

氏 名(本 籍)	水 澤 直 樹 (新 潟 県)
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 1,635 号
学位授与年月日	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	生 物 科 学 研 究 科
学位論文題目	Study on the Mechanism of Restoration of the High-Potential Form of Cytochrome b559 during Photoactivation of Photosynthetic Oxygen Evolution (光合成酸素発生能の光活性化に伴う高電位型チトクロム b559 の回復に関する研究)
主 査	筑波大学教授 理学博士 猪 川 倫 好
副 査	筑波大学教授 農学博士 田 仲 可 昌
副 査	筑波大学教授 理学博士 平 林 民 雄
副 査	筑波大学助教授 理学博士 山 下 魏
副 査	農業生物資源研究所 理学博士 徳 富 光 恵 主任研究官

論 文 の 内 容 の 要 旨

この論文は、光合成酸素発生能を持つ緑色植物の葉緑体に普遍的に存在するチトクロム b559 (Cytb559) について、その特性の変化と酸素発生活性の変化を関連させて標準酸化還元電位変換の分子機構と生理的意義について研究解析したものである。

Cytb559 は、葉緑体チラコイド膜の光化学系 II (系 II) の反応中心に結合しているヘム蛋白質で、チラコイド膜を貫通する 2 本のポリペプチドに 1 個のプロトヘムが結合してできている。その標準酸化還元電位は熱処理・薬剤処理・環境条件などにより、高電位型 ($E_o' = +370\text{mV}$)、低電位型 ($E_o' = +60\text{mV}$)、極低電位型 ($E_o' = 0\text{mV}$) に変化する。このチトクロムは光合成の電子伝達反応には直接関与しないが、系 II の不可欠な構成成分である。その特徴の一つは、健全で無傷の酸素発生活性を持つチラコイド膜では高電位型が多く存在するが、加熱処理や阻害剤処理などで酸素発生活性が阻害されると低電位型に変わることである。この研究では、Cytb559 の 3 種の型を区別して正確に定量する測定技術を開発し、チラコイド膜の酸素発生系の失活・再活性化と、Cytb559 の高電位型・低電位型の可逆的な相互変換に密接な関連があることを発見し、その因果関係を解析した。

植物の光合成・酸素発生反応は、系 II の反応中心複合体に結合する Mn クラスターにより触媒されるが、その Mn はトリス処理という酸素発生系に特異的で可逆的な阻害処理で解離・除去することができる。トリス処理で Mn を失った系 II 複合体に Mn^{2+} と Ca^{2+} を加え弱光を照射する光再活性化処理を行うと、Mn クラスターが再構成され酸素発生能を回復する。系 II の反応中心に結合している高電位型 Cytb559 は、トリス処理で Mn クラスターから Mn が除去され酸素発生能が失活すると、低電位型や極低電位型に変換される。このトリス処理チラコイド膜に Mn^{2+} と Ca^{2+} を加え光再活性化処理をすると、酸素発生能の回復に伴い低電位型 Cytb559 の 50-80% が高電位型に戻り、この回復には Mn^{2+} と光照射が必須であることを明らかにした。また、この光再活性化反応では、高電位型 Cytb559 の回復が酸素発生能の回復に先行することから、高電位型 Cytb559 の回復が光再活性化の初期反応であることを明確にした。

次に単離した系 II 膜での、光再活性化条件下で起こる高電位型 Cytb559 の回復機構を検討した。トリス処理系

Ⅱ膜に Mn^{2+} と Ca^{2+} を加え弱光を照射すると、チラコイド膜の場合と同様に、酸素発生能が回復し低電位型 Cytb559が高電位型に回復した。しかし、閃光による光活性化で、その回復の閃光数依存性は大きく異なり、高電位型 Cytb559は2発の閃光で回復したが、酸素発生能の回復には最低6発の閃光が必要であった。また、高電位型の回復と酸素発生能の回復とでは、 Mn^{2+} 要求性も異なり、最大値の1/2の回復に要する Mn^{2+} 濃度が各々5及び17 μM であった。

これらの結果は、高電位型 Cytb559の回復と酸素発生能の回復が、それぞれ独立した過程であることを示唆している。また、 Mn^{2+} の代わりに人工的電子供与体を添加し光照射しても、高電位型 Cytb559が回復することから、高電位型 Cytb559の回復にはMnクラスターの再構成ではなく、 Mn^{2+} の系Ⅱへの電子供与反応が必要なことを明らかにしている。さらに光活性化に伴う高電位型 Cytb559の回復は、 Q_A から Q_B への電子伝達の阻害剤DCMUによって影響を受けなかったが、還元型の Q_A ($\cdot Q_A^-$)を酸化できる人工的電子受容体は、高電位型 Cytb559の回復を完全に抑制したことから、還元型 Q_A の形成が、高電位型 Cytb559の回復に必須であることを明らかにしている。

審 査 の 結 果 の 要 旨

この研究は、これまで機能的役割が不明であったCytb559について、その標準酸化還元電位の変動と光合成・酸素発生能の変動に着目し、その相互の関連性について詳しく調べ解析したものである。

光再活性化反応で光化学系ⅡのMnクラスターが再構成されて酸素発生能が回復する際には、1) Cytb559が低電位型から高電位型へ移行すること、2) この移行は酸素発生能の回復に先行すること、3) この移行反応には低濃度の Mn^{2+} または他の光化学系Ⅱ特異的な電子供与体が必要なこと、4) この移行反応には光化学系Ⅱの電子伝達成分 Q_A の光還元が関与していることなどを明らかにしたものである。その内容は、これまでの研究には見られない幾つかの新しい研究方法を応用することにより得られた新発見であり、この分野の研究の発展に大きく貢献するものとして高く評価できる。

よって、著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。