

第10回 C₄様光合成, 細胞間の代謝産物輸送

●講義の目的

単一細胞内でのC₄様光合成を理解する. また, 細胞間の物質輸送の仕組みを理解する.

●講義の要約

1. 単一細胞内でC₄様光合成を行っている植物が存在し, 葉肉細胞内での光合成酵素の局在が見られる.
2. 細胞内のタンパク質局在場所を調べる方法として, 免疫組織化学的手法がある.
3. 原形質連絡は, 濃度勾配に応じた低分子物質の細胞間移動を可能にしている.

●Q&A

Q: 結局のところ, *Borszczowia*をC₄植物と呼べない理由とは? C₄植物と同じ働きをちゃんとしていてと思うんですが.

A: C₄植物では2種の光合成細胞にまたがるC₄回路によりCO₂濃縮がなされ, 効率良い光合成が行われていますが, C₄様光合成でははるかに低い光合成活性しか見られません. C₄光合成回路に似た経路をもつだけであり, 高いCO₂濃縮を行っているわけではないので, C₄様とよばれています.

Q: C₄-like光合成の例は*Borszczowia*以外にありますか?

A: *Bienertia cycloptera*というC₄様光合成を行う植物も見出されています. この植物では, 葉肉細胞内の一部の葉緑体が細胞中心に集まり, 細胞内の周辺領域でPEPCによる一次炭酸固定を, 中心部の葉緑体でRubiscoによる再固定を行っているようです.

Q: 単一細胞でのC₄様光合成のところが理解しにくかった. 細胞内の葉緑体の位置によって作用する酵素が違うということでしょうか?

Q: PEPC, PPK がよくわかりません.

Q: PEPC, ME, PPK は酵素のことなのですか?

A: PEPC: ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (phosphoenolpyruvate carboxylase). C₄光合成回路の一次炭酸固定酵素であり, HCO₃⁻とホスホエノールピルビン酸よりオキサロ酢酸を生成する.

ME: マリックエンザイム (malic enzyme). 維管束鞘細胞に存在し, 葉肉細胞から移動してきたC₄有機酸を脱炭酸反応により, CO₂とC₃有機酸に分解する. CO₂は維管束鞘細胞葉緑体のRubiscoにより再固定される.

PPDK: ピルビン酸リン酸ジキナーゼ (pyruvate, Pi dikinase). 脱炭酸反応により生じたピルビン酸は葉肉細胞へと移動し, 葉緑体に局在するPPDKによりホスホエノールピルビン酸へと再生さ

れる. この反応には ATP の分解エネルギーが必要である.

Q: 単一細胞で行うのと二種の細胞で分かれて行うのでは何か効率が違うのでしょうか? メリットみたいなものは何なのでしょう?

A: 二種の光合成細胞に渡ってC₄回路を構成し, 維管束鞘細胞葉緑体にCO₂を輸送する方がはるかに濃縮効率は高いです. 単一細胞内で葉緑体へCO₂を濃縮させても包膜からのCO₂の漏れが結構あると思います.

Q: C₄様植物はC₃植物→C₄植物への進化の過程にあたる植物なんのでしょうか?

A: C₄様植物は2例程しか報告されておらず, マイナーな光合成様式だと考えられます. C₃植物とC₄植物の中間的な形態や酵素局在性を示すC₃-C₄中間型植物が*Atriplex*属, *Flaveria*属, *Panicum*属で多数見つかり, これらがC₃植物からC₄植物への進化の途中段階を示していると考えられています.

Q: C₄回路をC₃植物に導入するという研究をもう少し詳しく知りたいです.

Q: C₄様光合成を組み込んだ作物に危険性はありますか?

A: C₄様光合成を組み込んだC₃植物はまだ完成していません. 遺伝子組換え作物が元の野生株と安全面において実質的に同等であることや, 食品としての安全性のチェックは日本では厚生労働省により厳しい審査がなされています.

Q: Rubisco が抗原となって抗原抗体反応が起こるといのがよくわからない. Rubisco は何ですか?

Q:免疫組織化学の抗体についてのあたりが良くわかりませんでした. 抗ウサギ Ig 抗体って何ですか?

Q:第一と第二の抗体の違いが良くわからなかった.

Q:ヤギ, ウサギの意味が良くわからなかった.

A: 免疫組織化学法は抗原抗体反応という特異的な結合反応を利用して, 目的とするタンパク質の細胞内や組織内の局在を検出するための手法です. マウスやウサギなどに精製タンパク質標品(例えば, 植物葉から精製した Rubisco タンパク質)を皮下注射すると, 動物細胞はこれを異物(抗原)と認識し, リンパ球内でその抗原とだけ反応する抗体を産生します. 抗体は主に血清中のイムノグロブリン(Ig)とよばれるタンパク質が主体となって作られます. また, ウサギのイムノグロブリンをヤギに注射すると, ウサギ Ig に対する抗体がヤギの体の中に作られます. そこで, 組織切片中の Rubisco タンパク質の局在を調べる場合には, 組織を固定・切片化し, スキムミルクなどでブロッキング後, 抗 Rubisco ウサギ抗体(一次抗体)と反応させます. 余分の抗体を洗浄後, 蛍光色素で標識された抗ウサギ Ig 抗体(二次抗体)で染色します. 組織切片中の蛍光色素の存在部位を蛍光顕微鏡を用いて観察します.

Q:細胞膜をブロッキングする際、ブロッキングのための物質であるスキムミルクが原因で免疫反応が起こることはないのですか？

A: ブロッキングせず、いきなり一次抗体を細胞切片と反応させてしまうと、抗体は非特異的に切片上のタンパク質と結合してしまうことがあります。

Q:免疫組織化学反応の時、なぜ一次抗体に蛍光物質をつけないのですか？

A: 一次抗体に酵素や蛍光物質を直接結合させて検出する直接法もあります。しかし、一次抗体にそのつど蛍光物質などで標識するのは手間がかかるため、蛍光物質付の二次抗体を使えばどのような一次抗体を用いても蛍光抗体反応ができ、汎用性が高いからです。また、間接法ではシグナルを増強した好感度の検出が可能となります。

Q: プリント 3-2⑧の図の意味は？

A: 原形質連絡は細胞壁を貫通する穴であり、隣接する細胞の細胞膜および原形質は原形質連絡によって連続しています。また、小胞体が原形質連絡の中央を貫通しています。

Q:原形質連絡に存在するキャリアータンパク質が良くわからなかった。

A: 原形質連絡の小胞体膜上にはキャリアータンパク質が存在し、これと一部のタンパク質や mRNA が結合し、小胞体膜上を移動して隣の細胞へとタンパク質や mRNA を移動させていると推定されています。全てのタンパク質や RNA が移動するわけではありません。

Q: Da とはどういう単位ですか。

A: dalton (ドルトン, ダルトン, Da) は原子や分子の質量の単位で、炭素の同位元素 ^{12}C の1原子の質量の12分の1を1 dalton といいます。数値的には分子量(相対分子質量)と同じですが、dalton が絶対値であるのに対して、分子量は相対値であり無名数です。したがって、「分子量 1200Da」というのは間違いです。正しくは「分子量 1200」と、単位は付きません。

Q:細胞→師管の動きも原形質連絡によるものですか？

A: 師管への物質の積み込みは師管に隣接する伴細胞を介して行われます。師管と伴細胞の間には原形質連絡がありますが、維管束鞘細胞と伴細胞の間では原形質連絡をもつ植物と、もたない植物があります。もたない植物では、維管束鞘細胞からいったん細胞外(アポプラスト)へと物質が出た後、再び伴細胞内にトランスポーターを介して取り込まれます。

Q: プリント 4-1③の図の透過係数が良くわかりません。

A: 透過係数は物質分子の生体膜に対する透過性の度合いを示すもので、単位時間あたりに

透過する物質の量で表されます。プリント 4-1③の図の透過係数の単位は「 $\text{cm} \cdot \text{sec}^{-1}$ 」の間違いではないかと思われます。透過係数の値が高い程透過性が大きく、脂質二重膜を透過しやすいことを示します。

Q:電荷をもつと生体膜を通りにくいのはなぜですか？

A: 脂質二重膜からなる生体膜の内部は疎水性です。疎水性であるということは電荷を帯びた物質となじみにくいことを意味しており、生体膜はイオンをはじめとする様々な電荷を帯びた溶質を透過させないという性質をもつこととなります。