

2Cp-1

PS II コア複合体サブユニット蛋白質の単離. I.

本川修, 塚本又雄, 月原純子, 赤堀暎造, 豊島善則 (広島大. 総合科)

葉緑体チラコイド膜光化学系 II 複合体 (PS II) は, 膜表面蛋白質 (17-, 23-, 34-kDa 蛋白質), 集光性クロロフィル *b* 蛋白質 (LHCP II), PS II コア複合体 (43-, 47-kDa クロロフィル結合蛋白質, 33-kDa 蛋白質 (D_2), 32-kDa 蛋白質 (hebicide-binding) (D_1), Cyt *b*₅₅₉ 蛋白質) から構成されている。これら蛋白質の一次構造は決定されているが, 個々の蛋白質に結合している機能的分子 (カロチノイド, クロロフィル (chl), フェオキサン (pheo), プラストキノン (PQ) など) は必ずしも明確にされていない。特に, 光化学反応中心 II 結合蛋白質について現在議論がわかれている。本研究では PS II コア複合体とて, 機能的分子を保持した状態のサブユニットを解体, 単離し, それらサブユニット中に含まれる機能的分子の同定を行ない, 光化学反応中心 II 結合蛋白質の推定と目的とした。

実験 新鮮なほうれんそうより得た PS II 粒子とオクテルグルコシド (OG) で可溶化後, 超遠心分離により pellet として PS II コア複合体を得た。この複合体とてさら可溶化剤 (OG およびオクテルテトラオフルコシド (OTG)) 処理後, 密度勾配超遠心分離, 陰イオン交換カラム (Mono Q) 分離, クロマトフォカシング (Mono P) 分離により機能的分子を保持したままの 2 種の単一サブユニットと異なる 2 種のサブユニットの組み合わせからなる 3 種の複合体を単離した。SDS-ポリアクリルアミド電気泳動および逆相 HPLC 法により, 単離した試料中の蛋白質および機能的成分の同定を行なった。

結果と考察 下記表中に, 種々の方法で分離された単一および複合体中に含まれる機能的分子 (chl *a*, pheo *a*, β -carotene) の値 (モル比) を示す。従来, 光化学反応中心 II 結合蛋白質の候補として 47-kDa-クロロフィル結合蛋白質と 33-kDa 蛋白質 (D_2) があげられていた。演者らは, この問題解決のため, 光化学反応中心 II を構成する chl *a*, pheo *a* を着目し, その結合蛋白質を調べた。 D_1 , D_2 を含むサブユニットには第一電子受容体である pheo *a* が 1 分子以上含まれるが, 陰イオン交換カラム分離された 47-kDa クロロフィル結合蛋白質には pheo *a* は存在しない。さらに密度勾配超遠心分離中の D_1 , D_2 と pheo *a* の濃度プロファイルには非常に高い相関性があるが, 47-kDa 蛋白質と pheo *a* とは相関性が認められない。なお密度勾配超遠心による分離操作により pheo *a* の絶対量の増減がないことおよび遊離の chl *a*, pheo *a* の量は極めてわずかであることを確認した。以上の結果より光化学反応中心 II は D_1 もしくは D_2 , あるいはその両者にまたがって結合していると推論した。次講演で各サブユニットおよび複合体の光電荷分離活性について報告する。

Sample	chl a	pheo a	β -carotene
PSII core complex	29	1.7	6.9
47-, 43-kDa, D_1 , D_2	13	1.1	2.2
47-kDa, D_1 , D_2	9	1.0	1.5
47-kDa (Mono Q)	7.4	0.06	0.7
43-kDa (Mono P)	5.4	-	0.6
D_1 , D_2	3.6	0.6	-