

Title	Photoprotection Mechanisms of a Water-Soluble Chlorophyll-Binding Protein, WSCP
Author(s)	堀籠, 大介
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46477
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	堀籠大介
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 20050 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科高分子科学専攻
学位論文名	Photoprotection Mechanisms of a Water-Soluble Chlorophyll-Binding Protein, WSCP (水溶性クロロフィル結合タンパク質の光防護機構)
論文審査委員	(主査) 教授 中川 敦史 (副査) 教授 月原 富武 助教授 山本 仁 助教授 鈴木 守

論文内容の要旨

緑色植物は細胞小器官である葉緑体に光合成装置を持つ。それらは太陽からの光エネルギーの変化に伴って代謝される。光の供給が過剰である場合は、光合成装置である集光性クロロフィル-タンパク質複合体 (LHC-II) を分解することで光の吸収量を減らす。

LHC-II の分解に伴ってクロロフィルの分解も行われる。クロロフィルの分解酵素は葉緑体の内包膜に局在する一方、クロロフィルは LHC-II のあるチラコイド膜に局在する。従って、クロロフィルを分解するためにはチラコイド膜から内包膜までクロロフィルを輸送する必要がある。その輸送システムは不明な点が多いが、水溶性クロロフィル結合タンパク質 (WSCP) がクロロフィル輸送を担うタンパク質として生化学的研究が行われてきた。佐藤らは、180 残基の水溶性タンパク質 (apo-WSCP) がチラコイド膜からクロロフィルを取り出して結合し、さらに四量体 WSCP を形成することを報告した (Satoh *et al.* (1998))。また、Schmidt らは四量体 WSCP がクロロフィルの光酸化を抑制する機能 (光防護機能) を持つことを電子常磁性共鳴によって明らかにした (Schmidt *et al.* (2003))。

本研究では、WSCP のクロロフィル結合様式を X 線結晶構造解析によって明らかにし、チラコイド膜からクロロフィルを取り出す機構、WSCP が四量体を形成する機構、および四量体 WSCP の光防護機構の構造メカニズムを明らかにすることを目的とした。

四量体 WSCP タンパク質試料をアブラナ科マメグンバイナズナ (*Lepidium virginicum*) から調製した。結晶化は硫酸アンモニウムを沈殿剤としてハンギングドロップ蒸気拡散法により行い、良好な X 線回折能を持った結晶を得た。白金および金化合物を用いた重原子同相置換法で位相を決定した。2.0 Å 分解能で、分子構造の構築および精密化を行い、結晶学的信頼度因子が 24.3%、自由信頼度因子が 28.0% で精密化を完了した。

解析した結晶構造から、四量体 WSCP の中心に 4 分子のクロロフィルを結合するクロロフィル結合様式を明らかにした。クロロフィル結合領域のタンパク質表面は疎水性であり、チラコイド膜からクロロフィルを取り出す際に有利であると考えられる。また、クロロフィルの中心マグネシウムが WSCP の主鎖のカルボニル基に配位結合していることを明らかにした。さらに四量体中心部で、4 分子のクロロフィルがそれぞれの疎水性フィトール鎖を互いにファンデルワールス相互作用させていることから、それらの疎水性相互作用が四量体形成に重要であると考えられた。

四量体内部に結合した4分子のクロロフィルは、クロロフィル分子全体の表面積の99.4%がタンパク質内部にあり、溶媒に接触する表面積が著しく減少していた。このクロロフィルをタンパク質内部に隔離する四量体 WSCP の立体構造が、その光防護機構の構造メカニズムであると考えられた。また、WSCP に結合したクロロフィルの π 電子共役系から4Åの距離にあるトリプトファン残基の構造を明らかにした。この結果から、クロロフィルの励起エネルギーがトリプトファンへ移動する可能性が示唆された。トリプトファンによるクロロフィルの蛍光消光が、WSCP の光防護機構の第二のメカニズムであると考えられた。

論文審査の結果の要旨

クロロフィルは植物にとって光エネルギーを化学エネルギーに変換する重要な分子であるが、その一方で単独で存在すると光照射によって活性酸素を発生し、葉に重篤なダメージを与えることが知られている。クロロフィルは通常葉緑体内部のチラコイド膜に局在しているが、その分解過程においては葉緑体内を通して内包膜に輸送される必要がある。

申請者は、クロロフィルの輸送に関連し、輸送中に活性酸素の発生を押さえる機能を持つと考えられている水溶性クロロフィル結合タンパク質 (WSCP) の立体構造を2.0Å分解能でのX線結晶構造解析に成功した。

さらにその立体構造に基づいて、クロロフィル結合機構、溶液中で安定な四量体構造の形成機構、活性酸素を発生させない光防御機構など、WSCP の持つ様々な機能についての考察を行った。これらは、これまでに知られていなかった植物の光防御機構に関する新しい概念であり、よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。