

3Ea-7

葉緑体カーボニックアンヒドラーゼ合成情報に関する研究(1)

岡部敬一郎^{1,3} 戸栗敏博^{1,2} 木村佳代子^{1,3} 河合康雄¹宮地重遠³ (¹アドバンス医科研 ²麒麟麦酒 ³東大応微研)

C₃植物葉の葉緑体に局在するカーボニックアンヒドラーゼは、 $\text{HCO}_3^- \rightleftharpoons \text{CO}_2 + \text{H}^+$ の平衡化を促進する機能を通じ、葉緑体膜外から炭酸固定反応部位(RuBP carboxylase/oxygenase)へCO₂の移送を促進し、反応基質であるCO₂の供給をHCO₃⁻から迅速に行ない、酵素局在環境におけるCO₂/O₂比をカーボニックアンヒドラーゼが存在しない時よりも高く維持することにより光呼吸基質産生活性であるoxygenase活性を相対的に抑制し、光合成能力を最大限高く維持しようとする役割を果たしている点を我々はすでに報告してきた。(FEBS 114, 142-144, (1980))

一方、C₄植物葉においては葉緑体にはほとんどカーボニックアンヒドラーゼ活性はなく、葉肉細胞の細胞質に局在しており、PEP carboxylaseの基質であるHCO₃⁻のCO₂からの供給に関与していると考えられている。

昨年度本学会年会において、我々はC₃植物のホウレンソウ葉から精製したCAに対するウサギ抗体を調製し、この抗体が高等植物のC₃植物の双子葉植物の葉抽出液中のカーボニックアンヒドラーゼと immuno cross activity をもち、葉抽出液中のその酵素活性をほぼ完全に沈降させることができるが、C₄植物の単子葉あるいは藻類の抽出液とは cross activity を示さず、C₃とC₄植物間にカーボニックアンヒドラーゼとして局在性だけでなく構造的にも差異があることを報告した。

本年度はC₃植物の葉緑体タンパク質としてのカーボニックアンヒドラーゼ生合成メカニズムに関する知見を報告したい。

材料として主として黄化発芽ダイズ³の緑化過程を用いて解析した。黄化ダイズの第一葉にはカーボニックアンヒドラーゼ活性が認められないが、光照射後の緑化過程において、とりわけ7~9時間目で急激な活性増大が認められること、黄化葉でも抗体とcrossし得るペプチドが少量存在するが、活性急増期にペプチド量が増大している、digo dTcelluloseカラムを用いRNA分画からPoly A rich RNA分画をとり、*in vitro*タンパク合成系で³⁵S-メチオニンの取込みを追跡すると抗体に結合するペプチドはすでに黄化葉にも存在するが、量的には活性増大期に増加している。緑化期のPoly A rich RNA 依存性タンパク合成産物を単離無傷葉緑体で処理すると抗体により結合するペプチド種に分子量的に大から小に移行する過程がSDS-ポリアクリルアミドゲル、フルオログラフィーの上で観察された。

これまでの結果を総合すると、葉緑体カーボニックアンヒドラーゼはすでにくわ報告されている葉緑体タンパク(例えばRuBP carboxylase、小サブユニット、Plastocyanin, Ferredoxin-NADP⁺ oxidoreductase, Fructose 1,6-bisphosphatase など)と同様に核支配タンパクであり、poly(A)⁺RNA中にその情報を持ち、細胞質中でペプチド(precursor)が合成され、その後葉緑体に取り込まれ、プロセスされ葉緑体タンパクとして構築されてゆくメカニズムが強く示唆されるのである。

本研究の一部は、GEP-58-II-1-3の助成を受けている。