

報告番号 <sup>\*</sup> 甲 第 1893 号

## 主論文の要旨

題名      ダイズ根粒における炭素代謝  
                 と窒素代謝の相互関連

氏名      菅沼 教生

# 主論文の要旨

報告番号	※甲第	号	氏名
			菅沼 教生
<p>マメ科植物と根粒菌との間に確立された共生窒素固定系は、宿主植物と根粒菌の相互作用によって成立する。根粒菌による窒素固定反応に必要な還元力とエネルギー、また、生成されたアンモニアを同化するための炭素骨格は、宿主植物の生産する光合成産物に依存しており、窒素代謝と炭素代謝は密接に関連している。本研究は、ダイズ根粒内に転流された光合成産物は、根粒細胞内でどのような炭素代謝経路を経て分解され、窒素代謝に必要な還元力、エネルギー、炭素骨格を供給するのかを明らかにすることを目的とした。</p> <p>ダイズ根粒の粗抽出液の主要な炭素代謝酵素の活性をダイズ根の粗抽出液の活性と比較すると、解糖系のグリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素、エタノール発酵経路のピルビン酸デカルボキシラーゼとアルコール脱水素酵素、<math>\text{CO}_2</math> 暗固定反応のホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの活性が根粒で高かった。アルコール脱水素酵素の活性は、ダイ</p>			

ズ根粒バクテロイド画分よりも根粒の宿主植  
 物細胞画分の方が高く、ホスホエノールピル  
 ビン酸カルボキシラーゼの活性は、宿主植物  
 細胞画分のみ認められた。一方、ダイズ根  
 粒バクテロイドと窒素固定能を示さない純粹  
 培養したダイズ根粒菌について炭素代謝酵素  
 の活性を比較すると、アルデヒド脱水酵素酵  
 とリンゴ酸脱水酵素の活性がバクテロイド  
 で高かった。これらの結果から、ダイズ根粒  
 の宿主植物細胞内では、解糖系、エタノール  
 発酵経路、 $CO_2$  暗固定反応が活発であり、そ  
 れらの生成産物であるアセトアルデヒド、エ  
 タノール、リンゴ酸がバクテロイドに供給され  
 た。この点をさらに明確にするために、分離し  
 た根粒の窒素固定能に及ぼす代謝阻害剤の影  
 響を調べた。解糖系の阻害剤であるヨード酢  
 酸、フッ化ナトリウムは、分離根粒のアセチ  
 レン還元能を抑制したが、トリカルボン酸サ  
 イクルの阻害剤であるマロン酸、フルオロ酢  
 酸では抑制効果が認められなかった。また、  
 アルコール脱水酵素、ホスホエノールピル

ビン酸カルボキシラーゼ、アルデヒド脱水素  
 酵素の阻害剤は、それぞれ、分離根粒のアセチ  
 チレン還元能を抑制した。したがって、ダイ  
 ズ根粒の宿主植物細胞内のエタノール発酵経  
 路とCO<sub>2</sub>暗固定反応は、バクテロイドの窒素  
 固定能と密接に関わっていると考えられた。  
 次に、エタノール発酵経路が活発であると思  
 われるダイズ根粒から、ミトコンドリアを調  
 単離し、その呼吸活性と呼吸酵素の活性を調  
 べた。ビルビン酸デカルボキシラーゼの活性  
 が検出されないダイズ根のミトコンドリアと  
 比較すると、ダイズ根粒から単離したミトコ  
 ンドリアは、根のミトコンドリアよりも高い  
 酸素吸収能、酸化的リン酸化能を示した。ま  
 た、ミトコンドリアのフマラーゼ、リンゴ酸  
 脱水素酵素、チトクロームcオキシダーゼの  
 活性も高かった。分離根粒のアセチレン還元  
 能とレグヘモグロビンの含量は、ダイズ植物  
 体の生育に伴って急速に増加し、種子成熟期  
 には減少したが、根粒から単離したミトコン  
 ドリアの総タンパク質量、酸素吸収能、酸化的  
 リン酸化能の植物令による違いは見られな

か っ た 。 し か し な が ら 、 形 成 初 期 の 根 粒 に 比  
べ 窒 素 固 定 能 が 最 も 盛 ん な 開 花 期 の 根 粒 で は  
含 ま れ る ミ ト コ ン ド リ ア の 密 度 が 高 い も の が  
増 加 し た 。 以 上 の 結 果 か ら 、 嫌 気 的 な ガ イ ズ  
根 粒 細 胞 で も ミ ト コ ン ド リ ア は 好 気 的 な ガ イ  
ズ 根 の ミ ト コ ン ド リ ア と 同 等 の 酸 素 吸 収 能 、  
酸 化 的 リ ン 酸 化 能 を 有 し て い る こ と が 明 ら か  
に な っ た 。

そ こ で 、 嫌 気 的 な 根 粒 細 胞 内 で ミ ト コ ン ド  
リ ア は ど の よ う に 酸 素 の 供 給 を う け て 機 能 し  
て い る の か を 明 ら か に す る た め 、 ミ ト コ ン ド  
リ ア の 呼 吸 と レ グ ヘ モ グ ロ ビ ン の 関 係 、 根 粒  
組 織 内 で の 好 気 的 代 謝 と 嫌 気 的 代 謝 の 区 分 化  
に つ い て 検 討 し た 。 ガ イ ズ 根 粒 と ガ イ ズ 実 生  
の 下 胚 軸 か ら 単 離 し た ミ ト コ ン ド リ ア の 酸 素  
吸 収 能 は 、 い ず れ も 、 バ ク テ ロ イ ド の 場 合 と  
同 様 に レ グ ヘ モ グ ロ ビ ン に よ っ て 促 進 さ れ た  
ま た 、 ガ イ ズ 根 粒 を 構 成 す る バ ク テ ロ イ ド と  
レ グ ヘ モ グ ロ ビ ン を 含 ま な い 皮 層 細 胞 と 非 感  
染 細 胞 、 さ ら に 、 両 者 を 含 む 感 染 細 胞 を 酵 素  
処 理 に よ っ て 分 離 し 、 炭 素 代 謝 酵 素 の 活 性 を  
比 較 し た 。 ア ル コ ー ル 脱 水 素 酵 素 、 ビ ル ビ ン

酸デカルボキシラーゼ、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの活性は、すべて感染細胞よりも非感染細胞、皮層細胞の方が高かった。したがって、エタノール発酵経路と $\text{CO}_2$ 暗固定反応は、ダイズ根粒の感染細胞よりも非感染細胞、皮層細胞において活発であり、ミトコンドリアは、根粒の感染細胞内でレグヘモグロビンの助けをかりて活性を維持していると考えられた。

以上の結果から、ダイズ根粒内では、エタノール発酵経路と $\text{CO}_2$ 暗固定反応が特に皮層細胞、非感染細胞内で活発であり、それぞれ生成産物がバクテロイドに供給され窒素固定反応に利用される。一方、嫌気的な根粒細胞内でも、レグヘモグロビンの存在する感染細胞内でミトコンドリアは作働し、窒素固定によって生成されるアンモニアを同化するための炭素骨格を供給するというモデルを提出した。