

## 1A-2

## 葉緑体における過酸化水素分解

○中野善行, 浅田浩二 (京大, 食研)

葉緑体では  $O_2$  が1電子還元され、ついで  $O_2^-$  の superoxide dismutase による不均化反応で  $H_2O_2$  を生成する(Mehler反応)。この  $H_2O_2$  は  $H_2O_2 + O_2^- + H^+ \rightleftharpoons HO\cdot + H_2O + O_2$  のような反応によって反応性の高い、 $HO\cdot$ 、 $O_2^-$  を生じるために、酸素毒性をもたらす要因となる。古くから生体内の  $H_2O_2$  分解には、カタラーゼが寄与していると考えられて来た。しかし葉では葉緑体にカタラーゼは存在せずペロキシゾームに分布する。一方 Hirokawa らは azide insensitive な  $H_2O_2$  分解系の存在を示唆している。そこで我々は、葉緑体で生成される  $H_2O_2$  の分解機構の解明を実験目的として、以下の研究を行なった。

- ① 葉緑体は Jensen, Bassham の方法により、ホウレン草葉より調製した。
- ②  $H_2O_2$  は peroxidase-homovanillic acid を用いて蛍光法により定量した。
- ③ 反応混液は 50mM K-P (pH 7.8), 0.3M mannitol,  $2 \times 10^{-4}M$  azide, 10 $\mu$ M peroxidase, 0.5mM homovanillic acid, intact chloroplast または chloroplast lamellae を含み、total volume は 2ml とした。④ 光源はタンクステンランプを用い、650nm 以上の赤色光を照射した。

図-1に示すように、葉緑体 Lamellae では、光依存性の  $H_2O_2$  生成が見られたが、Intact 葉緑体では  $H_2O_2$  の生成が見られず、光照射 20~30 min の後に初めて非常にゆるやかな  $H_2O_2$  の生成が見られた。Azide によってカタラーゼ活性を抑制しているためこれは葉緑体調製中に混ざったペロキシゾームによるものではない。また dark において、intact 葉緑体を  $H_2O_2$  で滴定すると、最初の一定量 (0.84  $\mu$ moles /  $m^2$  chlorophyll) に対しては蛍光の増加が認められず、その後加えた  $H_2O_2$  に対して蛍光の増加が観察された。同様な反応が葉緑体ストロマでも見られた。

このことは  $H_2O_2$  分解系が、ストロマに存在することを示めている。ストロマに peroxidase-homovanillic acid を加えてから、 $H_2O_2$  を加える場合と、 $H_2O_2$  を加えた後 peroxidase-homovanillic acid を加える場合とで蛍光発現にほとんど変化がないことから、ストロマの  $H_2O_2$  分解の反応速度は  $H_2O_2$ -peroxidase homovanillic acid 系に比べて速いと推定される。一方、分離した葉緑体ストロマをセファロックス G-25 に通すと、低分子の部分にその活性が存在した。この低分子分画を熱処理すると活性を失った。以上の実験結果から、葉緑体に azide insensitive で熱不安定な低分子の関係する  $H_2O_2$  分解機構が存在するものと考えられる。

図-1

