

氏名	インサン ファティール Insan Fathir
授与学位	博士(工学)
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の根拠法規	学位規則第4条第1項
研究科、専攻の名称	東北大学大学院工学研究科(博士課程) 生物工学専攻
学位論文題目	耐熱性紅色イオウ光合成細菌由来反応中心・光捕集系アンテナ1の構造解析と分光学的研究
指導教官	主査 東北大学教授 野澤庸則 東北大学教授 西野徳三 東北大学教授 熊谷泉

光合成反応において光エネルギーを電気化学的エネルギーに変換する光合成初期過程は反応中心(RC)とその周囲に存在する光捕集系アンテナ1(LH1)と呼ばれる膜貫通型の色素タンパク質複合体が担っている。これらの膜タンパク質内ではエネルギーが高速度で移動し、高い効率で光電変換反応が行われている。

LH1は2つのポリペプチド( $\alpha$ と $\beta$  subunit)と色素分子バクテリオクロフィル(BChl)ダイマーの三つの構成要素から成り立っている。また、RCは右図のようにL、M、H、C subunitと複数の色素から構成されている。

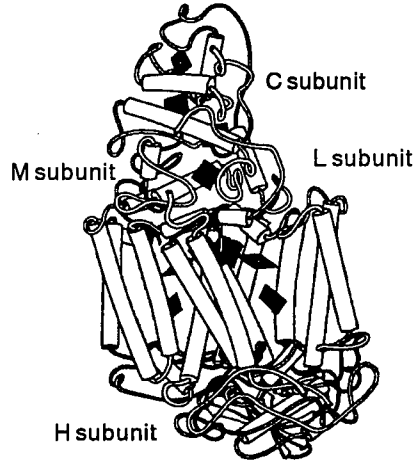


図 反応中心構造

RCやLH1は優れた光電変換機能を持つ生体素子であるが、熱等の刺激に対して安定性に欠けている。そこで本研究では熱安定性に優れている耐熱性光合成細菌由来のLH1-RCに着目し、その耐熱性光合成細菌のRC及びLH1の一次構造の決定・解析を行った。さらに、そのLH1-RC錯体の単離・精製法を確立し、分光学的測定から構造・機能について研究した結果を述べた。以下に各章を要約する。

第1章 序論

LH1-RCは光合成初期課程において光エネルギーを電気化学的エネルギーに変換し、右図に示した模式図のように表すことができる。 $\alpha$ ・ $\beta$ の二つのsubunitとBChlのダイマーである色素B915から構成されるLH1はリング状に生体膜を貫通しており、その中心部にRCが存在している。

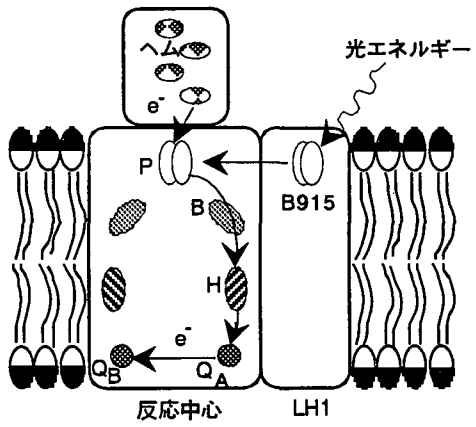


図 LH1-RCの模式図

RC内にはBChlのダイマーであるスペシャル

ペアー (P)、BChl のモノマーであるアクセサリ-BChl (B)、バクテリオフェオフィチン (H)、キノン ( $Q_A$  と  $Q_B$ )、ヘムと言う色素が含まれている。これらの色素間をフェムト～マイクロ秒の単位でエネルギーが伝達されることにより LH1-RC は吸収した光エネルギーを高い効率で電気化学的エネルギーに変換している。

## 第2章 *Chr.t epidum* の反応中心(RC)構造遺伝子の解析

この章では耐熱性光合成細菌 *Chr.t epidum* 由来の RC 構造遺伝子の解析について述べた。RCタンパク質の各 subunit の N 末端側のアミノ酸のシーケンスを行った。また、ゲノムの抽出・単離と様々な primer を用いた PCR 戦略法などを述べた。その解析結果から明らかにされた耐熱性光合成細菌 *Chr.t epidum* 由来 RC の各 subunit の一次構造の多数の特徴を明らかにし、常温細菌のものと比較し考察した。

## 第3章 *Chr.t epidum* の光捕集系(LH1)構造遺伝子の解析

この章では耐熱性光合成細菌 *Chr.t epidum* 光捕集系アンテナ1 (LH1) 構造遺伝子の解析を述べた。PCR 戦略法、一次構造解析結果、他の光合成細菌との特徴的な構造を考察した。また、*Chr.t epidum* の LH1 の特徴である吸収波長位置のシフトの原因解明を検討した。その結果、*Chr.t epidum* LH1 では重要なアミノ酸は保持され、色素と相互作用している His 周辺のアミノ酸の欠損の存在、さらに、*Chr.t epidum* puf オペロン内に特有な ORF 遺伝子の存在も明らかにした。

## 第4章 *Chr.t epidum* の反応中心・光捕集系1錯体(LH1-RC)

この章では耐熱性光合成細菌由来の反応中心・光捕集系1錯体(LH1-RC)の単離・精製と分光学的研究結果を述べた。ショ糖密度勾配法及び陰イオン交換カラム法を用いて2種類の LH1-RC を得た。また、LH1-RC の構造と機能の関係について、分光学的手法によって検討した。さらに LH1-RC の構成要素の検討・分子量決定、界面活性剤に対する影響、種々の塩に対する LH1 の吸収波長のシフトの原因の解明をした。

## 第5章 熱安定性と構造解析

この章では耐熱菌 *Chr.t epidum* 由来 LH1-RC の熱安定性の検討及び常温菌のものとの比較した結果を述べた。また、LH1-RC の陽イオンと界面活性剤に対する熱安定性の検討を行った。さらに、LH1-RC の一次構造の比較を行い、LH1-RC 内の親水性アミノ酸、疎水性アミノ酸含有率を考察した。その結果 *Chr.t epidum* の LH1-RC 内立体構造の熱安定性に関わる重要残基を考察した。

## 第6章 総括

この章では第2章～第5章まで耐熱性紅色イオウ光合成細菌 *Chr.t epidum* 由来 LH1-RC の遺伝子の解析により得られた結果とその分光学的な結果を総括した。

## 論文審査の結果の要旨

本学位論文は新種の耐熱性光合成細菌反応中心タンパク質および光捕集系タンパク質1の遺伝子塩基配列、アミノ酸配列を決定し、その特徴ならびに熱的安定性を分光学的知見と合わせ研究したものである。二酸化炭素の増大による地球の温暖化、人口増加に伴う資源の枯渇など我々を取り巻く様々な問題の解決に貢献すべく、光合成反応の積極的な活用方法が模索されている。このような大きな研究目標の中で、本論文では耐熱性光合成細菌 *Chromatium tepidum* (*C. tepidum*) を対象にして、その光エネルギーを化学的エネルギーに変換するために必須な膜タンパク質である光捕集系1と反応中心の複合体 (LHI-RC) の諸性質を研究したものである。

第1章は緒論であり、本研究の背景および目的について述べている。

第2章では耐熱性光合成細菌 *C. tepidum* 反応中心の構造遺伝子の解析について述べている。反応中心を構成するタンパク質のN末端アミノ酸配列および類縁の光合成細菌の遺伝子配列情報からプライマーを設計・合成し、種々の条件下でPCRを行い反応中心のL、MおよびCサブユニットのタンパク質をコードしている遺伝子の塩基配列と、それぞれのタンパク質のアミノ酸配列の決定に初めて成功し、*C. tepidum* 反応中心に特徴的なアミノ酸配列や構造を見いだしたもので高く評価できる。

第3章においては、耐熱性光合成細菌 *C. tepidum* 光捕集系1 (LH1) 構造遺伝子の解析について述べている。前章と同様な研究手法を用いてLH1タンパク質の遺伝子の塩基配列を決定し、それらがコードしているタンパク質のアミノ酸配列の決定に成功した。この結果耐熱性光合成細菌 *C. tepidum* LH1に特徴的なアミノ酸の欠損、特徴をはじめて見いだしたものと評価できる。

第4章においては耐熱性光合成細菌 *C. tepidum* LH1-RCの単離・精製を行い、そのサブユニット構造、分光特性を検討した。その結果、*C. tepidum* LH1-RCはいずれも一般的な光合成細菌由来LH1-RCに特徴的なサブユニット $\alpha$ , $\beta$ ,L,M,Hを持ち、さらにCを有していることが見いだされた。また、単離方法の違いにより、LH1の吸収極大に違いがあることを見出し、これがサブユニット構成の違いによるものではなく、添加塩の濃度に依存するものであり、前章で明らかにしたアミノ酸の欠損と密接に関連していることを示した。

第5章では耐熱性光合成細菌 *C. tepidum* 反応中心-光捕集系1錯体の熱安定性を常温菌である *C. vinosum* のアミノ酸組成との比較により検討を行った。耐熱性光合成細菌 *C. tepidum* 反応中心-光捕集系1錯体は常温菌である *C. vinosum* より高い熱安定性を示すこと、その安定性が塩を添加することによりさらに安定化すること、そして電荷を持つアミノ酸残基の存在が耐熱性光合成細菌 *C. tepidum* 反応中心-光捕集系1錯体の熱安定性に重要な働きをしていることを示した。

第6章では以上の研究を総括した。

以上要するに本論文では、光生物が効率的に光エネルギーを捕獲し生存のためのエネルギーを獲得しているアンテナ-反応中心錯体の構造を耐熱性光合成細菌について遺伝子工学ならびに分光法を活用することにより解明し、その工学的応用のための基礎を与えたものであり、生物工学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(工学)の学位論文として合格と認める。