



Title	ホウレンソウ光化学系 I 複合体を構成する鉄-イオウ中心A, Bの性質とそのサブユニット構築モデル
Author(s)	大岡, 宏造
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36393
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

【 5 】

氏 名 ・ (本 籍)	おお 大 岡 宏 造
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	第 8 5 4 8 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	ホウレンソウ光化学系 I 複合体を構成する鉄－ イオウ中心 A, B の性質とそのサブユニット構築モデル
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松原 央 (副査) 教 授 福井 俊郎 教 授 田川 邦夫

論 文 内 容 の 要 旨

高等植物の光化学系 I 複合体には、センター A, B, X と呼ばれる 3 種の Fe-S クラスターが存在し、反応中心 P700 から水溶性フェレドキシンまでの電子伝達経路を構成している。本研究では光化学系 I における電子伝達機構を解明していくために、これら Fe-S タンパク質の構造と機能を解析するのが目的である。

まず系 I 複合体を構成する低分子量サブユニットに着目し、それらの単離と構造解析を行った。ホウレンソウ葉緑体より調製した系 I 複合体を D- ブタノール処理したところ、水層には 9, 14, 19 kDa ポリペプチドが抽出され、各ポリペプチドを精製後、構造解析に用いた。9 kDa ポリペプチドの全一次構造を決定したところ、そのポリペプチドは [4 Fe-4 S] クラスターを 2 個配位する鉄-イオウタンパク質であり、葉緑体ゲノムにコードされる frxA (psaC) 遺伝子の産物であることが判明した。9 kDa ポリペプチドはセンター A, B のアポタンパク質であると考えられる。

次に本タンパク質のキャラクタリゼーションを進展させるために、native form での単離を試みた。同じく系 I 複合体を D- ブタノールで処理したが、一連の操作は嫌気条件下で迅速に行うことにより、Fe-S クラスターを保持したまま単離することができた。本標品の吸収スペクトルは細菌型フェレドキシンとよく似ていたが、鉄およびイオウ含量はそれぞれ 4.1 と 3.2 原子 / モルであり、一次構造から予測される値の約半分であった。本標品が酸素に対し非常に不安定であるためと考えられる。また EPR スペクトルからは、2 種の成分の存在が確認できたものの、系 I 複合体内のセンター A, B の EPR シグナルと明確に対応付けることはできなかった。

さらに 9 kDa ポリペプチド周辺のトポロジーについて検討した。ホウレンソウ葉緑体より調製した無

傷チラコイド膜を、(a) アルカリあるいはケオトロピックイオン処理、(b) トリプシン消化、(c) 2 価性架橋試薬 ethylene glycolbis (succinimidylsuccinate) (EGS), tolylene-2, 4-diisocyanate (TDIC), hexamethylenediisocyanate (HMDIC) による架橋の後、9, 14, 19 kDa ポリペプチドに対する抗体を用いて Western blotting により解析を行った。その結果、9, 14, 19 kDa ポリペプチドはチラコイド膜上のストロマ側に存在する表在性タンパク質であり、互いに近接した位置に存在することが明らかになった。おそらく 9 kDa ポリペプチドは他の 14, 19 kDa ポリペプチドと相互作用することにより、複合体内に安定な形で組み込まれているのであろう。

論文の審査結果の要旨

酸素放出型光合成電子伝達系はチラコイド膜に存在する光化学系 I, II とチトクロム b₆f 複合体から構成され、水を分解して高い還元力と ATP 生成能を有する。光化学系 I (PSI) 複合体はプラストシアニンから電子をフェレドキシンへわたす反応を触媒し、3 つの Fe-S クラスター (X, A, B) が関与し、その経路もかなり明確になりつつあった。しかし Fe-S クラスターを配位する蛋白質の同定は未解決であった。大岡君はホウレンソウ PSI から n-ブタノール処理により 9, 14, 19 kDa ポリペプチドを単離し、その 9 kDa のものの全一次構造を決定し、ゼニゴケ葉緑体 DNA の全構造から示唆されていた細菌型フェレドキシン様構造が存在することを確認し、2 つの Fe-S クラスターを保有していることを見出した。これは上述の PSI の Fe-S クラスター A, B に相当するポリペプチドである可能性が高い。そこで Fe-S クラスターを保持したまま 9 kDa ポリペプチドを単離することを試み、嫌気条件下で EPR スペクトル解析での結果がクラスター A, B を保持していることを強く示唆することに成功するところまで進展させた。しかし Fe と S の回収率は未だ十分とは言えず、この不安定な蛋白質の完全な精製は将来の研究にゆだねることとなる。一方この精製した 9 kDa ポリペプチドが酸素に対して頗る不安定であるにも拘らず、チラコイド膜内では安定な形で存在することを解明するため、9 kDa, 14 kDa, 19 kDa ポリペプチドの相互位置関係を検討した。そのためにアルカリ又はケオトロピックイオン処理、蛋白質加水分解酵素処理、2 価性架橋試薬処理などの結果と、それらに対する免疫抗体との反応性の結果とを総合して PSI 複合体のモデルを構築することに成功した。即ち、これら 3 つのポリペプチドはチラコイド膜上のストロマ側に存在する表在性蛋白質であり、互に接近しており、9 kDa は 14, 19 kDa ポリペプチドに蔽われた形で溶媒ひいては酸素との接触から保護されていることが示唆できた。

以上の成果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ものである。