

オオハネモ由来集光性クロロフィル *a/b* タンパク質複合体(LHC II)の 結晶構造解析

Crystal structure analysis of light-harvesting chlorophyll *a/b* protein complex (LHC II) from *Bryopsis maxima* (Japanese)

内田 朗*, 佐藤望都, 中山克己

東邦大学理学部、〒274-8510 千葉県船橋市三山 2-2-1

Akira UCHIDA*, Moto Sato and Katsumi Nakayama

Faculty of Science, Toho University, 2-2-1 Miyama, Funabashi, Chiba 274-8510, Japan

1 はじめに

集光性複合体(LHC II)は葉緑体のチラコイド膜中の膜タンパク質の約 30%を占め、チラコイド膜中の約半分のクロロフィルを結合している。地球上のほとんど全ての生命体が光合成に依存しているが、LHC II はその光合成において用いられる太陽エネルギーを吸収し、反応中心へのエネルギー伝達を行う役割を担っている。また、光エネルギーが過剰な状況においては、非光化学消光により光合成系を保護する機能を備えている。

これまでに構造が明らかにされているのはホウレンソウやエンドウなど、いずれも陸上植物のものである。LHC II は三量体として機能している。単量体(232 残基)には5本の α ヘリックスが存在しており、最も長い2本のヘリックスが交差してコア構造を形成している。単量体当たりクロロフィル(Chl) *a* が8分子、Chl *b* が6分子、カロテノイドのルテインが2分子、ネオキサンチンが1分子結合している。

緑藻オオハネモは潮間帯の岩場に生育しており、通常は海水面下にあるが、干潮時には大気に露出する。そのため陸上植物に比べ光強度の変化が大きい。オオハネモ LHC II 単量体に含まれる色素は、Chl *a* が6分子、Chl *b* が8分子であり、Chl *a/b* 比が陸上植物とは逆になっている。また、カロテノイドとしてネオキサンチン、および陸上植物には見られないシフォネインとシフォナキサンチンを含んでいる。陸上植物とは異なる光環境に適応したオオハネモ LHC II の構造解析を行うことにより、集光メカニズムや光障害に対する保護メカニズムをより詳細に検討することが可能になるとと思われる。

2 実験

オオハネモから抽出したチラコイド膜に *n*-ドデシル- β -D-マルトシド(DDM) (終濃度 1%)を加えて可溶化したのち、150-250 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl (pH 7.5)の条件でイオン交換クロマトグラフィーによる精製を行った。結晶化は 20°C ハンギングドロップ蒸気拡散法で行った。良好な結晶を与えた条件は、0.4-0.5 M Sodium acetate, 0.1 M Tris-HCl (pH 8.0), 25-31% PEG 400, 0.8% DDMであった。PF-AR

NE3A のビームラインを使用して 100 K で回折強度を測定した。

3 結果および考察

回折像のパターンには異方性があり、分解能は $4 \times 6 \text{ \AA}$ であった。空間群は $P 3_1 21$ 、格子定数は $a=b=117 \text{ \AA}$, $c=272 \text{ \AA}$ であった。今後さらに分解能を向上させるために、イオン交換クロマトグラフィーのゲル濾過カラムクロマトグラフィーあるいはディスクゲル電気泳動法を用いた精製を行うことを検討する。また、析出した結晶を再結晶化することにより分解能向上を検討する予定である。

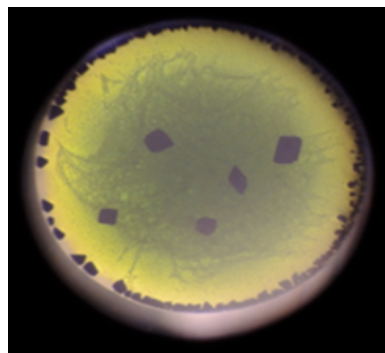


図1：オオハネモ LHC II の結晶。

謝辞

PF のビームラインスタッフの方々には大変お世話になりました。深く感謝いたします。

* auchida@biomol.sci.toho-u.ac.jp