

2Cp-5

酸素発生系・33kDa蛋白質の2個のCys残基の状態について

○田中聡・大岡宏造・和田敬四郎・松原央(阪大・理・生物)

葉緑体の酸素発生複合体には、高濃度CaCl₂処理で遊離する3個の表在性蛋白質が存在する。その1つ33kDa蛋白質は、酸素発生反応に必須の4個のMn原子のうち2個の遊離を抑える働きをしていると考えられている。Spinachの33kDa蛋白質は2個のCys残基を持ち、Cys-28付近の一次構造は、Mn-superoxide dismutaseのMn原子配位部位付近の一次構造と比較的高い相似を示す[1]。このことから、Cys残基およびその付近がMn原子となんらかの相互作用をしている可能性が示唆される。本研究は、33kDa蛋白質のCys残基の状態と酸素発生能および酸素発生複合体への結合性を調べ、Mn原子との相互作用を考えることが目的である。

(実験と結果)

Spinachの緑葉から桑原らの方法[2]で精製した33kDa蛋白質の2個のCys残基の状態を調べるとS-S結合を形成していた。しかし、この結合は蛋白質を酸素発生複合体からはずすという人為的操作の過程で形

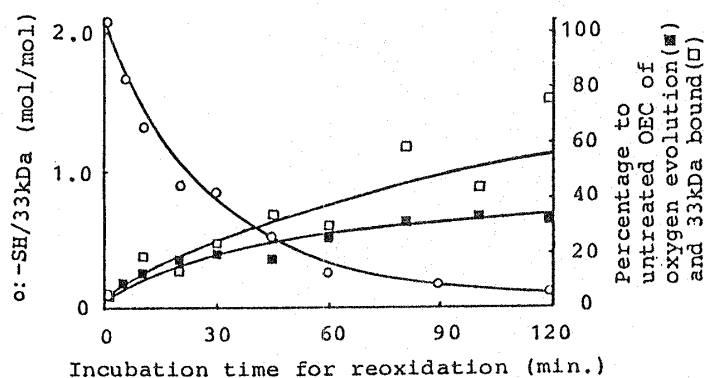
表1

Type of OEC*	Oxygen evolution	33kDa bound
1. Untreated OEC	100 %	100 %
2. CaCl ₂ treated OEC	10 %	12 %
3. 2+ S-Sform 33kDa	34 %	82 %
4. 2+ -SHform 33kDa	11 %	15 %

OEC: Oxygen Evolving Complex

成された、という可能性も否定できない。そこで、33kDa蛋白質のS-S結合を還元し、それを、CaCl₂処理により3個の表在性蛋白質をはずした酸素発生複合体へ再構成させ、酸素発生活性の回復や結合性についてS-Sformとの違いを調べた。表1に示す通り、-SHformの33kDa蛋白質は、S-Sformと比べ、低い活性の回復しか示さず、再結合もほとんど起こらなかった。次に、還元したCys残基の間でS-S結合が再生し得るかを調べた。図1に示す

図1



通り、Cys残基はCu²⁺触媒下ですみやかにS-S結合を再生した。

しかも、それに伴ない酸素発生活性と複合体への結合力も回復した。これより、表1に見られる-SHform蛋白質の低い活性が、還元操作による不可逆な構造変化に起因するものではないことが示された。

以上のことから、33kDa蛋白質が生理的に機能するためには、分子内S-S結合の存在が必須であり、

特殊な構造保持に寄与しているものと考えられる。このことは、遠紫外部のCDスペクトルからも支持される。Mn原子との相互作用に関しては、Cys残基が直接Mnに配位している可能性は低いと考えられる。

[1] H. Oh-oka et al. (1986) FERS Lett. 197 63

[2] T. Kuwabara et al. (1985) B.B.A. 806 283