

1B—16

細胞内環境の制御と原形質膜の光電位反応

○菊山宗弘 藤井純子 田沢仁 (阪大・理・生物)

近年植物細胞の原形質膜は H^+ の透過性が高く、膜電位や膜抵抗は H^+ の輸送や H^+ 濃度に強く依存することが示されてきた (Kitarato 1968, Slayman 1973)。また、光照射により膜電位が過分極する反応 (光電位反応) は光合成によって活性化される起電性 H^+ ポンプによるということも知られている (Spanwick 1973, Saito & Senda 1973, 1974 など)。

しかし原形質膜から離れている葉緑体で行われる光合成が膜の起電性ポンプを活性化する機構はまだ明らかではない。この機構に關して次の二つの可能性が考えられる。 H^+ ポンプは細胞質中の H^+ 濃度 ($[H^+]_c$) を調節するために働くと考えれば光合成による $[H^+]_c$ の増加そのものが H^+ ポンプを活性化すると考えられる。またポンプの活性が *Neurospora* のポンプのそれと同様に (Slayman et al. 1973) 細胞質中の ATP レベル ($[ATP]_c$) に依存するとすれば車軸藻においても光合成による ATP 生産を通しての $[ATP]_c$ の増加がポンプを駆動させるとも考えられる。これらの可能性を直接的に証明するためには $[H^+]_c$, $[ATP]_c$ を任意に制御できることが望ましい。最近我々は車軸藻類節間細胞の細胞液を EGTA を含む液で置換すると液胞膜が失われることを見出したので、置換液の組成を変えることにより細胞質中のイオン環境等にある程度制御しながら原形質膜の光電位反応を研究する途が開かれた。

本実験には *Chara australis* を用いた。細胞液の置換液としては、5mM EGTA, 0mM 又は 6mM $MgCl_2$, 5mM Tris-maleate, 17mM KOH 又は NaOH (pH7) に sorbitol を加えて浸透価を 330mM に調整した液を用いた。液胞膜消失後、原形質成分が細胞内に均一に分布すると仮定すれば、 K^+ は約 10mM (17mM NaOH のとき)、又は 30mM (KOH のとき)、 Cl^- は約 3mM (0mM $MgCl_2$ のとき) 又は 15mM (6mM $MgCl_2$ のとき) となる。このような細胞でもほぼ正常細胞と同じ光電位反応がみられた。また内液の浸透価を $1/2$ にしても 2 倍にしても同様な反応がみられた。これらのことから光による起電性ポンプの活性化は細胞質の K^+ , Cl^- 濃度や浸透価の変化に影響されないことがわかる。

液胞膜の消失した細胞の細胞内 ATP 濃度は約 0.04mM と推定されるが、内液に 1mM の ATP を加えても加えなくても光電位反応の大きさは影響を受けない。正常細胞の $[ATP]_c$ は 0.4mM と推定されるから、正常細胞の光電位反応において光合成に伴う $[ATP]_c$ の増加がポンプを活性化するのではないと結論される。pH4 の人工池水中での正常な細胞の膜電位は約 -60mV であるが、10分後にその細胞液をとり出し pH 指示薬 (Congo red) でその pH を調べると約 3 となっていた。このことから原形質膜の H^+ の透過性が非常に高いこと、また H^+ はこのような条件下ではほぼ電気化学ポテンシャルの勾配に従って動くことがわかる。EGTA を含む液で内部を置換した細胞においても 10分後には内液 pH は約 4 になっていることが認められた。しかもこの細胞も正常細胞と同じように pH4 の人工池水中でも光電位反応を示すことから $[H^+]_c$ の増加がポンプを活性化するという可能性も疑わしい。しかし我々のこの方法では原形質膜のすぐ内側のゲル層の成分まで完全に制御しているとは考えられないため、実験条件下における細胞内 pH などの挙動についてのより詳細な研究が必要である。