

IA-8

阻害処理方法の異なる葉緑体の酸素発生反応の光再活性化の比較研究

○山下 魏, 富田 義一 (九大・農・農林生物物理)

トリス-アセトンで処理して阻害した葉緑体は, さらに還元型のDPIPで洗い, 次K Mn^{2+} , Ca^{2+} , DTT, BSAを加えた反応液中に懸濁させて300ルクスの白色蛍光燈光を20分作用させると再活性化されて, ヒル反応による酸素発生が見られるようになる。ところで, トリスだけで処理した葉緑体の酸素発生反応の再活性化のためには, Mn^{2+} , Ca^{2+} , DTTや光照射による前処理を必要とせず, 還元型DPIP処理と反応液中に直接BSAを加えておくだけで著しい効果が見られた。そこでさらに, 熱処理, $NaClO_4$ 処理, NH_2OH 処理, KCl処理など今まで酸素発生反応の特異的阻害方法として使われていた方法で処理した葉緑体に, 我々の開発した光再活性化の方法を応用してみたところ, 下に示すような結果が得られた。これらの結果から, 酸素発生反応の再活性化には, 1)還元型DPIPで活性化される加熱で不可逆的に変性する部分, 2)BSAで保護されるような生体膜構成成分らしい部分, 3) Mn^{2+} , Ca^{2+} , PO_4 の作用で光活性化される部分に関与しているものと予想される。

表-1, 阻害方法の異なる葉緑体の酸素発生 図-1, 再活性化方法の模式図

Chloroplast treatment	$\mu\text{moles } O_2 \text{ evolved}$ mg Chl. · hour		Inhibition		Reactivation	
	Cont.	Light-react.				
Intact	110	—	Tris-wash.	DPIP-treat	+BSA	+h ν
Tris-acetone-wash.	3	12	KCl-wash.			
(Tris-acetone-wash.)-DPIP-treat.	9	60				
Heat(50°C, 3min in STN)-treat.	3	33				
(Heat)-DPIP-treat.	9	36	NH_2OH -wash.	DPIP-treat	+DTT	
$NaClO_4$ (0.5M, pH8.3)-wash.	5	12				
($NaClO_4$ -wash.)-DPIP-treat	11	51				
NH_2OH (2mM, in STN)-wash.	9	51	Tris-acetone-wash.	DPIP-treat	+(Mn^{2+} , Ca^{2+} , PO_4)	
(NH_2OH -wash.)-DPIP-treat.	8	99	$NaClO_4$ -wash.	DPIP-treat		
KCl (0.8M, pH8.3)-wash.	21	83	Heat-treat.			
(KCl-wash.)-DPIP-treat.	89	170				

表-2, 阻害方法の異なる葉緑体の光活性化に必要な要素の検討

Chloroplast treatment	$\mu\text{moles } O_2 \text{ evolved}$ mg Chl. · hour							
	Dark		Light					
	None, Complete		Complete, - Mn^{2+} , - Ca^{2+} , -DTT, -BSA, - PO_4 .					
(Heat)-DPIP-treat.	12	35	45	31	35	45	21	47
($NaClO_4$ -wash.)-DPIP-treat.	6	25	108	26	23	23	12	20
(NH_2OH -wash.)-DPIP-treat.	9	30	137	127	127	41	78	156
(KCl-wash.)-DPIP-treat.	26	138	182	143	108	131	35	122