

平成 22 年 4 月 23 日現在

研究種目： 基盤研究 (B)
 研究期間： 2007~2010
 課題番号： 19370061
 研究課題名 (和文) 光化学系 I I Mn クラスターによる光合成水分解反応ケミストリーの研究
 研究課題名 (英文) Studies on photosynthetic water oxidation chemistry of the Mn-cluster in Photosystem II
 研究代表者
 小野 高明 (ONO TAKAAKI)
 茨城大学・工学部・教授
 研究者番号： 10175268

研究代表者の専門分野： 生物学
 科研費の分科・細目： 生物科学・生物物理学
 キーワード： 光生物

1. 研究計画の概要

高活性・高安定な酸素発生コア標品、特異的安定同位体標識標品、Mn クラスターのアミノ酸配位子変異体標品、等を作成。これらの試料を用い、光合成水分解反応の化学反応過程を直接測定することにより、水分解反応のケミストリーを明らかとし、その反応機構を提出する。

2. 研究の進捗状況

(1) 好熱性シアノバクテリアのチラコイド膜を界面活性剤処理後、遠心分画する事により、酸素発生系 II コア粒子を調製した。界面活性剤 Zwittergent 3-12 で可溶化することにより、高い酸素発生活性を保持した標品を得ることが出来た。この標品はアロフィコシアニンを保持していた。細胞に比べると、熱耐性が約 10 度低温側にシフトしていたが、室温で 24 時間放置しても高い活性を保持していた。(2) Mn クラスターを特異的に安定同位体標識するために、*T. elongatus* における酸素発生活性の失活 (Mn クラスターの破壊) と光による再活性化について検討を行った。65 度で *T. elongatus* 細胞の熱処理により 10% 以下にまで失活した酸素活性は、光照射により処理前の活性にまで酸素発生活性が回復することを見出した。熱処理後の光活性化能は安定であり理後 10 時間後でもほとんど変化しなかった(3) 酸素発生系 II コア標品について Mn クラスターの光再構築系を確立した。光活性化により処理前の 70% 以上の Mn クラスターを再構築することができた。再構築した試料は、無処理試料と同じ FTIR S_2/S_1 差スペクトルを示した。(4) D1 タンパク質の C 末端アラニンの α カルボキ

シル基は Mn クラスターの配位子となっている。アラニンを他のアミノ酸に変えた変異体から調製した PS II コアの性質を調べた。(5) O^{17} 同位体水置換した試料の S_2 状態のマルチラインにつき、CW、パルス (フィールドスイープ) ESR 測定を行った。 O^{17} 同位体水置換試料では CW-ESR 信号、マイクロ波強度依存性 (緩和) は全く影響を受けなかったが、パルス-ESR 信号はその強度が大きく低下することを見出した。

3. 現在までの達成度：やや遅れている。
 (1) 研究室の基本的なインフラ (電源確保・冷却水の確保・等) 整備に予想以上に時間がかかった。(2) 低波数 FTIR 装置が不安定なため、当初目的としていた、高品位スペクトル測定が困難な状態にある。(3) 基本的な試料の調製・光活性化等については進んでいる。

4. 今後の研究の推進方策
 パルス ESR 測定、中波数領域の FTIR 測定に重点を置き研究を進めるとともに、低波数領域のスペクトル改善に取り組む。

5. 代表的な研究成果
 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

(1) Nakasone, Y., Ono, T., Ishi A., Masuda, S. and Terazima M. (2010) Temperature-sensitive reaction of a photosensor protein YcgF: Possibility of a role of temperature sensor. *Biochemistry*, 49, 2288-2296. [査読有]

- (2) Masuda, S., Hasegawa, K., Ohta, H. and Ono, T.A. (2008) Crucial Role in light signal transduction for the conserved Met93 of the BLUF protein PixD/Slr1694. *Plant Cell Physiol.* 49, 1600-1606 [査読有]
- (3) 小野高明 (2008) 熱発光・遅延発光 低温科学 67, 453-463. [査読有]
- (4) Nakasone Yusuke, Ono Taka-aki, Ishii Asako, Shinji Masuda and Terazima Masahide (2007) Transient dimerization and conformational change of a BLUF Protein: YcgF. *J. Am. Chem. Soc.*, 129, 7028-7035 [査読有]

[学会発表] (計5件)

- (1) 小野高明: 青色光 BLUF 受容体 第2回 生体分子科学コロキウム (2009年6月24日、茨城量子ビームサイエンスセンター、那珂)
- (2) 小野高明: フーリエ変換赤外分光法による光合成酸素発生研究 第6回茨城大学遺伝子実験施設公開シンポジウム (2009年3月10日、茨城大学、阿見)
- (3) 中曽根祐介: 青色光センサー-BLUF 蛋白質 YcgF の温度依存的会合とその光反応 2008 光化学討論会 (2008年9月11-13日、大阪府立大学 中百舌鳥キャンパス)
- (4) 中曽根祐介: BLUF 蛋白質 YcgF の温度依存的反応分子機構 -温度センサーとしての可能性- 第35回 生体分子科学討論会 (2008年6月25-28日、兵庫県先端科学技術支援センター)
- (5) 小野高明: FTIR studies on blue-light receptor using FAD (BLUF) Joint Symposium of 5th Japan-China Crossover Science Symposium (2008年2月28日、水戸・茨城大学)