

高倍昭洋 (名城大, 理工)

光化学系Iの電子伝達反応において、チラコイド膜の内側に存在するといわれる銅蛋白質のプラストシアニンは、膜蛋白質であるチトクロム b_6/f 複合体中のチトクロム f から電子を受けとり、他の膜蛋白質である系I反応中心複合体中のP700へ電子を供与する。これらの反応機構を原子、電子状態のレベルで明らかにすることは、光合成電子伝達反応の素過程の解明に重要な役割を果たすものと思われる。我々はこれまで、プラストシアニンおよびチトクロム f の特定のアミノ酸残基を化学修飾した系、およびリポソーム中に再構成した反応中心複合体の系等を用いて、プラストシアニンとチトクロム f およびP700との相互作用の機構について検討してきた。今回はプロテアーゼ処理による反応中心複合体の構造と活性に関する研究について、およびチトクロム b_6/f 複合体の精製について検討したので、その結果について報告する。

系I反応中心複合体のプロテアーゼによる研究 —— 反応中心複合体をトリプシンで処理したあとで、SDS-PAGEにかけることにより、複合体の5個のサブユニットが分解されていく過程を見ることが出来る。トリプシン処理により切断された反応中心複合体は、低濃度のTriton X-100 (0.05%) 中では、P700の光化学活性を保持している。この条件では、プラストシアニンからP700への電子移動反応は、nativeな反応中心複合体の場合とほとんど同じ性質を示す。ところが、高濃度のTriton X-100中では、トリプシン処理をした複合体のP700の光化学活性は、トリプシン処理の時間の増加とともに消失する。光化学活性の消失した複合体は、低濃度のTriton X-100中で透析することにより、活性を回復する。我々はホウレンソウから精製した系I反応中心複合体は5個のサブユニット(60-65, 23, 20, 18, 12 kD)から構成されていること、および複合体から分子量60-65 kDの1個のペプチドのみを含む反応中心蛋白質が得られることを、以前報告した。この反応中心蛋白質を用いても、基本的に、上記の結果と同じことが得られた。以上の結果は、今後60-65 kDのペプチドにおけるP700の存在場所を推定する上で、1つの示唆を与えるものと考えられる。

チトクロム b_6/f 複合体の精製 —— チトクロム b_6/f 複合体はホウレンソウのチラコイド膜をNaBr処理をしてATPase等を除いた後、オクテルグリオキッドおよびコール酸等で膜から可溶化した。これを硫酸分画、Sephacryl S-300、シヨ糖密度勾配遠心等により精製した。SDS-PAGEの結果、複合体は33, 22, 19.5, 17 kDのサブユニットを持っているが12 kDにもminorなバンドがみられる。ム染色等の結果から33 kDのバンドはチトクロム f で、22 kDのバンドはチトクロム b_6 、19.5 kDのバンドがRieske蛋白質であることが示された。現在チトクロム b_6/f 複合体の性質、およびプラストシアニンとの相互作用について検討中である。

参考文献

- 1) J. Biochem. 96, 385-393 (1984)
- 2) J. Biochem. 96, 1813-1821 (1984)
- 3) Agric. Biol. Chem. 48, 3011-3018 (1984)
- 4) Adv. Photosynthesis Research 1, 593-596 (1984)