

1Bp-11

カボチャ・エテオプラストから単離したプロトクロロフィリドホロクロムの分光学的性質

池内昌彦, 井上頼直*, 村上悟 (東大・教養・生物, *理研・太陽光科学グループ)

エテオプラストの内膜には異なる吸収極大をもつ3種類のプロトクロロフィリドが存在する。そのうち 640 nm と 650 nm に極大をもつものは黄化葉のプロトクロロフィリドの大半を占め, NADPH:プロトクロロフィリド酸化還元酵素と結合したホロクロムとしてエテオプラスト膜に結合していると考えられている¹⁾。この2種類のプロトクロロフィリドはともに光還元をうけてクロロフィリドになるが, 吸収極大の異なる理由については明らかではない。またクロロフィリドの吸収極大は基質 (NADPH とプロトクロロフィリド) の存在で影響を受けることが知られているが, 光還元前のプロトクロロフィリドの吸収型との相関関係は明らかではない。本研究では界面活性剤を用いてプロトクロロフィリドホロクロムを単離し, その吸収スペクトルを可逆的に変化させてこの問題について研究を行った。

カボチャ黄化子葉から NADPH を含む緩衝溶液で単離したエテオプラストの膜画分のプロトクロロフィリドは 650 nm 付近に吸収極大をもつ。これに閃光を照射するとその直後に生成するクロロフィリドの吸収極大は 678 nm にあるが, その後暗所で5分以内に 684 nm にシフトした。一方, トリトン X-100 (6 mM) またはジギトニン (1%) を用いて上記の膜画分からプロトクロロフィリドホロクロムを可溶化すると, 650 nm の吸光度は著しく減少し, 吸収極大は 640 nm 付近にシフトした。この可溶化の前後で 640 nm の吸光度とプロトクロロフィリドの光還元活性はほとんど変化しなかった。閃光照射直後のクロロフィリドの吸収極大は膜画分と同じく 678 nm であるが, その後暗所におくと膜画分で見られた長波長側へのシフトはみられず, 逆に短波長側 (674-5 nm) へのシフトがみられた。なお, 20 mM 以上のトリトン X-100 はプロトクロロフィリド光還元活性の一部を失活させたが, ジギトニンは 4% でも活性は保持されていた。したがって, 活性の高いプロトクロロフィリドホロクロムを単離するにはトリトン X-100 よりもジギトニンがすぐれた界面活性剤といえる。

上記のスペクトル変化の可逆性を調べるために, 可溶化したプロトクロロフィリドホロクロム画分をグリセロール密度勾配遠心法にかけて界面活性剤を除いた。その結果得られた画分のプロトクロロフィリドの吸収極大は 640 nm よりも長波長側に移っており, 650 nm の吸光度も相対的に増加していた。したがって, 界面活性剤の除去によって 650 nm の吸収型が部分的に再形成されたと考えられる。これに閃光を照射すると 678 nm に吸収極大をもつクロロフィリドが生成しその後暗所で 684 nm への長波長シフトがみられた。

以上の結果から, プロトクロロフィリドホロクロムの 650 nm に吸収極大をもつものから 684 nm に吸収極大をもつクロロフィリドが形成されること, これらの吸収型はエテオプラストの膜が可溶化されると消失することが明らかになった。

1) M. Ikeuchi and S. Murakami (1982) Plant & Cell Physiol., 23; 1089-1099.