

2A-4

R. rubrum の精製酵素(NTP-NDPキナーゼ)のpH遷移によるATP合成

奥達雄(九大農), 細井和雄, 徐吉夫, 角野富三郎, 堀屋武一(阪大・薬研)

光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* のクロマトホアは, 植物のクロロプラストと同様に, 光エネルギーにより, ADPとリン酸からATPを合成することができる。また, 暗条件下でもミトコンドリアと同様に, NADHやコハク酸の酸化エネルギーを利用してATPを合成することもできる。クロマトホアにおけるATP合成活性は, 超音波処理を30分間行えば完全に失活するが, これに伴って, ATP加水分解活性は失活し, それと同時に, 不活性型NTP-NDPキナーゼ(ヌクレオシド3リン酸:ヌクレオシド2リン酸 ホスホトランスフェラーゼ)がクロマトホアから溶離され, 活性型となる。精製したNTP-NDPキナーゼは, ATPによってリン酸化中間体(E~P)になると考えられ, これらの事実に基づいて, リン酸化NTP-NDPキナーゼが光リン酸化反応の中間体であるという可能性を既に報告した。

今回は, 精製したNTP-NDPキナーゼを用いて, pH遷移させることにより, ATPを合成することを試みた。NTP-NDPキナーゼはpH1においても, 2分間で15%しか失活しないので, この酵素とリン酸を約10秒間pH1~5に保った後に, pH8にすると同時にADPを加えるとATPが, 微量ながら合成された。ATPの合成効率率は, 最初の酸性条件のpHによって変化し, pH3のときに最も良く, pH5では殆んど合成されなかった(TABLE I)。このNTP-NDPキナーゼのpH遷移によるATP合成は, アンカップレーであるDNPなどによって完全に阻害された。

細井らによると, クロマトホアのATP合成反応の部分反応の一つであるATP-P_i交換反応において, DNPを含む多くのpH指示薬とリン酸が互いに拮抗的である。これらのことから, NTP-NDPキナーゼは強酸性から弱アルカリ性に遷移させることにより, プロトナイズされた酵素になり, これが遊離のリン酸と反応してE~Pが生成され, ADPがあればリン酸基を転移させ, ATPが合成される可能性が考えられる。

クロマトホア膜上においても, 電子伝達系成分であるユビキノ-10が, 水からプロトンを取り込み, NTP-NDPキナーゼの周辺のプロトン濃度を高くしている可能性があり, 上述と同様のメカニズムでATPが合成されるのかもしれない。

TABLE I

pH values at acidification step	Amounts of [³² P]P _i incorporated into organic phosphate fraction (mmoles/mole of enzyme)
1	2.4
2	3.9
3	4.2
4	1.0
5	0.3