

結合 G-10

小麦光化学系Ⅱ反応中心の機能サイズ

・理

高橋 正昭^{*}、池内昌彦、井上頼直、浅田浩二^{*}
 (*京大・食研・理研・太陽光科学)

と考
でど
イン
おく
思を

目的) 光化学系Ⅱ反応中心の機能の解明は酸素発生能を持つ反応中心複合体の構成サブユニット各々の役割りを明らかにする研究に主力が注がれている。我々はこれに光化学系Ⅱの諸機能に必要なサイズと標的サイズ分析法を用いて調べた。この方法それ自体は分析的であるが、可成り精製された構成サブユニットの数が限られる時には解析的に用いられ、機構を明らかにする点にも役立つ。今回は、(1) 光化学系Ⅱの相対量子収率から求めた反応中心のサイズ 250 kDa がアンテナ色素系のサイズを含むかどうかと light-harvesting chlorophyll a/b protein (LHCP) を持たない反応中心複合体のサイズと比較して調べ、(2) 光化学系Ⅱ反応中心の左オキシゲン光還元反応に必要なサイズと決定した。

方法) 光化学系Ⅱ反応中心は小麦(豊林61号)葉より調製した (Arch. Biochem. Biophys. 247, 97 (1986))。光化学系Ⅱ膜をオプクルアルゴシドで処理し遠心して沈澱として得た反応中心複合体を 0.4 M Sucrose, 15 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 50 mM MES-NaOH, pH 6.0 に懸濁、液体 N₂ で凍結した。-150°C で 0.5-5 分間、約 5 Mrad/min の線量率で電子線 (1.5 MeV) を照射し、一昼夜 -70°C で保存し、後酸素発生活性を測定した。吸収線量は内部標準のリンゴ酸脱水素酵素 (Mr=70,000) の放射線失活曲線より求めた。左オキシゲン光還元は Klimov 等の方法 (FEBS Lett. 82, 183 (1977)) に基づき 2 μM メチルビロゲンハイドロサルファイト (2.5 mg/ml) 存在下光照射で誘導される 450-422 nm の吸光度変化より検出した。

結果) 光化学系Ⅱ反応中心の酸素発生活性は赤色光 10 mW/cm² までは光強度に依存して増加する。この相対光量子収率と光化学系Ⅱ反応中心の活性の目安とした。放射線を受けると酸素発生活性は低下し、37% にまで失活させるために必要な線量 (D₃₇ rad) と求めると -150°C で 8.68 ± 0.66 Mrad (n=5) が得られた。この D₃₇ より Mr (Da) = $6.4 \times 10^4 / D_{37} / S_e$ (S_e は放射線に対する温度感受性、-150°C では 3.2) を用いれば光化学系Ⅱ反応中心のサイズは 236 ± 31 kDa と得る。LHCP, 24-kDa, 18-kDa タンパク質と結合し、まだ膜構造を持つ光化学系Ⅱ膜やチラコイド膜でのサイズがやはり 250 kDa を示すので、250 kDa は酸素発生能を備える反応中心の基本単位のサイズである。LHCP 分子の電子線失活は光量子収率には影響しない。これまで単離された反応中心と構成する 6 種のサブユニットの分子サイズの合計は約 200 kDa である。このサブユニットに放射線がヒットしても全活性を失わう強い相互作用をしているか、或いは 2, 3 のサブユニットで構成される core の集合が 250 kDa の反応中心を構成するかは今後明らかにされなければならない。

左オキシゲン光還元に必要なサイズは約 27 kDa であった。これは D1 か D2 タンパク質のいずれかで左オキシゲンの光還元が行われ、両タンパク質間にはそれほど強い相互作用は無い構造と反応中心が持つことを示している。

たり可

合
問
推
討