

Title	光合成細菌Rhodospirillum rubrumの光反応単位蛋白質複合体の分子構築
Author(s)	田中, 弘一郎
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33357
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	田 中 弘 一 郎
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 5 9 6 7 号
学位授与の日付	昭 和 58 年 3 月 25 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	光合成細菌 <i>Rhodospirillum rubrum</i> の光反応単位蛋白質複合体の分子構築
論文審査委員	(主査) 教授 堀尾 武一 (副査) 教授 佐藤 了 教授 松原 央 助教授 山下 仁平

論 文 内 容 の 要 旨

光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* のクロマトホア膜から、すでに反応中心および集光性バクテリオクロフィル (LHB) 蛋白質複合体を含む、粒子量約700Kの機能的蛋白質複合体 (光反応単位, PRU) を精製し、この粒子が6回回転対称構造を有することを明らかにした。ここでは、段階的解体法、トリプシン処理、音波処理、およびクロロフィラーゼ処理を用いて、光反応単位および電子伝達系のクロマトホア膜中における分子構築と機能について調べた。

精製した光反応単位を、コール酸またはコール酸十デオキシコール酸に種々の濃度のリチウムドデシル硫酸 (LDS) を加えた混液を用いて温和な条件で解体し、生成した蛋白質複合体試料に含まれる LDS の除去と迅速な分離を兼ねて、高速分子篩クロマトグラフィを行った。その結果、光反応単位は段階的に解体され、粒子量の高い方から順に、PL1, PL2, PL3, PL4, PL4', PL5 の 6 種類の分画に分離された。得られた各分画の SDS 電気泳動による蛋白質の組成および結合比の分析、吸収スペクトルおよび反応中心活性の測定などから以下のことが明らかになった。1) PRU は、粒子量約700Kで、9種類の蛋白質から成っており、分子量40K, 39K, 31K, 25K, 22Kの蛋白質が各々1個、12Kと11Kの蛋白質が各々12個、10Kと9Kの蛋白質が各々6個結合していた。2) PL1は、粒子量約560Kで、PRUから10Kと9Kの蛋白質が脱離した複合体であり、吸収スペクトルおよび反応中心の活性はPRUとほとんど同じであった。3) PL2は、粒子量約340KでPL1から39Kおよび約1/2量の12Kと11Kの蛋白質が脱離した複合体であった。4) PL3は、粒子量約160Kで、31K, 25K, 22Kの反応中心のサブユニット (H, M, L) に少量の12Kと11Kの蛋白質が結合した複合体であった。5) PL4は粒子量約90Kで、反応中心のMサブユニットに12Kと11Kの蛋白質が、わずかに結合した

複合体であった。6) PL4'は、粒子量約90Kで、反応中心の3種類のサブユニットから成っており、吸収スペクトルも単離した反応とほとんど同じであった。しかしながら、この複合体は、光照射による反応中心活性を示さなかった。7) PL5は40K, 39K, 12K, 11Kの蛋白質の混合物であった。一方、低温におけるPRUのLDS電気泳動の結果、12Kの蛋白質がLHB結合蛋白質と同定された。

光反応単位、電子伝達系および光リン酸化系に含まれる種々の蛋白質のクロマトホア膜における結合部位および結合強度を検討する目的で、クロマトホアのトリプシン処理および音波処理を行った。その結果、ATPaseの α および β サブユニット、反応中心のHサブユニットおよび39Kの蛋白質は、クロマトホア膜の外側表面に弱く結合しており、Mサブユニットとチクロム c_2 は、Hサブユニットに被われ、膜の中で近接して弱く結合していると考えられた。一方、反応中心のLサブユニットは、Mサブユニットとチクロム c_2 に被われ、膜の最も内側に強く結合しており、反応中心の活性発現に密接に関係していると思われた。また、ユビキノ-10結合蛋白質およびLHB結合蛋白質はクロマトホア膜中に埋れて、強固に結合していると考えられた。

ライ麦から精製したクロロフィラーゼがバクテリオクロロフィルを水解することを利用して、クロマトホア膜に結合したLHBの結合部位および結合状態について検討した結果、LHBはその高級アルコール部分を蛋白質の中に挿入し、ポルフィリン環を溶液側につき出した状態で、クロマトホア膜の裏側に結合していると考えられた。

以上の結果と光反応単位が6回回転対称構造を有することから、クロマトホア膜中における光反応単位および電子伝達系の分子配列のモデルを提出した。

論文の審査結果の要旨

光合成細菌*Rhodospirillum rubrum*のクロマトホア膜から、すでに、反応中心および集光性バクテリオクロロフィル蛋白質複合体を含む機能的蛋白質複合体（光反応単位：粒子量約70万）が精製されており、それが6回回転対称構造をもつことが報告されていた。

本論文では、段階的解体法、トリプシン処理、音波処理およびクロロフィラーゼ処理を用いて、光反応単位のクロマトホア膜中における分子構築と機能が研究されている。

精製した光反応単位を種々の表面活性剤の適当な混合液によって解体し、高速分子篩クロマトグラフィによって分離し、分析した。その結果、光反応単位は9種の蛋白質から成っており、分子量40K, 39K, 31K, 25Kおよび22Kの蛋白質が各々1個、12Kおよび11Kの蛋白質が各々12個、また、10Kおよび9Kの蛋白質が各々6個結合したものであることが判明した。

光反応単位は、段階的に、6種の異なる粒子量へ解体され、分離、分析された。その結果、光反応単位を構成する9種の蛋白質が互にどのように結合しているかが判明した。

更に、クロマトホアのクロロフィラーゼ処理、トリプシン処理および音波処理を行った結果、集光性バクテリオクロロフィルは12K蛋白質に結合しており、しかも、その高級アルコール部分を蛋白質

中に挿入し、そのポルフィリン環を溶媒側に突き出した状態で、クロマトホア膜の裏側に存在すること、ATPaseの α および β サブユニット、反応中心のHサブユニットおよび39K蛋白質はクロマトホア膜の外側表面に弱く結合していること、また、反応中心のMサブユニットおよびチトクローム c_2 はHサブユニットにおおわれ、膜中で近接して存在すること、集光性バクテリオクロロフィル蛋白質複合体およびユビキノ-10蛋白質はクロマトホア膜に埋れて、膜に強固に結合していること、などが明らかとなった。

本論文は、光合成電子伝達系のクロマトホア膜中での分子構築を明らかにするとともに、分子的機作の解明に極めて役立つ研究内容をもつ。よって、本論文を、理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認める。