

Title	光合成細菌 <i>R. rubrum</i> のCa <sup>2+</sup> -ATPaseとポリヌクレオチドホスホリラーゼの精製と性質およびCa <sup>2+</sup> -ATPaseをMg <sup>2+</sup> -ATPaseに変換する因子の精製
Author(s)	徐, 吉夫
Citation	大阪大学, 1980, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/32858">https://hdl.handle.net/11094/32858</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

[20]

氏名・(本籍)	徐 吉 夫
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 5 0 8 6 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	光合成細菌 <i>R. rubrum</i> の $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase とポリヌクレオチドホスホリラーゼの精製と性質および $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase を $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase に変換する因子の精製
論文審査委員	(主査) 教授 堀尾 武一 (副査) 教授 佐藤 了 教授 松原 央 助教授 山下 仁平

### 論 文 内 容 の 要 旨

ポリヌクレオチドホスホリラーゼ(EC2.7.78)を、光合成細菌 *R. rubrum* から均一な状態まで精製した。本酵素は三種の反応 (phosphorolysis 反応, polymerization 反応及び NDP-Pi 交換反応) を触媒した。分子量は約16万であった。二個のサブユニットから成り、サブユニットの分子量は7.6万であった。本酵素はpH5~10で安定であるが、pH5以下では著しく不安定であった。以下、上記の酵素の種々な性質について調べた。

クロマトホアは、光によって駆動される環状電子伝達系およびその電子伝達系に共役したATP合成系(光リン酸化系)をもつ。ATP合成反応の部分反応としてATP-Pi交換活性、ATPase活性をしめす。上記のATPに関与する反応は、クロマトホア膜に存在する共役因子によって触媒される。クロマトホア膜より精製した共役因子は  $\text{Ca}^{2+}$  存在下でのみATPase活性をしめす ( $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase)。けれども膜結合型がしめす  $\text{Mg}^{2+}$ -および  $\text{Mn}^{2+}$ -ATPase活性をしめさない。精製した共役因子が  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase活性から  $\text{Mg}^{2+}$ -および  $\text{Mn}^{2+}$ -ATPase活性をしめすようになる条件を検討した。

#### $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase活性に対するpH指示薬、界面活性剤の効果

本研究において、精製共役因子のATPase活性に対するpH指示薬および界面活性剤の効果について調べた。そして、次のような結果を得た。

- 1) 適当なpH指示薬は精製共役因子の  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase活性を  $\text{Mg}^{2+}$ -および  $\text{Mn}^{2+}$ -ATPase活性に変換する。変換活性の程度は次の順序であった。エチルオレンジ > トロパエオリン000 ≥ メタニルイエロー > トロパエオリン00 > エチルレッド ≥ ブロムチモールブルー。これらのpH指示薬の pKa は1.3か

ら12.0の範囲の値をもっていた。

2) 適当な界面活性剤もpH指示薬と同じように変換活性をしめした。ドデシルスルホン酸ナトリウム( $C_{12}H_{25}SO_3Na$ )が最も効果的であった。精製共役因子の $Mg^{2+}$ -ATPase活性の発現に効果のある界面活性剤は、すべて、臨界ミセル濃度(CMC)より十分低い濃度で効果がある(たとえばSDS 0.2 mM, SDSのCMCは 8.2mM)。

#### 変換因子の単離と精製と化学構造の推定

クロマトホアが、 $Mg^{2+}$ および $Mn^{2+}$ 依存性のATPase活性をしめすという事実から類推すると、共役因子の $Ca^{2+}$ -ATPase活性を $Mg^{2+}$ -および $Mn^{2+}$ -ATPase活性に変換する物質がクロマトホア膜に存在すると思われる。このような理由から、上記の物質(以後、変換因子と呼ぶ)の精製を試みた。

クロマトホアを50%アセトン存在下で、音波処理した後、遠心分離すると、上清中に変換因子が存在することを見出した。シリカゲルカラムクロマトグラフィおよびセファデックスLH-20カラムクロマトグラフィを用いて変換因子を精製した。

精製した変換因子の化学構造を変換因子のIRスペクトル、NMRスペクトルを測定することによって推定した。その結果、変換因子は不飽和脂肪酸であると思われる。薄層クロマトグラフィおよびガスクロマトグラフィの結果から、精製した変換因子はパルミトレン酸(16:1 $\Delta^9$ )であると推定した。

### 論文の審査結果の要旨

徐吉夫君の論文は、光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* のADP代謝に関与する酵素の中の2種すなわち  $Ca^{2+}$ -ATPaseとポリヌクレオチドホスホリラーゼの精製法の確立とそれらの性質の明確化を行ったものである。中でも、 $Ca^{2+}$ -ATPaseは、元来、クロマトホア膜に結合して存在しており、その膜に存在する光合成電子伝達系の酸化還元反応に共役してADPとPiからATPを合成する、いわゆる共役因子として機能している。けれども、この酵素は、膜結合状態では $Mg^{2+}$ の存在下で活性をしめすのに対して、単離された状態では $Ca^{2+}$ の存在下で活性をしめす。本論文では、クロマトホア膜を50%アセトンで処理するとき、 $Ca^{2+}$ -ATPaseが膜から遊離されるとともに、 $Ca^{2+}$ -ATPaseを $Mg^{2+}$ -ATPaseに変換する因子が遊離されることを見出し、この変換因子の精製を行った。精製した変換因子は、種々の方法によって分析した結果、パルミトレン酸であることが判明した。上記の変換因子に加えて、多種のpH指示薬および界面活性剤について検索した結果、それらの中で適当な種類のものは $Ca^{2+}$ -ATPaseを $Mg^{2+}$ -ATPaseに変換する能力をもつことを見出し、 $Ca^{2+}$ -ATPaseの $Mg^{2+}$ -ATPaseへの変換に必要な諸条件を詳細に調べた。これらの結果に基づき、共役因子が、光合成電子伝達系の酸化還元反応に共役して、ATP合成に必要なエネルギーをどのようにして分子内に取り込むか、を推察した。

以上のように、本論文の結果は、単に2種の酵素の精製と性質に加えて、共役因子の活性化機構の

解析に大きく寄与するものであり、理学博士の学位論文として十分な価値をもつものであることを認める。