B693

白熱灯で培養した *Acaryochloris marina* の光化学系の色素組成

○後藤 高紀¹、秋山 満知子¹、伊藤 由加¹、木瀬 秀夫¹、土屋 徹²、宮下 英明²、三室 守²、小林 正美¹ (¹筑波大・物質工学系、²京都大・院・地球環境学堂)

1996年に群体ホヤ体内から発見された原核藻類 *Acaryochloris marina* は主要光合成色素としてクロロフィル *d* (Chl *d*) を持つ。Chl *d* は高等植物で機能する主要な色素 Chl *a* のリング I のビニル基がホルミル基で置換されたもので、Chl *a* よりも長波長の光を吸収する。*A. marina* は他の藻類と同様に酸素発生型の光合成を行い、二つの光化学系 (PSI & PS2) を持つ。これまでの酸素発生型の光合成生物では、Chl *a* が主要色素で、PSI および PS2 の反応中心には、それぞれ Chl *a'* (Chl *a* のエピマー) とフェオフィチン *a* (Phe *a*; Chl *a* の Mg が脱離して 2 個の H が入った色素) が鍵色素として存在した。前者は PSI の電子供与体 P700 として、また後者は PS2 の一次電子受容体として機能している。

ところで、*A. marina* には、微量量ではあるが Chl *a* が存在することから、我々は Chl *a'* と Phe *a* が存在すると考えた。しかし、精密色素分析の結果、*A. marina* には Chl *d'* と Phe *a* が検出され、Chl *a'* と Phe *d* は検出されなかった。従って、*A. marina* の PSI 電子供与体 P740 は Chl *a'* ではなく Chl *d'* であり、PS2 の反応中心は他の酸素発生型と同じであると推定した。光強度を変えて白熱灯で培養した場合、Chl *d'*/Phe *a* のモル比は、光強度に依存せずほぼ一定であることから、*A. marina* の PSI/PS2 比は白熱灯の光強度に依存しないと強く示唆された。現在、光質の影響を調べるため、蛍光灯で培養した *A. marina* の色素分析を行っている。

T.Gotoh, M.Akiyama, Y.Itoh, H.Kise, T.Tsuchiya, H.Miyashita, M.Mimuro and M.Kobayashi : Pigment composition of cyanobacterium *Acaryochloris marina* grown under incandescent light

B695

光合成反応中心複合体構造中の PG 脂質の遺伝子操作による除去効果

Gombos Zoltan¹、赤井 新平²、和田 元³、○伊藤 繁² (¹ハンガリー科学アカデミー、²名大院・理・物理、³東大・養・基礎科)

光化学系 I 反応中心のタンパク質立体構造中には 3 分子のフォスファチドグリセロール (PG) と 1 分子のガラクト脂質 (MGDG) が結合し、タンパク質、クロロフィル、カロテノイドと相互作用する。光化学系 II でも PG の結合が示唆され、紅色光合成細菌では電子受容体キノン (QB) 近傍への脂質カルジオルピンの結合が示された。我々はシアノバクテリア *Synechocystis* PCC6803 の PG 合成酵素欠損株を作成し、PG の役割を調べた。この株は PG 含有培地で正常に光合成的に生育し、PG 除去培地では細胞内に 5 % 程度含まれる PG 含量が減少する。1) P G 除去後 2 日で酸素発生能力は低下し、PSII キノン QA から QB への電子移動が阻害されることが、QA-蓄積を反映するクロロフィル蛍光収率と熱発光のピークシフトからわかった。3) この時 77 K でのフィコビルンからクロロフィルへの励起エネルギー移動速度は変化しない。しかし、684nm 蛍光寿命は増大し PSII コア上のクロロフィル間のエネルギー移動の低下が示唆された。4) 7 日以後はクロロフィル含量が低下し、これは PSI の P 700 と蛍光の低下をともなっていた。5) 20 日以降 P S I 含量は著しく低下した。6) この間細胞分裂はとまり、細胞は巨大化した。7) PG 再添加で正常な光合成機能と細胞分裂が回復した。これらの事実は PSII の QB 近傍には低親和性の、PSI には高親和性の PG 結合部位があり、励起エネルギー移動、電子移動、反応中心構造維持に必須の機能をもつ事を示している。PG 欠乏により光化学系 I,II 反応中心ともに新規合成がとまることも明らかになった。

Z.Gombos, S.Akai, H.Wada and S.Itoh : Effects of genetic depletion of phosphatidyl glycerol on photoynthetic reaction center

B694

紅色光合成細菌のアンテナサイズと光化学系モデル

○秋山 満知子¹、井上 亮二¹、持田 知弘¹、永島 賢治²、原正之³、星野 貴行⁴、若山 樹⁵、小林 正美¹ (¹筑波大・物質工、²都立大・理学部、³大阪府立大・先端研、⁴筑波大・応用生物化学、⁵ティッシュエンジニアリング)

現在、紅色光合成細菌の光化学系の立体配置は分かっていない。1984年に反応中心 (RC) の立体構造が、1995 年にアンテナ複合体 LH2 の立体構造が明らかになった。LH2 は対称性の高いリング構造で、各ユニットは二種のポリペプチドとバクテリオクロロフィル (BChl) の二量体、BChl 単量体および 1 分子のカロチノイドから成る。光エネルギーは LH2 → LH1 → RC と伝達されるが、LH2 と RC をつなぐ LH1 の立体構造はまだ解明されておらず、1995 年に報告された *Rsp. rubrum* の LH1 の 2 次元解析から、16 個の等価なサブユニットからなるリング構造だと考えられている。各ユニットは 2 種のポリペプチド α と β 、BChl の二量体と 1 分子のカロチノイドから成り、LH1 は RC を囲んでいると報告されたが、その全貌は明らかになっていない。

そこで我々は、RC にのみ存在するバクテリオフェオフィチン (BPhe) を指標とし、LH2 のない 6 種の紅色光合成細菌 (*Erb. longus*, *A. rubrum*, *Rps. viridis*, *Rsp. rubrum*, *Rvi. gelatinosus*, *Rbi. marinum*) の色素分析から、LH1 サイズを見積もった。もし、全菌種の LH1 が全て 16 $\alpha \beta$ なら、BChl/BPhe の比は 18 と一定になるはずである。ところが、BChl/BPhe 色素比は菌種間で異なり、18 となったのはある光条件下で培養した *Rsp. rubrum* のみだった。*Erb. longus*, *A. rubrum*, *Rps. viridis* は、BChl/BPhe が 18 以下であるのに対し、*Rvi. gelatinosus* は 18 以上であった。興味深いことに、*Rsp. rubrum* と *Rbi. marinum* は培養条件によって色素比が 16~22 と変化した。このことは、LH1 サイズが 16 $\alpha \beta$ と一定な大きさではなく、菌体種および培養条件により異なると強く示唆される。色素分析より見積もった LH1 サイズはタンパク質定量により再確認した。

M.Akiyama, R.Inoue, T.Mochida, K.Nagasima, M.Hara, T.Hoshino, T.Wakayama, M.Kobayashi : The size of light-harvesting complex 1 in photosynthetic purple bacteria

B696

共焦点レーザー顕微吸収・蛍光分光法によるシアノバクテリア *Nostoc* の細胞分化と 1 細胞の観察

○杉浦 花菜、柴田 穰、伊藤 繁 (名大・院・理・物質理学)

細胞がフィラメント状に連なる藍色細菌 *Nostoc* sp. KU001 の栄養細胞 (P S I・P S II を持つ。ve-cell) と、窒素固定の為に分化するヘテロシスト細胞 (P S I のみを持つとされる。he-cell) の細胞内及び細胞毎の蛍光・吸収スペクトルを、高分解能顕微分光法により調べた。測定装置は、共焦点レーザー顕微鏡に分光器を配置し、冷却 CCD (スペクトル測定用) と冷却 PMT (構造スキャン用) で光を検出する。空間分解能 0.2 μ m、波長分解能 1nm 以下で、各細胞のスペクトル測定が可能である。赤色培養光では緑色培養光の細胞に比べ、アンテナ色素タンパク質・フィコビリソーム中の P C (フィコシアニン) の増加と P E (フィコエリスリン) の減少が、he-cell、ve-cell のどちらでも起こった (補色適応)。同一培養光条件下でも he-cell と ve-cell の P E、P C、クロロフィルの蛍光極大波長には差があった。吸光度から見積もった he-cell の P E、P C 含量は ve-cell の半分以下でありながら蛍光強度は強く、反応中心へのエネルギー移動効率が悪いことが示唆された。ステージ上にクライオスタットを設置して 40 K で測定すると、he-cell にも P S II 由来のクロロフィル蛍光極大が存在した。各細胞は細胞サイズには無関係に、異なる蛍光・吸収スペクトルを示す。色素の蛍光収率及び P S I/P S II 比の細胞毎の違いの程度は、以下の不等式のようになった。

同一フィラメント内の ve-cell < 他 のフィラメントの ve-cell < he-cell
個別細胞の解析により、細胞集団全体の平均値を見る従来型のマクロな分光法では得られない、細胞毎のゆらぎに関する情報が得られた。

K. Sugiura, Y. Shibata and S. Itoh : Absorption and fluorescence spectra of single heterocyst and vegetative cell in *Nostoc* sp. studied by confocal microscope