

1B-1

鉄欠乏による酵母菌のNADH酸化能の低下

○ 榑井 秀雄, 日野 精一 (広島大・理・植物)

鉄原子は、生物にとって必須の微量元素で、特に呼吸に関係した酵素や電子伝達系には、鉄蛋白としてしばしば鉄原子が含まれる。そこで、我々は、鉄原子の欠乏した細胞を作ることによって、おそらく呼吸能の低い細胞を得ることができるとありうと考へ、実験を行なってきた。

アルミナ法によって、鉄を除去した培地(鉄欠乏培地)を調製し、そこに酵母菌を生育させると正常な培地での生長に比べ生長量が $\frac{1}{2}$ 程度に低下する。この菌は正常な培地に生育した菌(正常菌)に比べ、鉄含量が著しく低下($\frac{1}{10}$ 以下)しており鉄欠乏菌になっている。

この鉄欠乏菌は、呼吸活性が正常菌の $\frac{1}{20}$ 程度しかなく、また無細胞抽出液についてTCA回路の酵素活性を調べてみると、いくつかの酵素の活性低下が見られる。しかし、それらのうちでアコニターゼ活性の低下が著しいのを除いては、どれも呼吸活性の低下を説明できるほど大きくは低下していない。ところが、NADH酸化酵素活性は鉄欠乏の影響を大きく受けており、ほぼ呼吸活性の低下に見合う程度の低下($\frac{1}{10} \sim \frac{1}{20}$)を示している。このNADH酸化酵素系のうち特に著しいのは、NADH-チトクロムc酸化還元酵素活性であって、正常菌の $\frac{1}{20}$ 程度に低下している。しかし、同じ酵素系でもチトクロムc酸化酵素の活性は $\frac{1}{2}$ 程度ありそれほど低下していない。

次に、NADH酸化酵素活性の細胞内分布について調べてみると、正常菌では無細胞抽出液中に見られる全活性の90%以上が、 $15,000 \times g$, 10分間の遠心分離で落ちるミトコンドリアと思われる画分($15,000 \times g - ppt$)に存在するのに対し、鉄欠乏菌では、もともと低い酵素活性の $\frac{1}{3}$ 以上が $60,000 \times g$ の上清部に現われる。この時、無細胞抽出液中の蛋白が $15,000 \times g - ppt$ に落ちてくる割合は、正常菌の方が鉄欠乏菌に比べ2倍大きい。

今、鉄欠乏酵母菌を鉄塩を加えたブドウ糖を含むリン酸緩衝液中で通気保温するとNADH酸化酵素活性が上昇するが、この場合、 $15,000 \times g - ppt$ に落ちてくる蛋白の割合が増加する。しかも、この蛋白の増量はNADH酸化酵素活性の上昇が妨げられる条件下(例えばシクロヘキシミドの存在下)では抑えられる。

これらの実験結果から、鉄欠乏酵母菌のNADH酸化能の低下はおそらくミトコンドリア構造形成の不完全さと密接に関係しているものと推定される。