

## 対称型光合成反応中心タンパク質複合体内で機能する

## 電子伝達体の配位構造

○近藤徹<sup>1</sup>・松岡昌弘<sup>2</sup>・浅井智広<sup>2</sup>・吉岡哲記<sup>2</sup>・三野広幸<sup>1</sup>・大岡宏造<sup>2</sup>・伊藤繁<sup>1</sup>  
 ( 1: 名大院理 2: 阪大院理 )

## 【序】

光合成反応中心タンパク質複合体 (RC) では、捕集した光エネルギーを電気化学エネルギーに変換する。全ての RC が  $C_2$  対称軸に 2 つのタンパク質が結合した二量体構造であり、そのほとんどが非対称二量体 (ヘテロダイマー) 構造で結晶構造も解明している。一方、一部の光合成細菌のみが対称型二量体 (ホモダイマー) 構造の RC をもつ。ヘリオバクテリアもその一種であり、その RC はヘテロダイマー構造である高等植物の光化学系 I 型 (PS I) RC と相同性をもつ。電子担体として、クロロフィル *g* 二量体 ( $P_{800}$ )、クロロフィル *a* 単量体 ( $A_0$ ) が存在し、末端では 3 つの 4Fe-4S クラスター、 $F_X$ 、 $F_A$ 、 $F_B$  が機能している[1] (図 1)。

しかし、ヘリオバクテリアは絶対嫌気性で扱いが難しいため、ホモダイマー型 RC の X 線結晶構造解析は成功しておらず、反応機構はおろか構造すら詳しくわかっていない。特に電子担体キノン分子  $A_1$  は長年その存在が不明であった。キノン分子は全てのヘテロダイマー型 RC 内で電子担体として存在し、その物理化学的な性質が電子伝達系の機能を特徴付ける。そこで我々は *Heliobacterium (Hbt.) modesticaldum* から高純度の RC

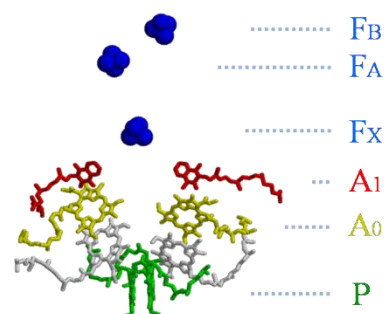


図1: PS I の構造をモデルとしたヘリオバクテリアRCの推定構造

標品を精製し時間分解 ESR 測定を行い、 $P_{800}$  とメナキノン分子 ( $A_1$ ) のラジカル対由来であるスピン分極信号を検出した[2]。さらに *Hbt. modesticaldum* から精製した生体膜を配向させ、 $P_{800}^+A_1^-$  ラジカル対スピン分極信号の角度依存性を検出し解析した。

## 【実験】

*Hbt. modesticaldum* の RC 標品を精製し、無配向標品として用いた。また *Hbt. modesticaldum* の生体膜をポリエステルフィルム上で乾燥させて配向膜標品を作製した[3]。還元剤 dithionite を加えた標品 (+dithionite)、と還元剤を何も加えていない標品 (no add)、を用い時間分解 ESR 測定を行った。好気条件下では色素が変性し失活してしまうため、RC 標品や配向膜標品の精製から測定までの全工程を嫌気条件下で行った。また、ホウレンソウ (Spinach) から精製した PS I の無配向膜標品と配向膜標品も作製し結果を比較した。

## 【結果と考察】

図1に *Hbt. modesticaldum* から、図2に Spinach PS I から検出した  $P^+A_1^-$  スピン分極 ESR 信号を示す。a は無配向標品、b は配向膜標品の結果を示している。外部磁場と膜面垂直軸との角度を図中に示した。図1 a と図2 a、b は 14 K で、図1 b は 10 K で測定した。得られたスペクトルは全て微分形で表示している。

*Hbt. modesticaldum* の  $P^+A_1^-$  スピン分極信号(図1 a)はAEA(A: absorption、E: emission)パターンであり、これまでホモダイマー型 RC で検出されたスピン分極信号のどのパターンとも異なっていた。また、Spinach PS I で検出した  $P^+A_1^-$  由来の EAE 型の信号(図2 a)とも大きく異なっていた。さらに配向膜標品を用い、外部磁場と膜面垂直軸との角度を変化させて各角度で  $P^+A_1^-$  スピン分極信号を検出すると、角度に依存してスペクトルパターンが大きく変化した(図1 b、図2 b)。

スピン分極信号は、ラジカル対を形成する分子間の相対角や距離、g 値、電荷分離初期の量子状態、などでスペクトルパターンが変化する。アミノ酸配列から、ヘリオ

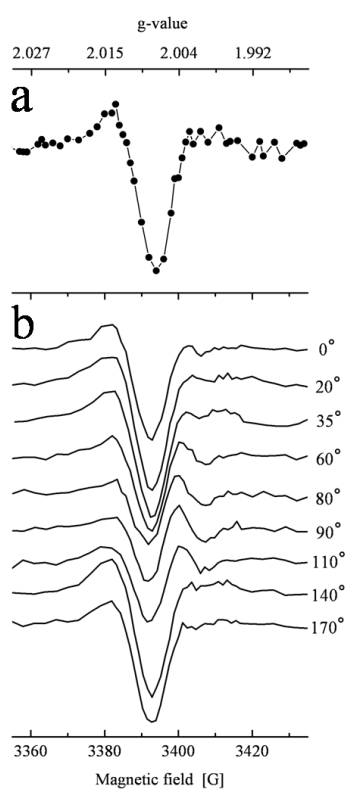


図1: *Hbt. modesticaldum*

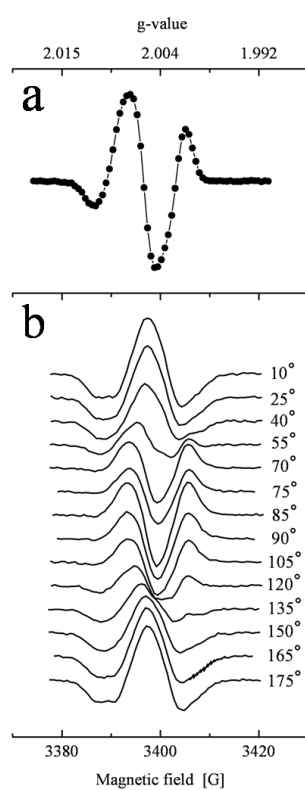


図2: Spinach PS I

バクテリアのキノン分子( $A_1$ )結合サイトは電荷をもったアミノ酸残基が多く存在し、PS I に比べてより親水的な構造であると推測されており、このスペクトルは PS I RC とは異なる配向で  $A_1$  が結合していることを示唆する。ヘリオバクテリア RC と PS I RC 内での P と  $A_1$  分子の相対角の違いが、スピン分極信号のスペクトルパターンの違いとして検出されたと考えられる。スペクトルシミュレーションにより得られたヘリオバクテリア RC 内の P -  $A_1$  分子間の相対位置や配位方向を PS I RC と比較した。

## 参考文献

- [1] H. Oh-oka, (2007) *Photochem. Photobiol.* 83, 177-186.
- [2] R. Miyamoto, H. Mino, T. Kondo, S. Itoh, and H. Oh-oka, (2008) *Biochemistry*, 47, 4386-4393.
- [3] G.C. Dismukes and K. Sauer, (1978) *Biochim. Biophys. Acta*, 504, 431-445.