

2Cp-3

系2反応における33kDa表在性蛋白質の機能
小野高明・I. Vass・井上頼直 (理研・太陽光科学)

葉緑体膜の内表面に結合している33kDa蛋白質はラン藻から高等植物にいたる酸素発生型光合成を行う生物に普遍的に存在しており、Mnの安定化、S状態変換過程への関与など酸素発生反応において重要な役割を担っていると考えられている。最近、酸素発生型光合成の系2反応中心の分子構造が光合成細菌の反応中心と極めてよく似ている事を示す結果が報告され、Zから Q_B までの系2電子伝達成分がD1, D2蛋白質上で機能している可能性が指摘されている。しかし、一方、酸素発生反応を担う多核Mn複合体については、系2のどの蛋白質上に存在するかまったくわかっていない。しかし、D1蛋白質のプロセッシング変異株ではMnの組み込みが起こらず、酸素発生もしない事が報告され、Mnの結合部位がD1, D2蛋白質近傍にある可能性が示唆されている。この事は、Mnと密接に関連している33kDa蛋白質もまたD1, D2蛋白質(又はごく近傍)に結合しており、D1, D2の機能に何等かの影響を与えている可能性を示すものかもしれない。本研究では、系2膜より33kDa蛋白質を除去したとき、系2の酸化側、還元側に起こる変化を調べ、上に述べた可能性について探ってみた。

[結果と考察]

$CaCl_2$ 又はUrea/NaCl処理により33kDa蛋白質を除いた系2膜を閃光で照射すると、1発目では $S_2Q_B^-$ に由来する B_2 -band, 2発目では $S_3Q_B^-$ に由来する B_1 -bandの熱発光が正常な膜とほぼ同じ発光温度に現れた。しかし3発目以降、それ以上の変化は見られなかった。また、 $S_3Q_A^-$ に由来するA-bandの熱発光は2発目の閃光後、初めて現れたが、3発目以後その強度は変化しなかった。一方、 Cl^- 欠乏下では2発目の閃光照射によってもA-band($S_3Q_A^-$)は現れず、S変換過程は S_2 までしか進んでいない事を示していた。従って、33kDa蛋白質を除去した系2膜が、実験条件(20 mM Cl^- , pH 5.5)において示すS変換過程の異常は、33kDa蛋白質が失われた事により増大した Cl^- 要求性に起因する Cl^- 欠乏によるものではない事が明らかとなった。以上の結果は、33kDa蛋白質を除くと $S_3 \rightarrow S_4 \rightarrow S_0$ の過程が特異的に阻害されるとした我々の以前の結果を強く支持するものである。

正常な系2膜では閃光照射後、熱発光 B_2 -band($S_2Q_B^-$)が35℃付近に現れるが、DCMUで Q_B への電子移動を阻害すると、Q-band($S_2Q_A^-$)が5℃付近に現れる。しかし、33kDa蛋白質を除去した膜ではQ-bandが大きく高温側に移動し30℃付近にみられた。この異常な $S_2Q_A^-$ 電荷分離状態は Cl^- を200mMまで高めても解消せず、33kDa蛋白質を系2膜へ再結合させる事により初めて正常な状態に戻った。再生された正常な $S_2Q_A^-$ の量は再結合した33kDa蛋白質量と良い一致を示した。一方、24, 16kDa蛋白質のみを除いた系2膜では正常な温度にQ-band($S_2Q_A^-$)が見られた。以上の結果は、33kDa蛋白質の除去により $S_2Q_A^-$ 電荷分離状態が特異的に変化した事を示している。33kDa蛋白質を除去しても $S_2Q_B^-$ 状態は、ほぼ正常である結果を考慮すると、 $S_2Q_A^-$ 状態の異常は次の2通りに解釈できる。(1) Q_A^- が変化。(2) Q_B と S_2 が共に変化。そこで、まず S_2 の状態をEPR測定によって調べた。33kDaを除去した膜では Cl^- が十分に高い時(200mM), 200K連続光照射により正常膜と同じく S_2 由来のmultiline signalが見られたが、 $g=4.1$ signalは消失していた。この結果は33kDa蛋白質を除いた膜では S_2 の多核Mnの構造に何らかの変化が起こっている事を示している。しかし、同様の変化はNaCl処理により24, 16kDa蛋白質のみを除去したとき既に起こっていた。従ってこの変化は33kDaの除去と直接対応するものではなく、33kDa蛋白質の除去に特異的に由来する S_2 のMn構造の変化はEPR測定では見い出せなかった。この結果は33kDa蛋白質の遊離、再結合に伴い系2の還元側も何等かの変化を受けている可能性を示唆するものである。そこで、Fe Q_A^- 由来のEPR signalを測定した結果、33kDa蛋白質を除去した膜では $g=1.90$ と $g=1.82$ signalの強度比が変化している事を見いだした。現在、この変化が33kDa蛋白質の遊離と直接関連した現象かどうか検討中である。