

2Bp02

CAM植物 *Graptopetalum paraguayense* 葉細胞の液胞膜を横切るイオン輸送

岩崎郁子・荒田博行・木島博正・塩谷孝夫・西村光雄（九大・理・生物）

CAM植物 *Graptopetalum paraguayense* は、多肉植物で、葉の液胞の体積が細胞全体に占める割合は 90%以上と非常に大きく、液胞中のリンゴ酸含量と pH に日周変動を示す。これらのイオンの液胞中の濃度と液胞膜を介した輸送について調べるため、この植物の搾汁中のイオン濃度の変化を測定した。搾汁は、2 時間おきに 24 時間採取した葉をすみやかに凍結し、穏やかに圧搾して得た。このようにして得た搾汁が細胞質由来の物質の混入をどの程度受けているかを知るため、液胞と細胞質のマーカー酵素として α -mannosidase 及び malate dehydrogenase の活性を測定したが、細胞質由来の物質の混入はほとんど無視できることがわかった。したがって、用いた搾汁は液胞の成分を忠実に反映しているとみなすことができる。

搾汁中のリンゴ酸含量と pH は、大きい日周変動を示した。リンゴ酸の濃度と pH 及びリンゴ酸の pKa 値を用いて、非解離型 (H_2mal)、第一解離型 ($Hmal^-$)、第二解離型 (mal^{2-}) リンゴ酸の濃度、及びリンゴ酸由来の総負荷電量を計算すると図のようになった。 mal^{2-} の濃度は、夕方 pH が最も高い時最も大きく、朝 pH が最も低い時最も小さかった。また H_2mal や $Hmal^-$ のようなプロトン化したリンゴ酸の濃度は朝の低い pH の時に大きくなり、夕方の時の mal^{2-} の濃度の約 2 倍となっている。一方、リンゴ酸由来の総負荷電量はほとんど変動せず、同じように陽イオン (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) の総負荷電量にも日周変動がみられなかった。

これらの結果から、液胞への取り込みあるいは排出にさいしてのリンゴ酸と水素イオンの stoichiometry は 1:2 で電気的中性が保たれていると考えられる。また、これら 2 種のイオン以外のイオンは液胞膜を介しての大きい輸送の dynamism を示さない。

水素イオンはプロトン輸送性 ATPase によって、液胞に取り込まれることが知られている。これに伴う電流が、無機陽イオンの流出によって中和されるためには、細胞質で極端な陽イオンの濃度の上昇が起こる。一方、リンゴ酸は夜間細胞質で作られ、pH の低い液胞内ではプロトン化して存在する。 mal^{2-} の輸送系があれば、 mal^{2-} の濃度勾配を作らずに負の電荷を取り込むことができる。最も動きやすいイオンとして mal^{2-} が運び込まれて、自然に水素イオンとリンゴ酸の stoichiometry が成立していると考えられる。これに対し、プロトン -ATPase とリンゴ酸輸送系の相互作用等により stoichiometry が成立する機構が存在している可能性も否定できない。

以上のような輸送の分子機構についてより具体的な知見を得るために、パッチクランプ法等による解析を試みている。

