

3Ca-8

光化学系Ⅱ反応中心複合体のカオトロピックイオンによる部分解体

○ 山口直人・高橋裕一郎・佐藤公行(岡山大・理・生物)

温和な界面活性剤ジギトニンを用いて純化した系Ⅱ反応中心標品は、47,43,32,30,9,4kDaの6種類のポリペプチドから構成され、ZからQ_Aまでの電子伝達成分を保持することが明らかにされてきた。しかし、各電子伝達成分がどのポリペプチドに局在しているかは、まだ一部しか分かっていない。そこで我々はこの点を明らかにするため、反応中心標品を温和に部分解体する方法を検討したので報告する。

ホウレンソウチラコイド膜からジギトニンで抽出し精製した系Ⅱ反応中心標品をさらに0.2%ジギトニン存在下、クロロフィル濃度500 μ gChl/mlにおいて、1Mチオシアン酸カリウム(KSCN)で20℃30分間解体し、ジギトニン-ポリアクリルアミド電気泳動により解体産物の分離を行った。その結果、殆ど色素が遊離されることなく3種類のクロロフィル蛋白質のバンドが得られ、泳動度の小さいものからⅠ、Ⅱ、Ⅲと名前をつけた。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるポリペプチド分析から、Ⅰは未解体のバンド、Ⅱは43kDaポリペプチドを含むクロロフィル蛋白質が反応中心から特異的に失われたバンド、Ⅲは主に43kDaポリペプチドを含むクロロフィル蛋白質の存在するバンドであることが分かった。KSCNの他に、蛋白質変性剤の尿素(3-4M)や塩酸グアニジン(1-2M)を用いても同様な解体標品が得られたが、収率がやや悪かったため、以下ではKSCNを用いて得た解体標品について調べた。バンドⅡ、Ⅲの画分をゲルから抽出し、その光化学活性を調べたところ、バンドⅡにはDPCを電子供与体としたDCIP光還元活性が430 μ molDCIP/mgChl/hあり、もとの系Ⅱ標品(345 μ molDCIP/mgChl/h)よりも高い活性が得られた。しかしバンドⅢには、活性は殆ど見いだせなかった。よって以下では、バンドⅡの系Ⅱ電子伝達成分の性質を分光学的に調べた。①Q_Aの光還元量を325nmでの吸光度変化から求めるとChl/Q_A比は36で、ジチオナイト存在下でPheoの光還元量を求めるとChl/Pheo比は35であった。これは43kDaのクロロフィル結合蛋白質が失われた分、反応中心標品(52Chl/Q_A)よりもアンテナサイズが小さくなっていることを示している。②閃光分光法によりフェリシアナイドとベンチジン存在下で2次電子供与体Zの存在量を測定したところ、Q_Aとほぼ等量のZが存在することが明らかになった。③電子スピン共鳴により酸化側の成分SignalⅡsとⅡfも残っていることが確かめられた。また、④プラスチックノン含量をHPLCにより求めたところ、Q_A当たり約2分子存在し反応中心標品の含量と変わらなかった。しかし、 β -カロチン含量はQ_A当たり約4分子で、ほぼ半分減少していた。以上の結果からKSCNは、反応中心標品からその電子伝達成分をすべて保持させたまま、43kDaのポリペプチドを含む集光性色素蛋白質を脱離させることが明らかになった。この実験結果は、43kDaポリペプチドには反応中心の電子伝達成分が存在しないことを示している。これとよく似た標品は好熱性ラン藻から山岸と加藤により得られているが、本標品にはZが安定に存在しSignalⅡsが残っている点が異なる。