

2Cp-9

光化学系IIにおける過酸化水素の光酸化反応に必要なマンガン。

井上 弘・和田利美・赤堀 洋(富山大・理・生物)

光化学反応系IIにおいて、過酸化水素が良い人工的電子供与体となることが知られている。この過酸化水素の光酸化反応については、最近、Velthuys, Nakatani, Baussac ら, Manoら等によって種々の観点から研究がなされている。我々は、先に表在性蛋白やMnを持たない系II反応中心複合体を用いて、過酸化水素存在下におけるDCIP光還元反応活性の促進に参与するMn結合部位は2つあり、その1つは水の光分解に必要な本来のMn結合部位であることを示した。一方、Baussac ら(1986)は、過酸化水素の光酸化には内部のMnは関与しなくて、外部からのMn添加が必要でありその K_m は $1.3\mu\text{M}$ であると報告した。そこで、今回我々も、系II粒子を用いて、種々のMn含量を持つ酸素発生を阻害された標品を作り、過酸化水素の光酸化反応におけるMnの役割を調べた。結果は反応中心複合体で得られた結論を支持している。

系II粒子はKuwabara & Murata(1982)の方法により、ハウレンソウから調製した酸素発生を阻害するために、系II粒子を 1M Tris(pH8.5), 1M CaCl_2 (pH6.5), や 3mM NH_2OH (pH6.5)を用いて処理し、場合によっては、それらから更にMnを遊離させるために、 1mM EDTA, 3mM NH_2OH , や 3mM 過酸化水素で処理を重ねた。電子伝達活性として過酸化水素を電子供与体とするDCIP光還元反応活性(反応液を混合後30秒以内に光照射開始)を測定した。このDCIP光還元反応におけるMnの促進効果を表現する為にBaussac らと同様に、Mn濃度に対する見掛けの K_m 値を用いた。

Mnを多く残している CaCl_2 処理や NH_2OH 処理標品では、外部からMnを加えなくても相当量の活性が認められる。これらの標品に更に MnCl_2 を添加すると、その濃度に依存して、活性は更に増大した。この関係を逆数プロットすると1本の直線になり、 K_m はおおよそ $0.5\mu\text{M}$ であった。

殆どのMnが欠落しているTris処理標品では、Mnを与えない時の活性は低いが、外部からMnを添加することにより促進される。この場合の逆数プロットは折れ曲がり2つの K_m を与える。近似的 K_m として $0.36\mu\text{M}$ と $0.033\mu\text{M}$ の値が得られた。

CaCl_2 処理および NH_2OH 処理標品についても、EDTAで再処理すると、Tris処理と同様の2つの K_m 値を示すようになる。

これらのことから、系II粒子においても、先に系II反応中心複合体で見られたのと同様に、Mnの結合部位は2つあると言える。また、その結合定数も近い値が推定される。(系II反応中心複合体の場合は $1.5 \times 10^7 \text{M}^{-1}$, と $1 \times 10^6 \text{M}^{-1}$)。

一方、 CaCl_2 処理標品を過酸化水素を含む反応液で15分間処理すると、殆どのMnが遊離する。この標品と、Tris処理後やはり過酸化水素で再処理した標品は、いずれもMn含量は少ないにも拘らず、ともに逆数プロットは1本の直線を示し、 K_m は $0.3 \sim 0.4\mu\text{M}$ であった。

これらの結果は、Mnとの高い親和性を持つ結合部位は過酸化水素によってMn結合能を失うか、親和性を低下させられることを示している。Intactな膜では、過酸化水素が生成しても、表在性蛋白が存在しているので、Mnの遊離は生じない。