

1Da-3

ホウレンソウ葉緑体のクロロフィルタンパク質の色素組成

山田宜昭, 高橋裕一郎, 佐藤公行 (岡山大学・理・生物)

【序】最近の研究により、葉緑体チラコイド膜を構成するクロロフィル(chl)分子のほとんどすべては光合成初期過程の単位機能を担うchl-蛋白質複合体として存在していることが明らかになった。一方、同じくチラコイド膜に存在するカロチノイドについては、その存在様式が十分に解明されていない。本研究においては、温和界面活性剤であるジギトニンを用いて調製したchl-蛋白質複合体類のカロチノイド組成を、精製の出発材料として用いた葉緑体チラコイド膜のそれと定量的に比較することにより、光合成膜におけるカロチノイドの存在様式に検討を加えた。

【材料と方法】光化学系I複合体(PSI complex)、光化学系II反応中心複合体(PSII RC complex)、集光性chl a/b複合体(LHC II)はホウレンソウ葉緑体のジギトニン抽出物からDEAE-Toyopearlを用いるイオン交換・ゲル濾過フロマトグラフィーにより調製した。また、必要に応じて、遊離色素を抽出した条件下でのジギトニン電気泳動法により、更に純化した。こうして得られたchl-蛋白質複合体は極めて高純度で、PSI complexは70, 10-25 kDa, PSII RC complexは47-43, 32-30, 9 kDa, LHC IIは27 kDaのポリペプチドを含み、相互の混入はみられなかった。色素は80%アセトンで抽出し、逆相カラム(Zorbax ODS)を用いるHPLCにより分離・溶出〔展開液: 98%メタノール, メタノール/プロパノール(3:1)〕した後、各成分の440nmでの吸収値にそれぞれ定量した。P700とQAの定量は、それぞれ光酸化および光還元分光学的測定により行われた。

【結果と考察】出発材料として用いたフロマトグラストは1000分子chl当りP700を1.9分子、QAを2.7分子含んでおり、chl a/bは約2.7であった。またカロチノイド含量は1000分子chl当りネオザンテン(Neo), ビオラキサンテン(Vio), ルテイン(Lut), β -カロチン(β -Car)がそれぞれ約50, 90, 100, 20分子であった。精製したLHC IIにはキサントフィル(Xan)が77%、chl 1000分子(chl a/b $\approx$ 1.3)当りNeo, Vio, Lutがそれぞれ約20, 40, 160分子含まれていた。しかし β -Carはほとんど含まれていなかった。このことはLHC IIがchl a/b-Xan proteinであると考えに一致する。一方、PSII RC complexはQA 1分子当り51分子のchl a及び約7分子の β -Carを含んでいたが、chl b及びXanの含量は非常に少なく、それぞれ約2分子ずつであった。このことはPSII RC complexはchl a- β -Car proteinであることを示している。PSI complexはP700 1分子当り170分子のchl aと21分子のchl b、約30分子の β -Carを含んでおり、XanはNeo, Vio, Lutを約10分子ずつ含んでいた。そこで用いたPSI complexはそのポリペプチド組成から光化学系Iの集光タンパク質(LHCI)と結合していると思われる。LHC IIとPSII RC complexの色素分析結果から類推すると、PSI complexに含まれるchl b及びXanはLHCIに結合していると考えられる。以上の結果から葉緑体中のカロチノイドのクロロフィル蛋白質への回収率を算出するとVioを除く90%以上の高い値が得られた。このことは、葉緑体ではほとんどすべてカロチノイドがクロロフィル蛋白質と結合して存在していることを予想させる。また出発材料として用いた葉緑体でchlはPSI complex, PSII RC complex, LHC IIにそれぞれ約35%, 15%, 50%の割合で分布していると計算した。