

2Ep-8

ダイズ根粒におけるレグヘモグロビンの機能に及ぼす
亜硝酸イオンの影響

°金山喜則・山本幸男 (名大・農・園芸)

ダイズ根粒における窒素固定能は、高濃度の NO_3^- (10mM前後)の添加により速やかに抑制される。その機構については明らかになっていない。根粒には、酸素と可逆的に結合するレグヘモグロビン(Lb)が存在し、バクテロイドの好氣的ATP生産に必要な酸素の拡散を促進している。演者らは、アセチレン還元能が10mM NO_3^- 添加により低下したとき、根粒サイトゾルに80nmol/gFWの NO_2^- が集積するという結果を得ており、この NO_2^- により上記のLbの機能が阻害されるのではないかと考え、実験を進め次の知見を得た。

- 1) 酸素電極により測定された根粒の呼吸は、 NO_3^- 添加後8時間は上昇し、その後アセチレン還元能の低下に先だって下降した。前半の上昇は NO_3^- 吸収および同化に関連していると考えられ、 NO_2^- の集積を説明することができる。後半の下降はバクテロイドへの酸素供給の減少を示唆した。
- 2) NO_3^- 添加により窒素固定能の低下した根粒が、高酸素分圧下(0.4atm)でのアセチレン還元能の測定で、通常測定の場合と同等の活性を示した。これはニトロゲナーゼへの酸素の到達が低く保たれたため、 NO_3^- 添加により根粒内の酸素の拡散が抑制されたと考えられる。
- 3) 還元剤としてDTTを用い、酸素電極によりLbの酸素結合能を測定したところ、Lbは NO_2^- により酸素結合能を競争的に阻害され、 LbNO を形成した。また、根粒内の酸素濃度や NO_3^- 添加24時間後の NO_2^- 濃度を再現した場合、25%のLbが酸素結合能を失った。
- 4) Lb^{2+} と NO_2^- からの LbNO 形成は、還元剤及び酸素除去剤として $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ の存在下で、二波長分光光度計により $A_{415} - A_{438}$ の変化から測定すると(A_{415} : LbNO のピーク、 A_{438} : Lb^{2+} のスペクトルにおける A_{415} と等吸光度を持つ波長)、 $K = 1.3 \times 10^6 \text{M}^{-1}$ および $k'_{on} = 5.7 \times 10 \text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}$ を得た。根粒内でLbが酸素と結合している割合を試算すると、通常は9.1%であるが、 NO_3^- 添加24時間後に集積した NO_2^- 濃度を考慮に入れると0.076%にまで低下する。また、上の値から求められる k_{off} 値は $44 \times 10^{-6} \text{sec}^{-1}$ であり、非常に解離しにくいと考えられる。

根粒内でLbが酸素と結合している割合を試算すると、通常は9.1%であるが、 NO_3^- 添加24時間後に集積した NO_2^- 濃度を考慮に入れると0.076%にまで低下する。また、上の値から求められる k_{off} 値は $44 \times 10^{-6} \text{sec}^{-1}$ であり、非常に解離しにくいと考えられる。

以上の結果、図のような NO_3^- による窒素固定能の抑制機構が考えられる。

