遅く、また輸送中間体が検出されないことが示され、葉緑体の包膜通過過程に、前駆体輸送の律速段階が存在することが示唆された。またユーグレナOEC30前駆体は、遊離ポリソームで合成され、直接葉緑体に輸送されることがわかった。ユーグレナの葉緑体包膜は3重の膜からなることが知られているが前駆体タンパク質の構造が、葉緑体包膜の構造的特性と関連があるのかについて調べるため、ユーグレナOEC30前駆体のcDNAのクローニングを行った。OEC30成熟型部分は、高等植物や緑藻OEC33と60%以上の相同性を示したが、トランジットペプチド(プレ配列)部分の相同性は低いことが明らかになった。またこの前駆体のプレ配列のアミノ末端には、高等植物には見られないシグナルペプチド様の疎水性領域が存在することがわかった。このトランジットペプチドのタンパク質輸送における役割を理解するために、ユーグレナOEC30とエンドウOEC33のキメラ前駆体を

作成し、高等植物の葉緑体への輸送実験を行った。OEC30前駆体アミノ末端側の疎水性配列には、高等植物の葉緑体を認識する能力はなく、高等植物の葉緑体への輸送にとっては障害となる配列であると言える。おそらくこの配列は、最外層膜通過あるいは最外層膜の認識に必要とされるユーグレナ特有の配列と思われる。カルボキシ末端側の推定されるチラコイド輸送領域は、構造的にもチラコイド膜通過における機能の点でも高等植物のものに類似していることがわかった。

論文審査の結果の要旨

本研究では、単細胞藻類ユーグレナ葉緑体の光化学系IIの形成機構と関連して、光化学系IIの構成タンパク質のひとつである膜表在性30kDaタンパク質の葉緑体への輸送の過程が詳細に検討された。ユーグレナでは、核DNAにコードされているいくつかのタンパク質がpolyprotein前駆体として合成されることが知られているが、光化学系II 30kDaタンパク質は、monomerの成熟型タンパク質のN末端側に輸送ペプチドをもつ一般的な前駆体の構造をもつこと、また、その輸送ペプチドは高等植物のタンパク質のものに比較してかなり長いことが、mRNAの翻訳産物の免疫沈殿、in vivo pulsechase実験、およびcDNAクローニングによるタンパク質前駆体のタンパク質一次構造の推定より明らかにされた。また、この前駆体の輸送ペプチド中に、ユーグレナのタンパク質に極めて特徴的とおもわれるN末疎水性領域と高等植物の対応するタンパク質（33kDaタンパク質）にも存在するC末疎水領域が見出された。ユーグレナ葉緑体の包膜は3層の膜ならなり、ユーグレナの細胞質で合成されたタンパク質前駆体は、この包膜を通過して葉緑体内へ輸送される。30kDaタンパク質の輸送ペプチドで見いだされた複数の疎水性領域がタンパク質輸送において果たす役割を明らかにするために、単離葉緑体をもちいたin vitroでの前駆体タンパク質輸送実験が行われた。ユーグレナ葉緑体の単離は極めて困難であったので高等植物（ホウレンソウ）の葉緑体への輸送の系が用いられた。この結果、ユーグレナ30kDaタンパク質は低い効率ながら高等植物葉緑体へ輸送されること、そして恐らく高等植物と共通の機構で輸送が行われることが示された。またユーグレナの30kDaタンパク質と高等植物の33kDaタンパク質のキメラを用いた実験から、ユーグレナの30kDaタンパク質前駆体に存在するN末疎水性領域はユーグレナ葉緑体包膜の通過に関与し、C末疎水性領域はチラコイドの通貨に関与することが示された。これらの研究結果は、これまで知られていなかったユーグレナ葉緑体へのタンパク質輸送に必要な前駆体プレ配列のシグナルと葉緑体膜系との相互作用の性格を明らかにし、葉緑体の進化および細胞内タンパク質輸送系の進化を理解する上で重要な知見を与えた。以上の理由により、本研究は、博士の学位授与にふさわしいものであると判定した。