

## 審査の結果の要旨

氏名 芝本匡雄

光合成では、集光色素と反応中心機能分子からなる光化学系 Photosystem (PS) I と II が直列に働いて光エネルギー変換が進む。総合量子収率が 1 に迫る高い効率、機能分子群の精密な空間配置に加え、酸化還元電位  $E^\circ'$  の精妙なチューニングにより生じると推測されるが、正確な  $E^\circ'$  値が判明していない機能分子も多い。本論文の研究は、PS II 反応中心を構成する機能分子のうち、プラストキノン  $Q_A$  と、ヘムタンパク質シトクロム(Cyt)  $b559$  の  $E^\circ'$  値を精密計測することにより、PS II の電子伝達メカニズム解明に資する知見を得ている。

第 1 章 (序論) では、光合成初期過程を概説し PS II 反応中心機能分子の酸化還元電位に関する研究の現状をまとめ、本研究の目的を述べている。

第 2 章では、 $E^\circ'$  の報告値が  $-300 \sim +100$  mV という広い範囲にあった PS II 二次電子受容体  $Q_A$  の検討結果を述べている。従来  $Q_A$  の  $E^\circ'$  値がばらついていた主因は化学酸化還元滴定法にあると考え、短時間で平衡化し平衡達成が確実に判定できる薄層セル分光電気化学的手法を用い、電位印加に伴う蛍光強度変化を追跡できる計測手段の構築と最適化を行った。その結果、好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* で、 $Q_A$  の  $E^\circ'$  値を  $-140 \pm 2$  mV ( $n=4$ ) ときわめて精度よく計測することに成功している。

さらに、実測した  $Q_A$  の  $E^\circ'$  値を用い、速度論的解析で得られてきた機能分子間のギブズエネルギー差から、強い酸化力をもつため水系試料中では実測できない PS II 反応中心一次電子供与体 P680 の  $E^\circ'$  値を  $+1190$  mV と推測した。これは従来の推定値より約 100 mV 近くも卑な値である。また、本研究による推測値が、分光電気化学的計測による PS II 反応中心一次電子受容体フェオフィチン (Phe)  $a$  の  $E^\circ'$  値からの推定値にきわめて近いという事実も、上記計測結果の高い信頼性を保証している。

第 3 章では、確立した分光電気化学的手法を他の生物種にも適用し、 $Q_A$  の  $E^\circ'$  値として、緑藻の *Chlamydomonas reinhardtii* で  $-167$  mV、高等植物のホウレンソウで  $-163$  mV、紅藻の *Cyanidioschyzon merolae* で  $-110$  mV という値を得た。

*T. elongatus* の実測値 ( $-140\text{ mV}$ ) と合わせ、長らく憶測の域を出なかった「 $E^\circ$  値の生物種依存性」を初めて明確にしている。

こうした  $E^\circ$  値の生物種依存性を PS II 構成タンパク質などの知見にもとづき検討し、酸素発生用触媒 Mn クラスターの安定化に働く表在性タンパク質の異同が  $Q_A$  の  $E^\circ$  値を左右するものと推測している。表在性タンパク質の構成サブユニットは生物種ごとに異なり、緑藻と高等植物は PsbO・PsbP・PsbQ, シアノバクテリアは PsbO・PsbV・PsbU, 紅藻は PsbO・PsbV・PsbU・PsbQ' となる。表在性タンパク質が共通の緑藻と高等植物で  $Q_A$  の  $E^\circ$  値がほぼ等しい事実と、表在性タンパク質が異なる生物種間で  $Q_A$  の  $E^\circ$  値が数十 mV 異なる事実が、上記の推測を裏づける。また、表在性タンパク質の相違が  $Q_A$  近傍のマイクロ環境に及ぼす影響についても妥当な推定を行っている。

第4章では、ヘムタンパク質 Cyt *b559* の  $E^\circ$  値に関する計測法の工夫と計測結果を述べている。ハウレンソウ由来の PS II コア (D1/D2 タンパク質複合体) を試料に用い、電位印加に伴う吸光度変化を分光電気化学法で追跡することにより、過去の報告で  $+25 \sim +150\text{ mV}$  の範囲にばらついていた Cyt *b559* の  $E^\circ$  値を pH 6 で  $+90 \pm 2\text{ mV}$  ( $n=4$ ) と求めることに成功している。

第5章では、前章で確立した精密計測法を用い、Cyt *b559* の  $E^\circ$  値の pH 依存性を検討している。実測結果は、pH 4→9 で  $+115 \rightarrow +50\text{ mV}$  と、負方向に約 65 mV シフトする pH 依存性を示した。X 線結晶構造解析結果を見ると、Cyt *b559* のヘムには距離およそ  $2\text{ \AA}$  で2個のヒスチジン (His) 残基が配位しているため、両残基の酸解離平衡が Cyt *b559* の  $E^\circ$  値に影響する可能性が高い。それをもとにした理論式で実測データが十分に説明できたことより、His 残基1個の酸解離平衡が  $E^\circ$  値の pH 依存性をもたらすという従来説の誤りを明らかにした。pH 4 で正帯電のイミダゾール基が、pH 上昇に伴い正電荷を徐々に減らし、Cyt *b559*<sup>+</sup> との静電相互作用を相対的に強めて Cyt *b559*<sup>+</sup> の安定化に寄与し、Cyt *b559* の  $E^\circ$  値を負にシフトさせたと結論している。

第6章では以上の実測・解析結果を総括し、今後の展望を述べている。

以上要するに本論文は、光合成の光化学系 II 電子授受プロセスを駆動する機能部品の  $E^\circ$  値に関する計測手法の考案・確立により、重要な機能部品2種の  $E^\circ$  値を初めて精密に実測することを通じ、生体機能化学や光合成機能の工学応用にとって有用な知見を得たものだといえる。

よって本論文は博士 (工学) の学位請求論文として合格と認められる。