

主論文の要旨

報告番号 ※ ^乙第 1193 号 氏名 高倍 鉄子

紅色イオウ細菌 Chromatium の RuP_2 C-ase のサブユニット構造と機能に関して主に研究を行い、次のような実験結果を得た。

1. Yphantis の方法による沈降平衡実験により Chromatium RuP_2 C-ase の分子量は 51 万と決定され、ホウレン草などの高等植物の酵素の分子量とほぼ等しい値をもつことが明らかになった。
2. Weber-Osborn 法による SDS-電気泳動実験から Chromatium RuP_2 C-ase は分子量の異なる 2 つのサブユニット A (M.W. 57,000) および B (M.W. 12,000) からなることが明らかとなった。
3. Chromatium RuP_2 C-ase は pH 9.0 でサブユニット A のオリゴマーとサブユニット B に解離する。サブユニット A のオリゴマーは native 酵素の約 15% の RuP_2 C-ase 活性を有し、サブユニット B は酵素活性をもたない。native RuP_2 C-ase と ^{14}C 標識サブユニット B の混合液を一旦アルカリ性 (pH 9.0) にしてから、再び中性にもどるときのサブユニット B の交換反応がおこることから、Chromatium 酵素の pH 変動による解離・会合反応は可逆的であることが判明した。
4. 残存酵素活性を有するサブユニット A のオリゴマーは Sephadex G-200 カラムクロマトグラフィー、ポリアクリルアミドゲル電気

泳動法, 沈降平衡法によつて約43万の分子量であることが決定された。これはサブユニットAの8量体に相当する値であることから, A_8 が RuP_2 C-aseの活性単位であることが明らかにされた。

5. native RuP_2 C-aseは Mg^{2+} 濃度を増す時反応の至適 pHがアルカリ側から中性付近に移動することが明らかにされていたが, A_8 による酵素反応には Mg^{2+} 濃度に依存した至適 pHの移動はみられない。したがつてサブユニットBはカルボキシラーゼ反応における Mg^{2+} の作用に関連した調節サブユニットであることが示唆された。

6. Chromatium とホウレン草由来の RuP_2 C-aseのサブユニットAのアミノ酸組成は類似しているが, サブユニットBのそれは両者で著しく異なる。またホウレン草 RuP_2 C-aseのサブユニットAに対する抗体は Chromatium 酵素の Carboxylase と Oxygenase 活性を阻害する。このことから両酵素のサブユニットAが活性に関与するサブユニットであることが明らかになった。

7. Chromatium は絶対嫌気性菌であるにもかかわらず, その RuP_2 C-ase は高等植物と同程度の RuP_2 Oxygenase 活性を有することが明らかになった。このことは RuP_2 C-ase には Oxygenase 反応が不可避的に随伴している

ことを示唆している。

8. Chromatium RuP₂ C-ase 分子中には約64個の Cysteine 残基が含まれている。PMB 修飾にともなう酵素の失活カーブは逆シグモイド型を示し、PMB によって約30個のSH基が修飾される時、RuP₂ C-ase, RuP₂ Oxygenase 活性はともに失われることが明らかとなった。両活性の失活カーブが類似していることから、両酵素活性に関与する活性部位がヘプタド鎖上において極めて近いことが示唆された。ホウレン草 RuP₂ C-ase と RuP₂ Oxygenase についても同様の実験結果を得た。