



Title	光合成的酸素発生系の免疫化学的解析
Author(s)	青木, 邦夫
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35214
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【1】

氏名・（本籍）	あお 青	き 木	くに 邦	お 夫
学位の種類	理	学	博	士
学位記番号	第	7 1 6 7	号	
学位授与の日付	昭和 61 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	光合成的酸素発生系の免疫化学的解析			
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			

論文内容の要旨

緑色植物の葉緑体チラコイド膜には、2つの光化学系複合体（光化学系ⅠおよびⅡ）が存在する。光化学系Ⅱは、約9種類の蛋白質を含む複合体で、水を分解し、その結果、酸素を発生する機能をもつ。そこで、酸素発生系の分子構築と、それぞれの蛋白質の機能を相関させる目的で、免疫化学的手法を用いて、酸素発生系の解析を行なった。

ホウレンソウのチラコイド膜における、酸素発生に関与すると考えられている、分子量33k, 24k, 17kの蛋白質と、クロロフィル結合蛋白質である、47k, 43k, 27kの計6種の蛋白質に対し、ポリクローナル抗体を調製した。これらの抗体を用いて、光化学系Ⅱ標品の解体に伴う、それぞれの抗原に対する抗体の結合量の変化、および、酸素発生活性と電子伝達活性に対する影響を調べた。抗原として用いたそれぞれの蛋白質の存在様式について、次のように考えられる。1) 33k, 24k, 17k蛋白質は、分子表面を膜から露出されている。特に17k蛋白質は、その傾向が著しい。2) 47k, 43k, 27kは膜内で複合体を形成している。27k蛋白質(集光性クロロフィル蛋白質)は、複合体の外側に存在し、47k, 43kの反応中心蛋白質は、複合体の内側の方に存在すると考えられる。特に47k蛋白質は、抗体が結合できないような内部に存在すると思われる。

一方、酸素発生活性と電子伝達活性に対する影響から、それぞれの蛋白質の機能について次のように考えられる。1) 33k, 24k, 17k蛋白質に対する抗体は、酸素発生活性を阻害し、電子伝達活性を促進した。この結果については、酸素発生反応と電子伝達反応の脱共役が起こったものと考えられることから、これら3種の蛋白質は、酸素発生反応に関与し、光化学系Ⅱの電子伝達反応には関与しないと考えられる。2) 27k蛋白質に対する抗体も、上記3種の蛋白質と同様の影響を与えたことから、27k蛋白質

質は、少くとも系Ⅱ電子伝達活性には関与しないと思われる。3) 43k蛋白質に対する抗体は、両活性を同程度に阻害したことから、43k蛋白質は、系Ⅱ電子伝達反応に関与する蛋白質であると考えられる。

酸素発生系の分子構築をさらに詳しく解析するため、33k, 43k, 47k蛋白質に対するモノクローナル抗体を作製した。33k蛋白質に対するモノクローナル抗体を産生する5種のハイブリドーマ、43k蛋白質に対するモノクローナル抗体を産生する7種のハイブリドーマ、47k蛋白質に対するモノクローナル抗体を産生する2種のハイブリドーマを得た。酸素発生活性および電子伝達活性に対するモノクローナル抗体の影響を、光化学系Ⅱ標品の解体と相関させて調べたところ、次のようなことが明らかになった。1) 同一の抗原に対する抗体でも、ハイブリドーマのクローンの種類が異なると、活性に対する影響が異なった。この事実は、抗原蛋白質に対する結合部位、結合の強さなどの点で性質の異なるモノクローナル抗体が得られたことを示すものと思われる。2) 両活性に対する影響を総合すると、33k蛋白質に対する抗体は、酸素発生活性に対して阻害的に作用し、電子伝達活性を促進する傾向にあった。一方、43k蛋白質に対する抗体は、両活性に阻害的な影響を与えた。これらの結果は、ポリクローナル抗体の結果と一致する。3) 界面活性剤により、膜構造あるいは複合体の構造を解体させ初めて活性に影響を与えた抗体と、nativeな状態でも活性に影響を与えた抗体に分けられた。後者は、抗原蛋白質分子の中で、nativeな状態でも露出されているような部位に結合するモノクローナル抗体であると考えられる。これらのモノクローナル抗体は、抗原蛋白質分子の配向性などを解析する上で有効であると考えられる。

論文の審査結果の要旨

高等植物の緑葉は光エネルギーによって水を分解し、分子状酸素を発生する。この水の光分解反応は、葉緑体のチラコイド膜に結合している光化学系Ⅰ複合体および光化学系Ⅱ複合体のうち、後者によって行われる。最近、光化学系Ⅱ複合体に関する研究が盛んになってきたけれども、この複合体を構成する蛋白質の立体配置および機能については、その複雑さのために、ほとんどが未解決である。

青木邦夫君は、ホウレンソウの葉緑体を用いて、光化学系Ⅱ複合体を構成している6種の蛋白質（見掛けの分子量47k, 43k, 33k, 27kおよび17k）について、それぞれの立体配置および機能を解析するために、免疫化学的方法を巧みに利用した。まず、ウサギを用いて、上記の6種の蛋白質に対するポリクローナル抗体を調製し、光化学系Ⅱ複合体に対する抗体の結合量、電子伝達活性および酸素発生活性に対する効果を調べた。つぎに、種々の塩あるいは界面活性剤を作用させることによって光化学系Ⅱ複合体を部分的に、しかも、様々に解体させた状態で、上記と同様の測定を行った。更に、上記の蛋白質に対するモノクローナル抗体を、マウスを用いて、細胞融合の技術によって調製し、これらを用いて上記と同様の測定を行った。得られた測定値を比較し、個々の蛋白質の光化学系Ⅱ複合体における立体配置および機能について考察した。特に、いままで機能の不明であった43k—蛋白質が、電子伝達および酸素発生 の両方に密接に関与していること、47k—蛋白質は複合体の最も中央に位置していること、および多数に存在する27k—蛋白質が複合体において最も周辺に位置し、他の蛋白質を取り囲んで存在する可能性

を見出した。この研究は、光化学系Ⅱ複合体の立体構造と機能の解明に重要な糸口を与えるものである。

上記の理由に基き、青木邦夫君の研究業績は、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。