

2Ep01

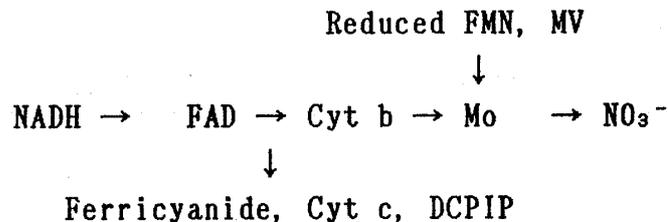
緑藻オオハネモ単離ピレノイドの硝酸還元酵素について

岡部康之・岡田光正（東邦大・理・生物）

ピレノイドは、真核藻類やツノゴケの葉緑体に存在する、おもにタンパク質からなる粒子である。その中では RuBPカルボキシラーゼが大部分を占めていることが分かっている。近年 Lopez-Ruizら^{1,2)}は、免疫組織化学的方法により、緑藻のピレノイドに硝酸還元酵素（NR）が存在することを示した。しかし、ピレノイドは従来炭酸固定とデンプン合成に関係していると考えられており、NRについてはもっとよく検討する必要がある。そこで、最近我々が単離することに成功した RuBPカルボキシラーゼ活性を持つピレノイド³⁾を用いて、NRが存在するかどうかを更に詳しく検討することを目的とした。

ピレノイドは次のようにして単離した。オオハネモ葉緑体を 1.8 M リン酸緩衝液（PB）中に懸濁し、等容のエーテルを加えて激しく攪拌した。遠心後、生じたペレットを PB に再懸濁し、1.2 M ショ糖を含む PB 上に重層して遠心した。界面に集まったピレノイドを 0-1.2 M のショ糖密度勾配を含む PB 上に載せて遠心後、バンドとして集まったピレノイドを集めた。それを PB に対して透析して液の密度を下げた後に遠心して集め、活性測定用の溶液を加えてピレノイドを溶かしたものについて活性測定を行なった。

NR は、NADH を電子供与体とする NO_3^- の還元活性のほかに、NADH によるフェリシアナイド、チトクローム c や DCPIP の還元活性（ジアフォラーゼ活性）と還元型 FMN やメチルビオロゲンによる NO_3^- の還元活性（終末 NR 活性）を持つ。



これらの活性のうち、より検出できる可能性の高いジアフォラーゼ活性や終末 NR 活性から検討し、その後に NADH-NR 活性をみた。

また、タンパク質としての存在を確かめるために、NR を単離し、ピレノイドに含まれるタンパク質との比較を試みている。

これらの結果より検討した、ピレノイドにおける NR の存在の妥当性について報告する。

1) Lopez-Ruiz, A., Roldan, J. M., Verbelen, J. P. and Diez, J. (1985)

Plant Physiol. 78: 614-618.

2) Lopez-Ruiz, A., Verbelen, J. P., Roldan, J. M. and Diez, J. (1985)

Plant Physiol. 79, 1006-1010.

3) Okabe, Y. and Okada, M. (1988) Plant Cell Physiol. 29(1), in press.