

2Cp-6

シネココッカス系II酸素発生標品に結合している
 Ca^{2+} の役割

菓子野康浩, 佐藤和彦, 加藤栄(東大・教養・基礎科)

Caが光合成の酸素発生反応において重要な働きをしていることは、(1)いくつかの系で酸素発生反応の光活性化に Ca^{2+} が必要であること、(2)NaClで処理した酸素発生系II標品の酸素発生活性が Ca^{2+} で促進されること、(3) Ca^{2+} 欠乏条件下で生育したラン色細菌に Ca^{2+} を加えると酸素発生が回復することなどから示唆されている。しかし、これらの実験では酸素発生系に結合しているCaの量はほとんど測定されておらず、単に酸素発生活性の消長のみから Ca^{2+} の役割が推定されているに過ぎない。酸素発生反応に Ca^{2+} が不可欠の因子であることを証明するためには、より定量的な実験が必要である。我々は昨年の本大会において、金属イオンキレート樹脂キレックス100を用いると簡単にしかも精度よく生体試料に結合したCaを定量できることを報告した。そして、この方法を用い、ラン色細菌シネココッカスから得られた酸素発生標品には強く結合したCaが系II反応中心当たり1原子存在していることを見出した。

今回は、この結合型Caが系II電子伝達反応に関与しているか否かを検討する目的で実験を行った。まず、シネココッカスの酸素発生系II標品を1M NaClで処理したが、Caは全く遊離されなかった。酸素発生活性は失活したが、 Ca^{2+} での回復は認められなかった。この失活は主として表在性の35kDa蛋白質の溶出によるものと考えられる。全く同様な結果は1M MgCl_2 による処理でも得られた。1M トリス(pH 8.0)による処理でCaは部分的に失われたが、このとき失活した活性は Ca^{2+} の添加で回復しなかった。

つぎに、pH 7.5で0.1M シュクロースを含む溶液中でキレックス処理を行うと、反応中心当たりのCa量は時間とともに減少し、酸素発生活性も低下した。しかし、この処理によってMnも遊離することが見出され、失活の主な原因はMn含量の低下にあることが推定された。

先に佐藤らは、本標品を低張圧、弱アルカリ性でEDTA処理をするとMn含量が低下し、同時に酸素発生が失活するが、 Mn^{2+} と Ca^{2+} を添加すると部分的に回復することを報告している。しかし、Ca含量が低下するか否かは調べられていなかった。EDTA処理によるCa含量の変化を調べ、実際にその含量が著しく低下していることを確かめた。さらに、フェリシアニ化カリウムの代りにジクロロベンゾキノン電子受容体として用いると、 Mn^{2+} と Ca^{2+} の添加による活性の回復が大きくなることを見出した。また、DCMU存在での蛍光の誘導期現象はEDTA処理により著しく抑えられるが、 Mn^{2+} と Ca^{2+} により程度の差はあるが回復することがわかった。そして、Caが系IIの水側のどの部位で作用しているかを調べるために、遅延蛍光に対するEDTA処理および Ca^{2+} と Mn^{2+} の添加効果を調べた。EDTA処理により遅延蛍光の強度は数倍に増加するが、 Mn^{2+} と Ca^{2+} はそれを減少させる働きがあり、しかも、異なる発光成分に特異的に作用する傾向が認められた。これは、系IIの電子伝達系に対する Ca^{2+} の効果が特異的であり、Mnのそれとは異なり、異なることを強く示唆する。