

光合成科学研究所

Photosynthesis Research Laboratory

主任研究員 北村 英男
KITAMURA, Hideo

当研究室は、太陽光エネルギー科学研究グループの中核研究室の1つとして、1979年に締結された日米光合成科学研究協力を軸に約20年の間、主として光合成酸素発生器官の構造と機能の研究を行ってきたが、研究協力協定の終結および前主任研究員の退任を契機に、新しい研究分野への展開を計ることになった。新研究分野と研究体制が固まるまでの間、これまでの研究で達成できなかった課題について暫定的に研究を継続している。

1. 光化学系 II 複合体の結晶構造解析 (沈; 神谷 (研究技術開発室))

光化学系 II は 14 種の膜タンパク質と 3 種の膜表面タンパク質を含む分子量 320 kDa の膜タンパク質超分子複合体である。立体構造解明のため、光化学系 II 複合体を好熱性らん藻 *Synechococcus vulcanus* より単離精製し、結晶化した。結晶の空間群は $P2_12_12_1$ であり、格子定数 $a = 129.7 \text{ \AA}$, $b = 226.5 \text{ \AA}$, $c = 307.8 \text{ \AA}$, 最高分解能 $3.5 \text{ \AA}$ であった。結晶中の系 II はすべての構成サブユニットと高い酸素発生能力を保持し、分子量 580 kDa の二量体として存在していた。SPRING-8 の放射光を利用し、クライオ条件での回折データ収集条件を確立し、重原子同型置換法および多波長異常分散法を用いて光化学系 II 複合体結晶の初期位相を決定し、その電子密度図を得た。

2. 酸素発生系表面タンパク質の機能と進化 (沈)

(1) 33 kDa タンパク質

酸素発生反応に重要な役割を持つ光化学系 II の表面タンパク質について、部位特異的変異株を作製し、各種光合成活性を測定することによって、33 kDa タンパク質の機能発現に重要な残基を同定した。すなわち、D159, R163 残基を改変することによって、光合成活性が著しく低下したことから、これらの残基が 33 kDa タンパク質にとって重要な役割を持つと考えられる。さらに、この 2 つの残基が密接に相互作用し、33 kDa タンパク質の機能を維持していることが判明した。(米国オクラホマ州立大学との共同研究)

(2) 表面タンパク質の進化

光合成の酸素発生反応に関わる 3 種の表面タンパク質の内、原核生物であるらん藻と真核生物である高等植物で異なる 2 種の表面タンパク質について、らん藻・紅藻・高等植物からそれぞれ光化学系 II 複合体および表面タンパク質を単離精製し、各表面タンパク質を交互に再構成させる実験を行い、それらの系 II 複合体への結合能力・活性化能力についての知見を得た。(東京理科大学理学部生物学科との共同研究)

誌上発表 Publications

(原著論文) *印は査読制度がある論文誌

Shen J.-R. and Kamiya N.: "Crystallization and the crys-

tal properties of the oxygen-evolving photosystem II from *Synechococcus vulcanus*", *Biochemistry* **39**, 14739–14744 (2000). *

Sugahara M., Mikawa T., Kumasaka T., Yamamoto M., Kato R., Fukuyama K., Inoue Y., and Kuramitsu S.: "Crystal structure of a repair enzyme of oxidatively damaged DNA, MutM (Fpg), from an extreme thermophile, *Thermus thermophilus* HB8", *EMBO J.* **19**, 3857–3869 (2000). *

Piersma S. R., Nojiri M., Tsujimura M., Noguchi T., Odaka M., Yohda M., Inoue Y., and Endo I.: "Arginine 56 mutation in the β subunit of nitrile hydratase: Importance of hydrogen bonding to the non-heme iron center", *J. Inorg. Biochem.* **80**, 283–288 (2000). *

Enami I., Yoshihara S., Tohri A., Okumura A., Ohta H., and Shen J.-R.: "Cross-reconstitution of various extrinsic proteins and photosystem II complexes from cyanobacteria, red algae and higher plants", *Plant Cell Physiol.* **41**, 1354–1364 (2000). *

Al-Khaldi S. F., Coker J., Shen J.-R., and Burnap R. L.: "Characterization of site-directed mutants in manganese-stabilizing protein (MSP) of *Synechocystis* sp. PCC6803 unable to grow photoautotrophically in the absence of cytochrome c-550", *Plant Mol. Biol.* **43**, 33–41 (2000). *

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Shibata K., Itoh M., Aizawa K., Nagaoka S., Sasaki N., Carninci P., Konno H., Akiyama J., Itoh M., Kikuchi N., Ishii Y., Nakamura S., Hazama M., Nishine T., Harada A., Yamamoto R., Matsumoto H., Sakaguchi S., Ikegami T., Kashiwagi K., Fujiwaka S., Inoue K., Togawa Y., Izawa M., Ohara E., Watahiki M., Yoneda Y., Ishikawa T., Ozawa K., Tanaka T., Matsuura S., Kawai J., Okazaki Y., Muramatsu M., Inoue Y., Kira A., and Hayashizaki Y.: "RIKEN integrated sequence analysis system (RISA System): 384-format sequencing pipeline with 384 multi-capillary sequencer", 14th Int. Mouse Genome Conf. (IMGC 2000), (International

Mammalian Genome Society), Narita, Nov. (2000).

Shen J.-R.: "Studies on the structure and function of Photosystem II oxygen-evolving complex", 8th Natl. Meet. of the Chinese Soc. of Plant Physiology, Xia Men, China, Nov. (2000).

(国内会議)

神谷信夫, 沈建仁: "光合成系 II 複合体の X 線結晶構造解析", 文部省科研費特定領域研究 (A) 第 3 回ワークショップ「生物マシーナリー」, 札幌, 8 月 (2000).

沈建仁, 神谷信夫: "光化学系 II の結晶化と結晶構造解析", ユーグラナ研究会第 16 回研究集会, 岡山, 11 月 (2000).

白水美香子, 胡桃坂仁志, 木川隆則, 河口真一, Vassilyev D. G., 井上頼直, 柴田武彦, 倉光成紀, 横山茂之: "機能解析と立体構造解析", 第 23 回日本分子生物学会年会サテライトシンポジウム, 神戸, 12 月 (2000).

神谷信夫, 沈建仁: "SPRING-8 を利用した光化学系 II 複合体の X 線結晶構造解析", 第 14 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 広島, 1 月 (2001).

沈建仁, 神谷信夫: "光化学系 II 複合体の結晶化と結晶構造解析", 理研シンポジウム「構造生物学 (VI)」, 和光, 1 月 (2001).

藤利彰彦, 奥山聡史, 太田尚孝, 沈建仁, 佐藤公行, 榎並勲: "プロテアーゼを用いたラン色細菌, 紅藻, 高等植物

の 33 kDa 蛋白質の構造変化の解析", 日本植物生理学会 2001 年度年会, 福岡, 3 月 (2001).

沈建仁, 神谷信夫: "光化学系 II 複合体の結晶構造解析", 日本植物生理学会 2001 年度年会, 福岡, 3 月 (2001).

奥山聡史, 太田尚孝, 奥村彰規, 上野匡史, 加藤宝, 鈴木健祐, 沈建仁, 榎並勲: "酸素発生標品に存在する表在性蛋白の分子進化", 日本植物生理学会 2001 年度年会, 福岡, 3 月 (2001).

Research Subjects and Members of Photosynthesis Research Laboratory

Head

Dr. Hideo KITAMURA

Members

Dr. Jian-Ren SHEN

in collaboration with

Dr. Nobuo KAMIYA (Div. of Bio-Crystallography Technol.)