

Title	シアノバクテリアの呼吸と光合成の電子伝達系-チトクロムオキシダーゼとチトクロムb6f複合体について-
Author(s)	南, 善子
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/2712
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	みなみ 南	よし 善	と 子
学位の種類	理	学	博 士
学位記番号	第	8 5 6 9	号
学位授与の日付	平成元年3月24日		
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当		
学位論文題目	シアノバクテリアの呼吸と光合成の電子伝達系 —チトクロムオキシダーゼとチトクロムb _{6f} 複合体について—		
論文審査委員	(主査) 教授 松原 央	(副査) 教授 濱口 浩三	教授 堀尾 武一

論 文 内 容 の 要 旨

シアノバクテリアは、光合成を行う原核生物である。共生進化説では、クロロプラストの起源として考えられており、植物の進化を知る上で非常に興味深い生物である。その光合成の電子伝達鎖は、クロロプラストのものと同じように、PS II, チトクロムb_{6f}複合体, PS I という3つの複合体から構成されている。シアノバクテリアは、また、暗条件下で呼吸を行っていることが知られている。この呼吸系は、ミトコンドリアの呼吸鎖と同様なものであると考えられているが、チトクロムbc₁複合体にかわって、チトクロムb_{6f}複合体が呼吸と光合成の両方の電子伝達体として働いていると推定されている。シアノバクテリアの呼吸系が、光合成系の一部を共有しているとする、この呼吸系のしくみを解明することは、電子伝達鎖の進化を知る上でたいへん重要なことである。本研究においては、この呼吸系を明らかにすることを目的として実験をおこなった。

Spirulina からチトクロムb_{6f}複合体を単離した。n-ヘプチルβ-D-チオグルコシドを界面活性剤としてもちい、DEAE-トヨパールカラムクロマトグラフィーによって精製した。得られたチトクロムb_{6f}複合体は、29 KDaのチトクロムf, 23 KDaのチトクロムb₆, 約20 KDaの鉄-硫黄タンパク質, 17 KDaポリペプチドからなっていた。各々のポリペプチドは、メルカプトエタノールや尿素での処理により複合体から単離することができた。各々の吸収スペクトルを測定したところ、チトクロムfとチトクロムb₆のαピークは各々554と562 nmに、鉄-硫黄タンパク質の吸収極大は415 nmに存在していた。さらに、このチトクロムb_{6f}複体のユビキノール-チトクロムcオキシドレダクターゼ活性を測定した。この活性は、特異的な阻害剤ジプロモチモキノンにより効果的に阻害を受けた。

Synechocystis PCC 6714の膜をもちいて、チトクロムオキシダーゼおよびPS Iの酸素消

費活性を測定した。種々の可溶性のチトクロムやプラストシアンインとの反応性から、チトクロム b6f 複合体とチトクロムオキシダーゼの間の電子伝達体は、プラストシアンインではなく、チトクロム c553 であることが明らかになった。チトクロムオキシダーゼのユビキノールに対する K_m 値は、 $26.7 \mu\text{M}$ 、ウマのチトクロム c では、 $14.1 \mu\text{M}$ であり、PS I のものとよく一致していた。また、チトクロムオキシダーゼは、4 mol の酸素分子を消費し、シアンやアジドのような阻害剤で効果的に阻害を受けた。また、チトクロム b6f 複合体に特異的な阻害剤ジプロモチモキノンによって阻害を受けることから、この電子伝達鎖は、チトクロム b6f 複合体をとおっていることが示唆された。さらに、*Synechocystis* PCC 6714 の膜画分からチトクロムオキシダーゼの可溶化し、部分精製をおこない、その性質について検討した。

論文の審査結果の要旨

本研究において南さんは光合成を行う原核生物、シアノバクテリア（藍藻）の電子伝達系が、呼吸を行うための電子伝達系と共通する部位をもつことに着目し、その実体を明らかにしようとした。まずスピリリナのチトクロム b6f 複合体を n -ヘプチル P-D-チオグルコシドで可溶化し、DEAE-トヨパールカラムクロマトグラフィーの導入によって従来困難であった大量処理に成功した。この成分は4つのポリペプチドから成り、ミトコンドリアの呼吸鎖成分 bc₁ 複合体の成分構成とは比較にならぬくらい単純ではあるが、電子伝達機能を担うサブユニットは頗る類似していることが確認できた。この b6f 複合体のユビキノール・チトクロム c 酸化還元活性の反応速度論的データを集積した。一方シネコユツカスのチラコイド膜を用いてチトクロム酸化酵素と光化学系 I の酸素消費活性を各種の電子供子体、受容体を用いて測定し、阻害剤による活性の変化をも比較することによって b6f 複合体がチトクロム酸化酵素に電子を伝達し、その中間電子伝達色素蛋白質としてチトクロム C553 を同定し、その結果1モルの酸素分子を4モルのチトクロム C が還元して水を生成することを確認した。さらにこの酸化酵素を膜画分から抽出、部分精製し、各種の性質を検討したところミトコンドリアに存在するものとよく似ていることを示唆しえた。

以上のことよりシアノバクテリアには呼吸鎖が存在し、しかもそれはチトクロム b6f 複合体によって、光合成の電子伝達鎖とつながっていることが示唆された。さらにチトクロム b6f 複合体とチトクロム酸化酵素との間の電子伝達体はプラストシアンインではなくチトクロム C553 であることが明らかとなった。

以上の成果は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認めるものである。