

G-8

 Cu^{2+} による光化学系II酸素発生活性の失活

○ 真野純一, 浅田浩二 (京大・食研)

Cu^{2+} イオンは光合成電子伝達系を阻害することが知られている。ホウレンソウチラコイド膜では、 Cu^{2+} の共存により Mn の結合状態が変化し、ESR で Mn^{2+} -aq のシグナルが観測されるようになる(岡田と浅田, 1985年本学会年会)。しかし、この Mn の状態変化と PSII 反応の失活との関係および失活の機構については不明な点が残っている。今回我々は、コムギ葉から Triton X-100 処理によって調製した PSII 膜を用いて、 Cu^{2+} による PSII 反応の失活の様式を調べた。

(方法) PSII 膜を CuCl_2 を含む 20mM Hepes-NaOH, pH 6.8 に、暗所、25°C で懸濁した。一定時間後 EDTA を 1mM になるように加え、直後に遠心分離して得た沈殿について、PSII 活性、Mn 含量、Cu 含量を測定した。

(結果) 0.3mM p-ベンゾキノンと電子受容体として測定した O_2 発生活性は、 CuCl_2 処理時間の増大に伴って減少した。10 μg chl/ml, 50 μM CuCl_2 , 25°C の処理条件では、活性は処理時間約 1.5 分で半減し、5 分で約 4% になった。EDTA を 5mM になるまで添加すると失活の速さはおそくなるが、完全には抑制できない。EDTA 添加後遠心分離するとそれ以上活性は減少せず、この操作で CuCl_2 による失活を効果的に抑えることができた。

DCIP 光還元活性も、 O_2 発生活性と同様の失活を示したが、ジフェニルカルバジドを電子供与体とした時の活性は CuCl_2 処理によって減少せず、 O_2 発生系が特異的に失活していることがわかった。

CuCl_2 による失活の速さは、処理時の $\text{Cu}^{2+}/\text{Chl}$ 比が大きいほど速く、25°C で 50% 失活に要する時間 ($t_{1/2}$) は、 $\text{Cu}^{2+}/\text{Chl} = 0.14$ (mol/mol) のとき 11 分、0.56 (mol/mol) のとき 0.8 分であった。100% 失活した時の PSII 膜への Cu の結合量は Chl 200 分子あたり約 0.5 原子であった。失活の速さは処理温度にも依存し、0°C では 25°C のときより 5~8 倍おそくなった。

失活の進行に伴って、PSII 膜に含まれる Mn の量は直線的に減少したが、100% 失活した点で、もとの約 30% の Mn (~1 atom/200 chl) は膜に結合したままであった。 CuCl_2 処理の際、10 μM MnCl_2 を共存させたが、失活の速さ、程度には影響がなかった。一方、3 種の PSII 表在性たんぱく質 (33 kDa, 24 kDa, 18 kDa) はいずれも、100% 失活した時点で遊離していった。これら Mn, たんぱく質の遊離の様式は ZnCl_2 による O_2 発生反応の失活の様式 (Miller, FEBS Lett. 189, 355 (1985)) とは異なっている。

以上のように CuCl_2 処理は PSII 表在性たんぱく質を遊離させないで結合している Mn の状態のみを変化させ、 O_2 発生系を阻害しているように思われる。この不活性化機構が、あるたんぱく質に配位した Cu^{2+} が引き起こすコンフォメーション変化か、 Cu^{2+} に触媒されるたんぱく質の自動酸化によるものであるかは現在検討中である。