

# 赤色光吸収型発色団フィコシアノビルリンを結合する青／緑色光受容体PixJ1の低温紫外／可視分光解析

○吉原静恵<sup>1</sup>、直原一徳<sup>1</sup>、嶋田崇史<sup>2</sup>、岩田達也<sup>3</sup>、神取秀樹<sup>3</sup>、徳富哲<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>大阪府大・院・理、<sup>2</sup>島津製作所、<sup>3</sup>名工大・院・工)  
[yoshihara@b.s.osakafu-u.ac.jp](mailto:yoshihara@b.s.osakafu-u.ac.jp)

単細胞性シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 は、光応答性の運動を示す。光源へ向かう正の走光性には、フィトクロム様光受容体 PixJ1 が必須である。フィトクロムは植物の赤色光受容体であり、GAF ドメイン内のシステインに発色団（開環テトラピロール）を共有結合している。近年、植物以外の様々な生物のゲノム配列からフィトクロムに似た GAF ドメインをコードする遺伝子が多数見いだされている。これらフィトクロムは、植物フィトクロムと同様に赤色光吸収型（Pr 型、 $\lambda_{Amax}$ = 660～ nm）と遠赤色光吸収型（Pfr 型、700～ nm）のあいだを可逆的に変換する特徴がある。

一方、シアノバクテリア細胞から単離した PixJ1 タンパク質は、青色光吸収型（Pb 型、 $\lambda_{Amax}$ = 425 - 435 nm）と緑色光吸収型（Pg 型、 $\lambda_{Amax}$ = 535 nm）のあいだを可逆的に変換する新奇の光受容体である（図 1、2）。PixJ1 に結合する発色団を同定するために、様々な開環テトラピロール合成酵素遺伝子と PixJ1 の GAF ドメインを大腸菌細胞内で共発現させ、ホロタンパク質を得る系を確立した。この系を用いて精製したタンパク質について調べた結果、赤色光を吸収するフィコシアノビルリンとの共発現系から得たタンパク質が、シアノバクテリアから単離したものとほぼ一致する分光学的特性を示した。変性させた PixJ1 タンパク質は赤色光領域を吸収すること、さらに、質量分析解析の結果から PixJ1 の GAF ドメインのシステインにフィコシアノビルリンが共有結合していることを明らかにした。おそらく、赤色光を吸収するフィコシアノビルリンの  $\pi$  電子共役系が PixJ1 の中で途切れた状態に保たれているために、吸収が青／緑色領域に短波長シフトするのではないかと考えられる。その原因の一つとして、フィトクロモビルリンが PixJ1

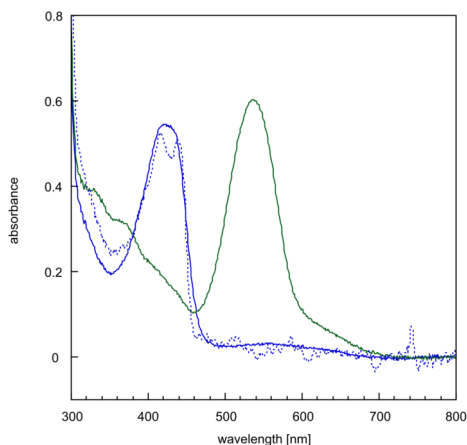


図 1 Pb（最大吸収波長 435 nm）と Pg（最大吸収波長 535 nm）の吸収スペクトル  
青実線、Pb at room temp.、緑実線、Pg at room temp.  
青破線、Pb at 77 K

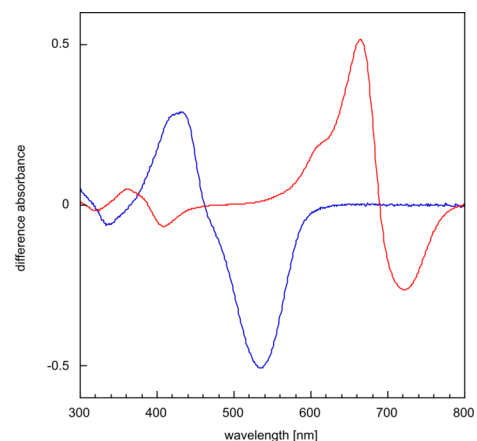
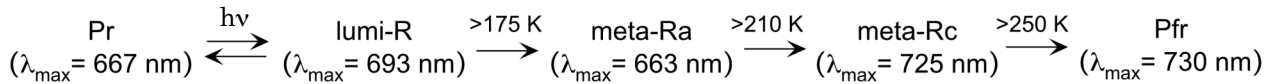


図 2 吸収差スペクトル (room temp.)  
青線、Pb マイナス Pg (PixJ1)  
赤線、Pr マイナス Pfr (pea phyA)

中でねじ曲げられて、平面構造をとれなくなっている可能性が考えられる。

オート麦のフィトクロムについて、Pr から Pfr への光変換の低温吸収スペクトル解析から以下のようなスキームが提唱されており、時間分解吸収スペクトルの解析でも同様の反応経路が示されている。

オート麦フィトクロムの光反応 (*Z. Naturforsch.*, 1985, 40c, 109-114)



本研究では、PixJ1 の Pb 型から Pg 型の光反応過程を明らかにするために、PixJ1 の低温紫外／可視吸収スペクトルを測定した。

Pb 型の PixJ1 に 77K で青色光 ( $\lambda_{\text{max}} = 400\text{ nm}$ ) を照射したのち、298 K まで昇温しながら段階的に吸収スペクトルを測定し、照射前後の各温度における吸収差スペクトルを調べた (図 3)。その結果、77 - 150 K では 405 nm に肩を持ち 440 nm に極大を持つ大きな負のピークと、465 nm 付近の小さな正のピークが観測された。昇温するに従い、405 nm の肩は減少し、465 nm のピークも減少した。200 K では、散乱のために顕著な変化は検出できなかった。250 K 以上で Pb から Pg への光反応が検出され、275 K でほぼ反応が完了していることが分かった。

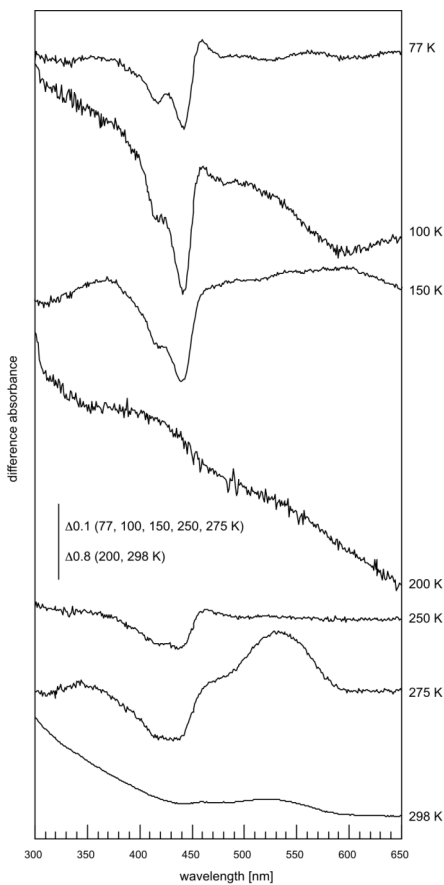


図 3 低温吸収差スペクトル

以上の結果をフィトクロムの光反応と比較すると、光照射により生じた PixJ1 の 465 nm のピークは、フィトクロムの lumi-R 中間体に対応すると考えられるが、その反応は 77 K よりも低温で起こっていると考えられる。77 K で Pb 型の PixJ1 は振動構造をもつので (図 1、青破線)、低温吸収差スペクトルに見られる 405 と 440 nm の負のピークは、褪色型中間体 meta-Ra 形成にともなう Pb と meta-Ra の差スペクトルを表していると考えられる。Pb から lumi-R 様および meta-Ra 様中間体の形成は、オート麦フィトクロムよりも低い温度で起こる点がい異なるが、meta-Ra 様中間体から Pg 型への変換は、フィトクロムとほぼ同じ温度領域で起こることが分かった。以上の結果と低温蛍光の結果などをもとに、PixJ1 に結合するフィトクロモビリンの結合様式と光反応について議論する。