

キリ成葉の光合成（初期）産物の特徴

九州大学農学部 山 王 邦 晶
 山下 魏
 南 里 治 兵 衛
 富 田 義 一

1. はじめに

一昨年この学会で報告したように、キリの葉の光合成活性は他の樹葉に比べて著しく高い。植物の光合成活性を規定している生理的要因には、

- ① カルビン回路の他にも一掃有効に働くジカルボン酸回路を併せ持っているかどうか。
- ② 光呼吸による損失があるかどうか。

の二つが考えられる。

そこで我々は、まずキリの葉のCO₂固定反応については、どのような回路が働いているかを確かめるために、次の実験を行なった。

実験Ⅰ：キリ成葉の光合成初期産物中における、ジカルボン酸回路の初期産物のリンゴ酸やアスパラギン酸の検出。

実験Ⅱ：キリ葉の抽出液中の RuDP カルボキシラーゼ（カルビン回路）と PEP カルボキシラーゼ（ジカルボン酸回路）活性の比較。

2. 光合成産物の分離測定方法

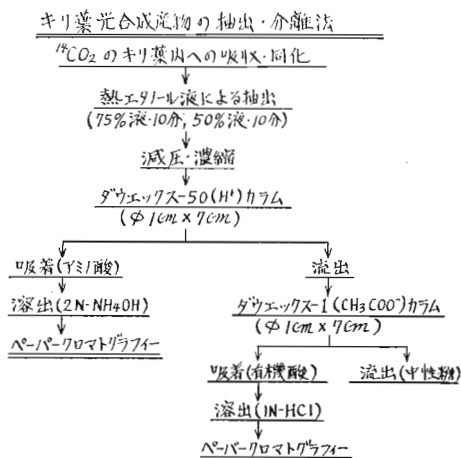
実験Ⅰ

屋外採取のキリ成葉から、方形（10 cm²）の葉片を得、磷酸緩衝液中で10分間前照射して暗反応酵素活性を高める。次に、15分間非放射性¹²CだけのNaHCO₃を含む水溶液中で光合成をさせた後、微量の放射性NaH¹⁴CO₃を反応液中に混入して、5分間光合成的に¹⁴CO₂を葉片中に吸収同化させた。

（水溶液中で光合成をさせても、気相中での光合成活性とはほぼ等しい活性が得られる事、放射性物質の取扱いが容易である事から、このような方法を用いた。）

光合成産物の抽出・分離法は図一に略記する。

アミノ酸のペーパークロマトグラフィーの展開溶媒は、フェノール・水・アンモニア(160:40:1)液、有機酸の展開溶媒は、*n*-ブタノール・95%エタノール・水・ジエチルアミン(80:10:20:1)液を用い、



図一 1 キリ葉光合成産物の抽出・分離法

濾紙は共に Whatman No. 3 MM ペーパーを使った。展開後は原点から1 cm ごとに濾紙を切断してバイアルびんに入れ、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

実験Ⅱ

恒温室で育成したキリ幼葉1 g を、10 ml の酵素抽出液と共に摩擦後、2 × 10⁴g で10分間遠心分離して得た上澄液を、RuDP カルボキシラーゼと PEP カルボキシラーゼの活性測定に等量ずつ用いた。

RuDP カルボキシラーゼ活性測定に用いる反応液は酵素抽出液0.2mlの他、10mM DTT, 10mM MgCl₂, 2mM RuDP, 50mM NaHCO₃, 50mM トリス-HCl (pH 8.3) 緩衝液よりなる0.5 ml である。

PEP カルボキシラーゼ活性測定に用いる反応液は、上の反応液の RuDP にかわり、1mM PEP と、5mM グルタミン酸ナトリウムを与え、NaH¹⁴CO₃ は5mM にして全量を0.5 ml にした。反応は25℃で行ない、6規定酢酸で停止させた。¹⁴CO₂ 固定量は、反

応液中に残った ^{14}C -有機物の放射能から液体シンチレーションカウンターで測定した。

3. 結果と考察

実験 I

アミノ酸のペーパークロマトグラフィーによる分析結果を図-2に示す。

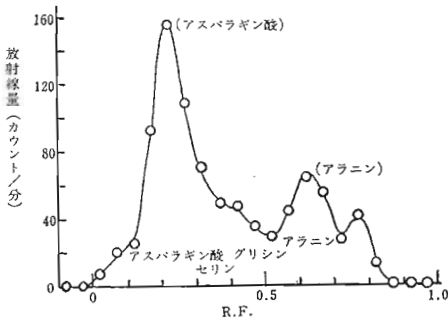


図-2 アミノ酸のペーパークロマトグラフィーによる分析

アミノ酸の分析では、各アミノ酸の Rf 値から、図-2の左側のピークはアスパラギン酸、右側のピークはアラニンに対応する。

次に有機酸のペーパークロマトグラフィーによる分析結果を図-3に示す。

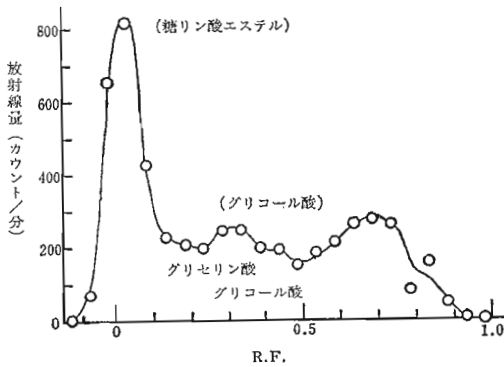


図-3 有機酸のペーパークロマトグラフィーによる分析

有機酸の分析での原点付近の大きなピークは、3-ホスホグリセリン酸などの磷酸エステルであろう。光呼吸産物として、検出される可能性のあるグリコール酸は図中に指示された位置に現われるが、明確なピークは現われなかった。

実験 II

酵素活性の測定結果を表1に示す。

キリの二種の CO_2 固定酵素の活性 (25°C, 10min)

RuDP- カルボキシラーゼ (カウント/10分)	PEP- カルボキシラーゼ (カウント/10分)
キリ 完全系 198	キリ 完全系 666
-RuDP 208	-PEP 141
-DTT 78	-DTT 57
-酵素 61	-酵素 110
熱処理酵素 56	熱処理酵素 175
トウモロコシ 完全系 1,737	トウモロコシ 完全系 1,052

(注)反応液中の $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 濃度は50mM, 0.1uci/ml (Km~20mM) 反応液中の $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 濃度は5mM, 0.1uci/ml (Km<=1mM)

表-1 キリ葉の二種の CO_2 固定酵素の活性 (25°C, 10min)

カルビン回路のみを持つ一般植物では、PEPカルボキシラーゼの活性は、ジカルボン酸回路を併せ持つ代表植物であるトウモロコシに比べて、1/10~1/30であるが、キリの場合には1/2~2/3という高い活性が示された。本研究では、ジカルボン酸回路に由来するアスパラギン酸と、カルビン回路に由来する3-ホスホグリセリン酸(磷酸エステル)が多く合成されている事と、キリの葉のPEPカルボキシラーゼ活性が高い事が見出されたが、これは極めて興味ある事である。今後、磷酸エステルの分析方法の改良を行なって更に詳しくこれらの結果を確かめる考えである。なお、本実験では5分間 $^{14}\text{CO}_2$ 吸収固定を行なったが、今後さらに短い反応時間での光合成産物の分析を行ない、光合成初期産物の時間変化の詳細も求めるつもりである。