



オオムギの細胞内カリウム濃度制御におけるプロレシンの役割に関する研究

玉井, 鉄宗

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2000-03-31

(Date of Publication)

2014-11-26

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2166

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.11501/3173105>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002166>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	たま い てっ しゅう 玉 井 鉄 宗	（奈良県）
博士の専攻 分野の名称	博 士（農 学）	
学位記番号	博い第46号	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
学位授与の日付	平成12年3月31日	
学位論文題目	オオムギの細胞内カリウム濃度制御におけるプトレシンの役割に関する研究	

審 査 委 員	主査 教授 王 子 善 清	
	教授 辻 庄 一	教授 安 田 武 司

論 文 内 容 の 要 旨

カリウムは植物の必須元素であり、様々に重要な機能を有している。しかし、その詳細については未だに不明な点が多い。その中で植物栄養学的に明確なことはカリウム欠乏に伴うプトレシンの蓄積現象であり、これについては古くから知られている。その理由の一つに、プトレシンが電気的アナログとしてカリウムの欠乏を補う役割を担っていると考えられてきた。一方、細胞内のカリウム濃度は原形質膜に存在する三種類のカリウムトランスポーターによって制御されていると考えられてきた。すなわち、培地中のカリウム濃度が低く、原形質膜の電気化学的勾配に逆らって輸送されなければならないときは、プロトン勾配を利用して高親和性トランスポーターがプロトンとの共輸送を行う。培地中のカリウム濃度が高いときには、電気化学的勾配に従い低親和性トランスポーター（内向き整流カリウムチャンネル）によって細胞内に取り込まれる。細胞内にカリウムが必要以上存在する場合は、原形質膜の脱分極により起動させる外向き整流カリウムチャンネルによって細胞外へと放出する。このように、植物はあらゆるカリウム栄養条件に応じて三種類のカリウムトランスポーターを酷使し、細胞内のカリウム濃度を巧妙に制御していると考えられている。プトレシンがカリウムの電気的アナログとして、あるいは別の働きにより細胞内のカリウムの減少を補うるのであれば、逆に、プトレシンは細胞内のカリウム濃度を制御することが可能なのではないかと考えた。もし、この仮設が証明されれば、カリウム濃度は上述の三種のトランスポーター以外に、プトレシンによって制御される新たなシステムの存在が推察される。

そこで本研究ではオオムギ幼植物を試料とし、プトレシンが細胞内カリウムの制御因子である可能性について検討し、その役割について考察した。

第一章では、人為的にオオムギ幼植物の根部にプトレシンを蓄積させるための一手段として、エチレンの前駆体である ACC（1-アミノシクプロパン-1-カルボン酸）の供与実験を行い、内生的に蓄積したプトレシンが根部のカリウム濃度あるいは種子中のカリウムの分配に影響をあたえるかについて検討した。ACCの供与により、根部におけるエチレンの生成が誘導され、スペルミジン、スペルミン含量は変化せず、プトレシンのみが蓄積した。対照的に、根部のカリウム濃度は低下し、莖

葉部のカリウム濃度は増加した。また、直接培養液にプトレシンを添加することによっても。プトレシンの蓄積とカリウム濃度の減少は同時に認められた。さらに、ACCと共にエチレン合成阻害剤であるコバルトを供与すると、プトレシンは蓄積せず、カリウム濃度の減少も認められなかった。これらのことにより、プトレシンは細胞内のカリウム濃度の制御因子として機能し、その結果、種子中のカリウムの分配を制御していることが明かとなった。

第二章では、カリウム吸収時の根部のプトレシンの挙動を明かにするために、予めプトレシンを蓄積させたオオムギ幼植物を用いてカリウム吸収実験を行った。その結果、根部において速やかにカリウムは蓄積し、遊離型プトレシンは減少した。細胞内でのポリアミンの存在形態としては、遊離型、酸可溶結合型、酸不溶結合型に分けられるが、カリウム吸収による遊離型プトレシンの減少は遊離型スペルミジン、スペルミンや他の結合型ポリアミンに変換されるためではなかった。また、遊離型プトレシンが地上部に輸送され、そこで他のポリアミンに変換されるということもなかった。¹⁴C-プトレシンを供与した実験によって、カリウム供与は細胞内のプトレシンの放出を促進させることが分かった。従って、カリウム吸収により細胞内のプトレシンが減少するのは、プトレシンが細胞外に放出されるためであることが明かとなった。このことは、原形質膜におけるプトレシン輸送担体の存在の可能性を示すものである。

第三章では、プトレシン非蓄積植物を供して、カリウム吸収におけるプトレシンの機能を解明するために、カリウム吸収溶液中にプトレシンを共存させてカリウム吸収実験を行った。その結果、プトレシンはカリウム吸収速度を増大させた。このカリウム吸収速度の増大はプトレシン濃度に依存しており、この効果はカリウム濃度が小さくなるにつれて顕著に現れた。カリウム吸収速度を Lineweaver-Burk の逆数プロットにとり、 K_m 、 V_{max} を算出したところ、 V_{max} はプトレシンによって影響を受けないが、 K_m は減少した。このことは、プトレシンがトランスポーターのカリウムに対する親和性を上昇させていることを示している。また、プトレシンは濃度依存的に原形質膜のプロトン輸送性 ATPase を活性化した。カリウムトランスポーターは原形質膜の膜電位によって制御されていることが明らかとされているため、プトレシンによるカリウム吸収の促進は、プトレシンがプロトン輸送性 ATPase を活性化し、原形質膜の脱分極を抑制したためであると解釈される。

以上の結果をまとめると、1. 人為的にプトレシン蓄積を誘導したオオムギ幼植物の根部を用い、プトレシンの蓄積はカリウム濃度を制限すること、2. プトレシンは根部での蓄積を通して、種子中のカリウムの分配を制御すること、3. プトレシンを蓄積させた根部において、プトレシンはカリウム吸収に伴い減少するが、それはプトレシンが細胞外へ放出されるためであること、4. プトレシンは原形質膜のプロトン輸送性 ATPase を活性化し、カリウム吸収を促進することを明かにした。

以上のように、プトレシンは単に従来考えられていた細胞内でのカリウム欠乏を補う機能を有しているだけでなく、カリウム濃度の制御因子として働くことが明かとなった。また、そのプトレシンの濃度はカリウムによって、プトレシンの放出を介して、巧妙に制御されていることも明かとなった。これらのことは、プトレシンとカリウムが相互にその濃度を制御し合っていることを意味している。さらに、プトレシンが原形質膜のプロトン輸送性 ATPase を活性化し、カリウム吸収を促進することから、カリウム欠乏時に蓄積するプトレシンは、カリウム吸収のための電気学的勾配の形成に寄与し、カリウム欠乏から早期に抜け出すための植物の戦略であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

カリウムは植物の多量必須元素であり、様々な重要な機能を有している。しかし、その詳細については未だに不明な点が多い。その中で植物栄養学的に明確なことはカリウム欠乏に伴うプトレシンの蓄積現象である。この減少については古くから知られているが、その原因は、プトレシンが電気的アナログとしてカリウムの欠乏を補うためであると考えられてきた。一方、細胞内のカリウム濃度は原形質膜に存在する三種類のカリウムトランスポーター（高親和性トランスポーター、低親和性トランスポーター、外向き整流チャンネル）によって制御されていると考えられている。

本研究は上述の現象を出発点として、プトレシンがカリウムの電気的アナログとして、あるいは別の働きにより細胞内のカリウムの減少を補うるのであれば、逆に、プトレシンは細胞内のカリウム濃度を制御することが可能なのではないかと考え、着手しものである。もし、この仮設が証明されれば、カリウム濃度は上述の三種のトランスポーター以外に、プトレシンによって制御されるシステムの存在が推察されるはずであるとの考えで、本研究を進めている。

第一章では、プトレシンが細胞内カリウムの制御因子である可能性について検討するため人為的にオオムギ幼植物の根部にプトレシンを蓄積させる一手段として、エチレンの前駆体である ACC（1-アミノシクプロパン-1-カルボン酸）の供与実験を行い、内生的に蓄積したプトレシンが根部のカリウム濃度あるいは種子中のカリウムの分配に影響をあたえるかについて検討している。根部のカリウム濃度は低下し、茎葉部のカリウム濃度は増加することを明らかにしている。また、直接プトレシンを培養液に添加すると同じ現象が起こるが、ACC と共にエチレン合成阻害剤であるコバルトを供与した場合は起こらないことを認めている。これらのことにより、プトレシンは細胞内のカリウム濃度の制御因子として機能し、その結果、種子中のカリウムの分配を制御していることを明らかにしている。

第二章では、予めプトレシンを蓄積させたオオムギ幼植物を用いてカリウム吸収実験を行い根部に速やかにカリウムが蓄積すると同時に、遊離型プトレシンは低下することを認め、後者の低下はカリウム供与による細胞内のプトレシンの放出に起因することを ^{14}C -プトレシンを用いた実験により明らかにしている。このことは、原形質膜におけるプトレシン輸送担体の存在の可能性を示すものである。

第三章では、プトレシン非蓄積植物を供して、カリウム吸収におけるプトレシンの機能を解明するために、カリウム吸収溶液中にプトレシンを共存させてカリウム吸収実験を行い、プトレシンはカリウム吸収速度を増大させることを見つけた。このカリウム吸収速度の増大は、 V_{\max} には影響しないが、 K_m を減少させることによることを明らかにしている。これは、プトレシンがトランスポーターのカリウムに対する親和性を上昇させると推察している。また、プトレシンは原形質膜のプロトン輸送性 ATPase を活性化することにより、原形質膜の脱分極を抑制を介し、プトレシンがカリウムトランスポーターを活性化して、カリウム吸収の促進が起こると考えている。

以上のように、プトレシンは単に従来考えられていた細胞内でのカリウム欠乏によるカチオンを補う機能を有しているだけでなく、カリウム濃度の制御因子として働くこと、また、そのプトレシンの濃度はカリウム栄養環境に応じてその放出を介して制御されていること、さらに、プトレシンが原形質膜のプロトン輸送性 ATPase を活性化し、カリウム吸収を促進することから、カリウム欠乏時に蓄積するプトレシンは、カリウム吸収のための電気化学的勾配の形成に寄与し、カリウム欠乏から早期に抜け出すための植物の戦略であると考えられることなど、今まで未知であったカリウムとプトレ

シンの相互関係を解明したものであり，植物のカリウム栄養とプトレシン含量の関係について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって，学位申請者玉井鉄宗は，博士（農学）の学位を得る資格があると認める。