

1Cp-9

硝酸還元酵素の光による誘導とNO₂ガスによる阻害

○久松伸・*竹内裕一・**佐藤忍・*近藤矩朗（筑波大・環境科学、*国立公害研・生物環境、**筑波大・生物科学）

《目的》高等植物は根から吸収した硝酸イオンを細胞質において、硝酸還元酵素により亜硝酸イオンに還元する。亜硝酸イオンは、葉緑体に入り、亜硝酸還元酵素によりアンモニウムイオンに還元され、さらにアミノ酸、蛋白質に同化されて行く。一方、大気汚染物質の一つであるNO₂は、気孔を通じて葉内に吸収され、水に溶けて1対1の割合で硝酸イオンと亜硝酸イオンになり、同様の窒素代謝経路を通じて還元、同化されて行くと考えられる。この窒素同化の初期過程において律速となっている硝酸還元活性は、基質である硝酸イオンによって誘導されることが知られている。ところが高濃度のNO₂に暴露された植物では、硝酸還元活性が阻害されていることがTakeuchiら（1985）により報告されている。しかし、その阻害機構は明らかにされておらず、そこで今回この硝酸還元活性阻害の機構を免疫学的手法を用いて解明することを試みた。

《材料と方法》材料としてカボチャ芽生えの子葉を用いた。実験を行なう3日前に芽生えを温度25±0.5℃、湿度70±5%に制御してある人工光型グロースキャビネットに移し、明期14時間暗期10時間の光条件下で生育させた。NO₂暴露濃度は、芽生えの蒸散、光合成および呼吸速度を変化させず硝酸還元活性を阻害する4ppmとした。硝酸還元活性の測定は、*in vivo*及び*in vitro*での測定方法を用いた。硝酸還元酵素蛋白質の測定は、Blue Sepharose CL-6B で部分精製した標品を用いてSDS電気泳動を行った後、ウエスタンブロッティングを行い、さらにハウレンソウの硝酸還元酵素に対する抗血清を一次抗体として用いた酵素抗体染色法により行った。

《結果及び考察》明期14時間暗期10時間の光条件下で生育させた芽生えを、34時間の連続暗期に移した後、光照射と同時にNO₂に暴露した。光を照射し、NO₂に暴露しない対照区のカボチャ子葉の*in vivo*及び*in vitro*における硝酸還元活性は、時間の経過と共に増加してきたが、光照射と同時にNO₂に暴露した実験区においては顕著な増大は認められなかった。従って、NO₂による硝酸還元活性の阻害は、基質（硝酸イオン、NADH）の供給がNO₂により阻害された結果ではないことが明らかになった。次にこの硝酸還元活性の抑制が硝酸還元酵素の不活性化によるものであるか、又は硝酸還元酵素蛋白質量の変化による抑制によるものであるかを検討するため、ウエスタンブロッティングによる硝酸還元酵素蛋白質の定量を行った。その結果、対照区において、硝酸還元活性の上昇に伴い硝酸還元酵素蛋白質のバンドは強くなっており、光照射により硝酸還元酵素蛋白質量が増大することが示された。しかし実験区においては、硝酸還元酵素蛋白質のバンドの増大は認められなかった。従って、光によって誘導された硝酸還元酵素活性のNO₂による阻害は、硝酸還元酵素蛋白質の*de novo*合成の抑制によることが示唆された。