

## G-11

チラコイド膜における $O_2$ 関与の電子伝達反応- 光化学系 I での $O_2$ の生成と減衰 -

○白石 卓夫, 高橋 正昭, 浅田 浩二 (京大, 食研)

葉緑体チラコイド膜において、光化学系 I の電子受容体の自動酸化に伴い $O_2$ が 1 電子還元され $O_2^-$ が生成する。生成した $O_2^-$ はストロマに拡散すれば不均化反応によって $H_2O_2$ を生じる。これら、活性酸素を生ずる $O_2^-$ への電子伝達は通常はみかけ上低い効率に抑えられ葉緑体は保護されている。しかし、前年会において報告したように $O_2^-$ の 245 nm の吸収変化からみると閃光照射により光化学系 I 反応中心当たり 1 分子 $O_2^-$ が生成することが明らかとなった。生成した $O_2^-$ は水溶液中の不均化反応の速度定数から計算されるより速く減衰するので、 $O_2^-$ はストロマに拡散、不均化されるよりも速く他の反応（おそらく酸化反応）で消滅すると推察した。今回は、Cyt c の還元反応によってチラコイド膜で生成する $O_2^-$ をふくむ電子伝達の可能性について検討した結果を報告する。

Cyt c のチラコイド膜による光還元は、嫌気条件下で阻害される $O_2^-$ を経由する反応である。しかし、 $O_2^-$ の scavenger である Superoxide Dismutase (SOD) によるこの反応の阻害率は、 $1 \mu M$  CuZn-SOD を用いても 10-20% であった。この原因として、Lys 残基を多く含み正の表面電化を持つ Cyt c と膜の静電的相互作用が考えられる。これを検討するため、Cyt c の光還元に対する SOD 阻害のイオン強度依存性と、Lys 残基を 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene によって化学修飾し正の表面電荷を減少させた Cyt c の効果を調べた。

NaCl 濃度を 500 mM まで上げイオン強度を高くして Cyt c と膜の静電的相互作用を少なくしても、Cyt c 光還元の SOD 阻害率は 20% 以下であった。また、2,4-Dinitrophenyl Cyt c は、Xanthine-Xanthine oxidase 系で生成した $O_2^-$ との反応性は native Cyt c に比べて低いにもかかわらず、チラコイド膜による Cyt c 光還元速度は速くなり、この反応でも SOD による顕著な阻害は見られなかった。これらのことより、チラコイド膜内で生成した $O_2^-$ による Cyt c の還元反応に対する SOD の阻害効果が低い原因は、Cyt c が膜と強く相互作用するためではなく、膜中で生成した $O_2^-$ から膜表面の Cyt c への電子伝達反応が何らかの電子伝達物質を経由するためであることが明らかになった。チラコイド膜において Cyt c と酸化還元反応をする成分として Cyt c Reducing Substance (CRS) が知られているが、膜中で生成した $O_2^-$ を酸化する物質として CRS の関与も考えられる。

$O_2^-$ は光化学系 I で $O_2$ が還元され生成するがほとんど膜外まで拡散することなく膜内で酸化され $O_2$ に戻ると思われる。Cyt c の光還元速度は比較的低い光強度で飽和するが、同程度の光強度では $O_2^-$ の流出（Cyt c がいない時に見られる $O_2$ 吸収速度、 $H_2O_2$ 生成速度）は飽和せず、また、その速度は Cyt c の光還元速度に比べて低かった。この結果は、光強度を増すにつれ光化学系 I を回るサイクリックな電子伝達反応は促進され、この時 $O_2^-$ 生成量も膜内で増加し一種の電子プールとして働くことを示唆している。