

(第3号様式)(Form No. 3)

学位論文要旨
Dissertation Summary

氏名 (Name) 中村 誠

論文名: 光化学系IIにおける副次的電子移動経路および P_{680} の構造と機能制御に関する研究

(Dissertation Title)

光化学系 II (PSII) は 20 サブユニットタンパク質と 80 分子以上のコファクターが結合した超複合体で、チラコイド膜の光合成電子伝達系の初発の反応を担う。光が照射されると P_{680} クロロフィルが励起され、続いて Pheo 分子との間で電荷分離されて P_{680}^+ になる。 P_{680}^+ は水の酸化で生じた電子を受け取って P_{680} に戻るが、光ストレス条件下では $^3P_{680}$ になり、 1O_2 を生成して光合成機能を阻害する。これを防御するために、PSII には副次的電子移動経路の存在が提唱されている。これは $Cytb_{559}$ から Chl_z 、Car などを介して P_{680} に電子移動する経路であるが、PSII に Chl_z は 2 分子、Car は 11 分子結合しており、どの分子をどのような経路で電子移動されるのかについては不明である。更に、この経路への分岐点である $Cytb_{559}$ のレドックスと光阻害の関係についても不明である。また、この経路の最終電子受容体であり、且つ、PSII の光励起・電荷分離を担う P_{680} については、励起されるクロロフィル分子や 4 分子のクロロフィル上の正電荷の分布という基本的な理解が進んでいない。そこで本研究では、まず、 $Cytb_{559}$ の酸化還元状態と光阻害の関係を分子レベルで調べることを目的として、 $Cytb_{559}$ への部位特異的変異導入によって酸化還元能を変えた好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* の遺伝子組換え体を作製し、これらの機能

を詳細に解析して比較した。更に、 P_{680} クロロフィル分子のリガンドを含めた非対称な構造に着目し、 Chl_{D1} 分子のリガンドを変えた遺伝子組換え体を作製し、これらを詳細に解析することによってクロロフィル分子の構造と P_{680} の機能制御の機構について調べた。

$Cytb_{559}$ は $PsbE$ と $PsbF$ タンパク質、および、ヘムから構成され、ヘム鉄には $PsbE/His23$ と $PsbF/His24$ の N 原子が配位している。本研究では、リガンドアミノ酸を変えた $PsbE/H23A$ と $PsbE/H23M$ 、ヘム周辺のアミノ酸を置換した $PsbE/Y19F$ と $PsbE/T26P$ を作製した。これらの $Cytb_{559}$ のレドックスを調べたところ、野生型と $Y19F$ 変異体は高ポテンシャル型 (約 +390 mV vs. SHE) であったのに対し、 $T26P$ 変異体は低ポテンシャル型 (約 0 mV) であった。一方、リガンド変異体 $H23A$ と $H23M$ は酸化還元不活性を示し、詳細に調べたところ、ヘムを欠損していることが分かった。これらの酸化還元の違いが及ぼす光阻害への影響を調べるために、強光照射下における水の酸化活性の経時的変化を測定したところ、野生型と $T26P$ 変異体の光阻害は同程度であったのに対して、 $H23M$ 変異体は野生型よりも速く光阻害を受けた。そして、強光照射下で 1O_2 の生成量を測定してみると、 $T26P$ は野生型と同程度であったのに対して、 $H23M$ は 1.8 倍多く発生した。更に、熱発光測定により PSII コファクターのエネルギーレベルへの影響を調べたところ、 $H23M$ 変異体ではアクセプター側のコファクターである Q_A の電位が低下していたことが分かった。以上の結果から、リガンドアミノ酸を置換した $H23M$ ではヘムの欠損によって $Cytb_{559}$ の立体構造が変化し、その近傍に存在する Q_A の構造に影響したために Q_A の酸化還元電位の低下を引き起こしたと考えられる。その結果、 $Cytb_{559}$ の酸化還元不活性化によって副次的電子移動が機能しなくなり、それに伴って $^3P_{680}$ の長寿命化等によって 1O_2 がより発生したと考えられる。更に本研究では、副次的電子移動に関わる Chl_Z を同定するために、 Chl_{ZD1} および Chl_{ZD2} のリガンドアミノ酸を His の N 原子から Gln の O 原子に置換した 2 つの組換え体を用いて、分光学的測定により酸化される Chl_Z 分子の同定を試みた。120 K での光照射と可視-近赤外光領域の吸収スペクトル測定から、酸化される Chl_Z は Chl_{ZD1} であることが分かった。次に、 P_{680} のクロロフィルのリガンドを含めた構造と機能の関係について調べるために、 Chl_{D1} と結合距離にある $D1/Thr179$ を His および Val に置換した組換え体を作製して、光阻害への影響と P_{680} のエネルギー変化について調べた。その結果、 $T179H$ 変異体では $^3P_{680}$ のエネルギーレベルの低下によって野生型よりも光阻害に耐性を示したのに対して、 $T179V$ 変異体の $^3P_{680}$ のエネルギーレベルは野生型と変わらなかったものの、 P_{680}^+ / P_{680} のエネルギー状態の変化により、光阻害を受けやすくなっていた。以上のことから、 P_{680} の周辺構造の非対称性は Chl_{D1} のエネルギーレベルを調節して光阻害防御機構に重要である可能性が示唆された。