

12 光合成細菌の光リ・酸化反応を担う顆粒の微細構造と機能.

堀尾武一・山下仁平 (阪大・蛋白研) 小田琢三 (岡山大・医・病理)

紅色光合成細菌、*Rhodospirillum rubrum* は好氣的条件、嫌氣的条件、いづれの場合においても生育することができ、特に嫌氣的で光の照射下の条件ではその生育がいちじるしい。この生育のためのエネルギーは光のエネルギーを利用したリ・酸化反応によつてえられている。動物のミトコンドリアにおいて確立されたリ・酸化反応の現象は Arnon らによつて緑色高等植物の葉緑体でも起りうることを示され、この場合の光に依存したリ・酸化反応を光リ・酸化反応と名付けられた。さらに、この光リ・酸化反応にも NADP の光還元と酸素の放出をもつたような光リ・酸化反応と、それとは別にそれをもつたない光リ・酸化反応のあることを認め、それぞれ non-cyclic photophosphorylation, cyclic photophosphorylation と名付けられた。

一オ、光合成細菌 *R. rubrum* においても同様な光リ・酸化反応の起ることが同じ頃 Frenkel らによつて証明された。

光合成生物に特異的に存在する色素物質 Chlorophyll は光合成研究の面でも古くからいろいろと研究され、Chlorophyll を含む粒子をえることは緑色植物では葉緑体をえることによつて満足され、この様なことが光リ・酸化反応、あるいは光合成の研究に大きく貢献した。一オ、光合成細菌 *R. rubrum* においても French が菌体を音波処理してえられた無細胞抽出液より色素を含む水溶性蛋白質をえ、これが光合成は行われないが、アスコルビン酸の光酸化能を併つてことを認め、さらにこの物に含まれる色素の吸収が生菌のそれと類似することから French はこの水溶性蛋白質を Photophytin と名付け光合成系が水溶性物質としてえられたと考えた。しかしながら、Schachman, Pardee, Stanier らは French がえた様な無細胞抽出液を遠心分離することによ

り色素物質が分離されることを認めた。えられた粒子は 190 S の沈降定数を併し、その吸収が生菌のそれと全く類似することから *R. rubrum* に含まれる Bacteriochlorophyll, Carotenoid の色素系を全て含むものと考えられた。この様な粒子を電子顕微鏡で観察すれば約 1100 Å の直径を併し、その形状がおおよそ様であること、この粒子が光を照射して生育させた菌にのみに見られ、無照射下条件では見られない事などからこの粒子が光合成細菌において、緑色植物の葉緑体に相当するものであらうと考え、これを Chromatophore と名付けた。この様な粒子は他の光合成細菌 *Rhodopseudomonas spheroides*, *Chromatium* 等にも見られた。しかしながら Chromatophore の存在は光合成細菌にかかわらず認められず、又その形状も異なる。この Chromatophore は前述の様な Frenkel の見出した光リ・酸化反応能力を併しているという酵素化学的性質によつておおいに注目されるようになった。この様に光合成細菌の光リ・酸化反応の研究に非常におおきき武器となつたのに加かわらず Chromatophore の存在は研究者によつて意見の相違 反々、この粒子そのものが実際に存在せず細胞を破壊した時に得られる artifact 的に作り出された粒子であるとする見方、がある。しかしこの様な存在の有無も生育時の光の強度等の様な培養条件によつて大きく左右されるというのが知られている。図-1 に示される様に光照射下嫌氣的条件下で生育させた *R. rubrum* の無細胞抽出物を遠心分離するといわゆる Bacteriochlorophyll の吸収を併つ粒子分離がえられその電子顕微鏡的観察は明らかに一樣な形状を有する粒子であり、その直径は平均 600 程度と計算される。一オこの様に生育させた菌を観察すると、今えられた様な直径を併つ粒子の

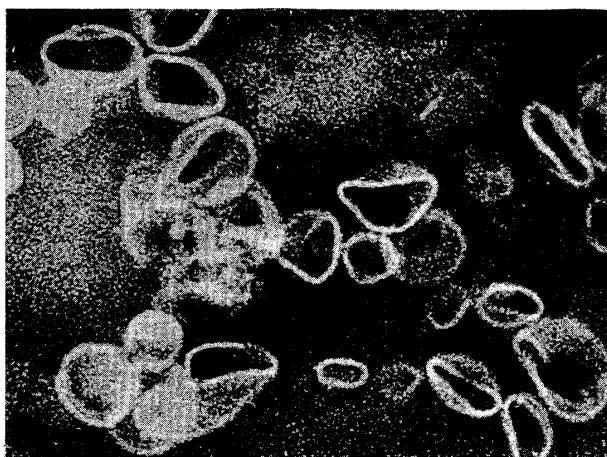


図-1. Chromatophoreの顕微鏡写真 ($\times 215,000$) の存在が認められた。すなわち、今まで Chromatophoreと呼ばれて来た粒子はかならずしも細胞を破壊する時に得られたものでないと考えられる。この様な粒子が動物のミトコンドリア、あるいは葉緑体の場合の様にリン酸化反応を行いうる最少単位であるか否かは未だ疑問の奥が多く残されている。

この様にしてえられた Chromatophoreが光リン酸化反応能を有することは古くから Frenkelらの研究以来広く認められている。この粒子はいわゆる primary photochemical apparatus としての Bacteriochlorophyll, Carotenoid系の他に Vernon, Kamen 等の研究によつて知られた様に、いくつかの heme 化合物 (cytochrome c_2 , RHP, etc.) を持ち、さらにミトコンドリアでくわしく調べられた電子伝達系の要素の多くが存在することが知られて来た。ミトコンドリアの酸化剤リン酸化反応が基質から酸素への電子の流れによつて生じたポテンシャルエネルギーを ATP の末端リン酸結合エネルギーへの変化と考えられていることから、光リン酸化反応も又、Chromatophore の組成分の事など考え合せて何らかの形で生じた電子の移動によるエネルギー転換と考えられる。

Chromatophoreにおける電子の流れは光リン酸化反応中に酸素の放出が見られない事から、先に Arnon らが提唱した cyclic photophosphorylation の

様な電子の流れであると考えられる。Bacteriochlorophyllの光の吸収による励起によつて電子の放出が起り、その電子は電子伝達系の中を流れて再びもとの Bacteriochlorophyll に戻る。この電子伝達に共やくする光リン酸化反応は少なくとも電子の移動だけに依存すると考えられるが、Kamen, Gellerらによつて知られた様に還元性物質の存在によつていじめるしい促進が見られることはこれが単なる電子の移動によるとは説明出来ない。

図-2に見られる様に Chromatophoreの光リン酸化反応は適量のアスコルビン酸を加える事により極大量に達し、更にその濃度を増加すればかえつて減少する。Horio, Kamen によつて *R. rubrum* に NADH を基質とし Cyt. c_2 , RHP を還元しうる含フラビン酵素蛋白がえられた。光リン酸化反応が Atebrin dihydrochloride でいじめるしい阻害を受けること、NADH-cyt. c_2 還元酵素が同様な阻害を受けること、又図-2に見られた光リン酸化反応の極大が Chromatophoreの酸化還元電位を零ボルト附近にさせるアスコルビン酸量の時であることを考えると Chromatophoreの光リン酸化反応がその中に含まれる電子伝達系と共やくしうる場所は一応フラビンと考えられ

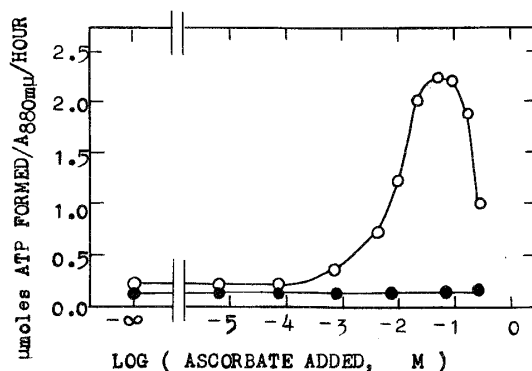


図-2. Effect of ascorbate on photophosphorylation

と同時に先に述べられた様にアスコルビン酸が単なる電子の供給物だけでなく光リン酸化反応系の酸化還元電位をも規制している事が考えられる。

ミトコンドリアの酸化剤リン酸化反応機構の研究に Lehningerらによつて重要視された ATP-ADP 交換

反応、ATP-Pi 交換反応、ATP-ase 等のリン酸化反応に關係すると考えられ、部分反応の研究は有益な方法として用いられて来たが、従来、Chromatophore においてはこれらの部分反応の欠陥が報告されて来た。しかしながら ATP-ADP 交換反応、ATP-Pi 交換反応、ATP-ase 活性はいづれも Chromatophore によって起される。又、これらの反応に対する光の効果は光リン酸化反応において見られると同じ様な反応促進がみられた。他にもいろいろの事で光リン酸化反応と類似の行動を繰り返している。これらの事実は少くともミトコンドリアの酸化的リン酸化反応の機構と類似のものがあると考えたい。

Chromatophore における光リン酸化反応は前述の様に一応 Bacteriochlorophyll の光励起による電子の放出、電子の移動によるポテンシアルエネルギーの変化、エネルギーのリン酸化反応と分けられるが、これらの反応機構の相互関係は更に、今見られた Chromatophore の構造上、機能上の破壊によつて知ることが出来る。葉緑体において見られる様な内部構造の詳細は Chromatophore においては見出されていないが grana, stroma の如きものは認められなくても lamina 構造は Rhodospirillum rubrum, Rhodospirillum rubrum molischianum において見出された例もある。Chromatophore の構造は外見上、一様と見られるがその粒子の分布は調製時一様でなくあるバラツキが見られる。表-1に見られる様にいろいろの遠心力によつて集められた粒子の光リン酸化反応活性は 600 R 程度の粒子の時最大となるが、phenazine methosulphate (PMS) の様な電子伝達系の媒体として有効な色素を用いればその活性は増大し、しかもアスコルビン酸を用いた場合に比べれば比率も増大する。すなわち構造上の大きな相違よりも機能上に大きな相違があると考えられる。

一、電子伝達系に關する部分反応は直接、あるいはそれに伴う光リン酸化反応活性によつても

FRACTION	Photophosphorylation activity (μ moles ATP FORMED/ A_{680} mL/HOUR)	
	+ Ascorbate	+ PMS
27,700 x G ppt.	0.33	1.05
45,800 x G ppt.	0.41	1.35
68,400 x G ppt.	0.41	1.75
95,500 x G ppt.	0.34	1.44
144,700 x G ppt.	0.21	1.01
144,700 x G sup.	0.00	0.03

表-1. Photosynthetic activity of different fraction of chromatophores

知りえる。すでに今まで多種多様のこの反応に対する阻害剤が知られて来たが、非イオン活性剤 Triton X-100 (iso-octylphenylpolyethoxyalcohol) を用いれば Chromatophore の光リン酸化反応は非常に特異的な様相を示す様になる。前述の様に光リン酸化反応は適量の還元性物質、たとえばアスコルビン酸等を加えれば活性が増大するが、今、四

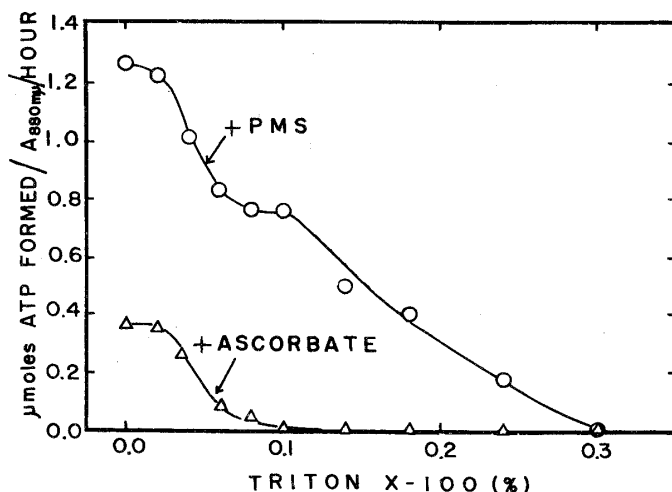


図-3. Effect of treatment of chromatophores with Triton X-100 on photophosphorylation

の様にアスコルビン酸による光リン酸化反応と、PMS による光リン酸化反応とを比較するとその失活の程度が非常に異なってくる。この様な2段階の阻害は PMS による電子伝達系とアスコルビン酸によるそれとがその一部分を除いて本質的に

ほんら変らなれものとするれば、アスコルビン酸による光リン酸化反応で想定した様に光リン酸化反応の共やく部の中で PMS によって少くとも Triton less resistant と Triton more resistant なリン酸化反応が引起されたと考えざるをえない。

PMS の作用が昇る酸化還元物質で電子伝達系の仲介者としてのみの作用があると考えられていることから Chromatophore の電子伝達系の中に上の様なりと酸化反応が共やくしていると考えられる。

French によって見出された Photophytin のアスコルビン酸酸化能は Vernon, Kamen らによつて Chromatophore 中に存在する cytochrome photooxidase として認められ、さらにすくなくとも Bacteriochlorophyll によるものと認められている。Chromatophore による cytochrome c の光酸化は ADP, P_i の共存によつていじむしい促進をうける。この様な促進はこの光酸化反応中においてリン酸化反応が関係し得ると考えられる。(図-4)

以上の事実は *R. rubrum* の chromatophore のおこなう光リン酸化反応が Bacteriochlorophyll, Carotenoid 系、電子伝達系に共やくする次の図-5 の如きものと考えさせる。

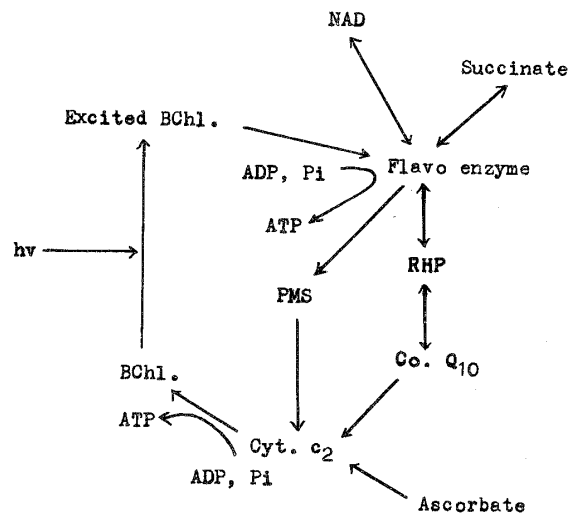


図-5. Photophosphorylation system in chromatophores of *R. rubrum*

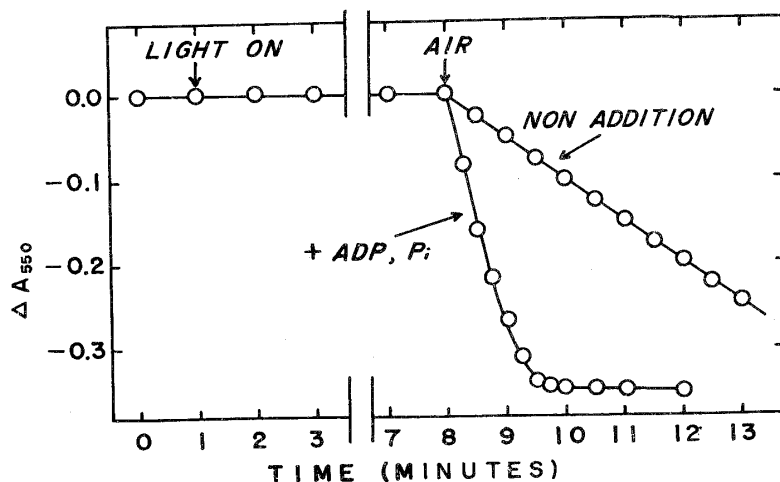


図-4. Photooxidation of cytochrome c_2 with chromatophore of *R. rubrum*