

3Ba-3

Euglena gracilis の RuBisCO の CO_2 及び Mg^{2+} による活性化とその光合成における意味

・ 原田 淳、横田明穂、北岡正三郎（大阪府大、農化）

Ribulose-1,5-bisphosphate Carboxylase/oxygenase (RuBisCO) が CO_2 と Mg^{2+} によって活性化されることは、すでに種々の光合成生物から精製されたすべての RuBisCO において報告されている。また高等植物のクロロプラストを用いた系では、この CO_2 と Mg^{2+} による活性化は CO_2 濃度に依存し、低 CO_2 濃度域では CO_2 の枯渇に伴い RuBisCO は不活性化することが報告されている。しかしながら、緑藻および Euglena のような真核単細胞光合成生物において、このような CO_2 および Mg^{2+} による RuBisCO の活性調節についての詳細な報告はない。今回我々は、Euglena gracilis の RuBisCO の CO_2 及び Mg^{2+} による活性化について精製 RuBisCO を用いて検討したので報告する。

精製した Euglena RuBisCO を 12 mM NaHCO_3 および 20 mM MgCl_2 を含む 100 mM HEPES-KOH 緩衝液 (pH 8.0) 中で十分に活性化させた後、密閉した 20 mM MgCl_2 を含む CO_2 -free にした 100 mM HEPES-KOH 緩衝液 (pH 8.0) の反応系に添加し、 CO_2 希釈による RuBisCO の不活性化の経時変化を種々の CO_2 濃度において測定した。その結果、Euglena RuBisCO の不活性化率 50 % を示す値つまり活性化の CO_2 に対する K_m 値 (K_a 値) は 12.5 μM となった。同様の方法を用いて大豆、トウモロコシ、Scenedesmus の RuBisCO において K_a 値を検討したところ、 K_a 値はそれぞれ 5.9, 11.8, 23.3 μM となった。これらの結果より、 K_a 値は活性の CO_2 に対する K_m 値同様に光合成生物の進化に伴い低くなると考えられる。また、Euglena RuBisCO の K_a 値は Scenedesmus の酵素の約 1/2 であり、このことは Scenedesmus が CO_2 濃縮機構を有する生物であるのに対し、Euglena ではこの機構が見いだされないことと関係があるのかもしれない。

次に昨年の本年会で発表した Euglena RuBisCO の性質及びここで決定した K_a 値を用いて、Euglena 細胞内での RuBisCO の炭素固定活性を計算してみると、その計算値は特に低濃度の CO_2 存在下では Euglena 細胞の光合成活性を大きく下まわった。このことは、本実験において精製酵素を使って決めた K_a 値は *in situ* の RuBisCO の活性を反映していないことを示している。そこでこの計算において、 K_a 値に 0.1 μM という値を代入すると計算値と実際の光合成活性は一致した。以上の結果は Euglena RuBisCO は細胞内では光照射中には *in vitro* の測定での場合と異なり容易には失活しないことを示している。そこで、光照射時に Euglena RuBisCO の活性化を安定化している要因について調べる為に、種々の metabolite 及び cofactor の活性化 RuBisCO への影響について検討した。この結果、Fru-1,6- P_2 , 6-PG, PGA, NADP^+ , NADPH , P_i は RuBisCO の CO_2 の希釈による不活性化を抑制した。また、Fru-1,6- P_2 , 6-PG, PGA, P_i は RuBisCO の Carboxylase 活性に顕著な阻害を示したが、 NADP^+ 及び NADPH ではそのような阻害は見られなかった。このような NADP^+ , NADPH の RuBisCO への作用については現在検討中である。