

平成 22 年 5 月 25 日現在

研究種目：若手研究 B

研究期間：2007～2009

課題番号：19770026

研究課題名（和文） 低リン酸環境に対する呼吸系の応答とコストの解析

研究課題名（英文） Analysis of respiratory responses to low P environment and estimation of the respiratory cost

研究代表者

野口 航 (NOGUCHI KO)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：80304004

研究成果の概要（和文）：低リン酸条件下では、ホウレンソウの葉でTCA回路のいくつかの酵素の活性が上昇し、クエン酸合成が高まる。つくられたクエン酸は根に転流され、根から外部に放出されていると考えられる。また低リン酸条件下では、TCA回路におけるクエン酸生成を効率よく進めるために、呼吸電子伝達系のバイパス経路であるNADHinやAOXが誘導され、NADHのリサイクルに働いていると考えられる。

研究成果の概要（英文）：At low P, citrate production increased in spinach leaves, and several respiratory enzymes were up-regulated to function as citrate production. The produced citrate would be transported to roots, and excluded to the outside.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	0	1,800,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	450,000	3,750,000

研究分野：植物生理生態学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物生理・分子

キーワード：環境応答、有機酸、リン酸、呼吸系、ミトコンドリア

1. 研究開始当初の背景

リン酸は植物にとって多量に摂取する必要がある栄養塩である。しかし土壌中の可溶性リン酸濃度はかなり低く、通常の野生植物はリン酸欠乏の状態にある。これまでの低リン酸環境に対する植物の研究では、地下部の

応答を扱った研究が多い。低リン酸環境では、根から土壌に放出された有機酸が土壌中の金属と結合しているリン酸を可溶化し、植物のリン酸吸収を促進していること、放出される有機酸量は光合成生産の20%程度を占めることが知られている。しかし、低リン酸環

境下で有機酸が放出される時のミトコンドリア呼吸系の変化, 特に細胞のエネルギー供給源である呼吸電子伝達系の働きについては不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は以下の3つである。(1) 低リン酸条件では、地上部と地下部のどちらでも、リン酸を利用しない経路が誘導されるのか、(2) 有機酸合成のためにTCA回路の酵素は誘導されるのか、(3) 呼吸電子伝達系のATP非共役経路はどのように応答するのか。そのために、非菌根共生植物のアカザ科ハウレンソウを用いて、低リン酸環境への地上部と地下部の呼吸系の応答を調べた。

3. 研究の方法

ハウレンソウ (品種トライ) を以下の環境で水耕栽培した。日長: 8/16 h、室温: 23°C、光強度 350 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、リン酸濃度 低リン酸 (LP) 条件: 1 μM 、高リン酸 (HP) 条件: 50 μM 。処理開始4週間後にミトコンドリアを単離して、酸素電極と分光光度計で測定した。

4. 研究成果

(1) 水耕期間中、葉と根のどちらにおいても重さあたりの呼吸速度には明確な変化がなかったが、葉のシアン耐性呼吸速度は増加していった。その増加は LP 葉で顕著だった (図 1)。

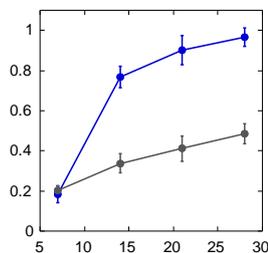


図 1 葉における呼吸速度に対するシアン耐性呼吸速度の割合。青は LP、黒は HP 条件を指す。縦軸は呼吸速度に対するシアン耐性呼吸速度の割合、横軸は水耕栽培開始後の日数。

水耕栽培 1 ヶ月後のハウレンソウの葉と根からミトコンドリアを単離し、電子伝達系活性と TCA 回路の酵素活性の測定、Western blotting によるタンパク質量の定量を行った。また組織抽出液を用いて、解糖系酵素活性と有機酸量を測定した。

(2) その結果、低リン酸条件では、葉と根のどちらも ATP 合成と共役しているシトクロム c 酸化酵素の活性が低下し (図 2)、

alternative oxidase および type II NADH DH の活性が増加していた (図 3)。

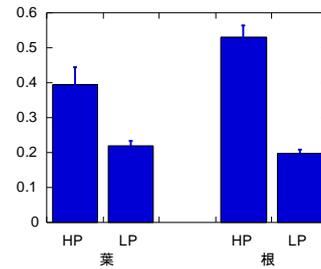


図 2 FW あたりのシトクロム c 酸化酵素 (COX) の最大活性 ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$)。

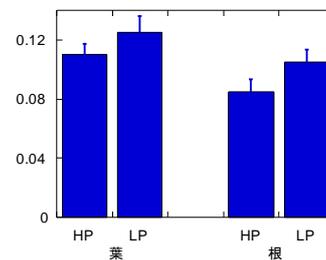


図 3 FW あたりの alternative oxidase (AOX) の最大活性 ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{min}^{-1}$)。

(3) 葉では TCA 回路のクエン酸合成酵素活性が低リン酸条件で増加していたが、葉の組織内のクエン酸含量はそれほど増加していなかった。一方、低リン酸条件の根ではクエン酸合成酵素の活性は増加していなかったが、組織内のクエン酸含量が増加していた (図 4)。

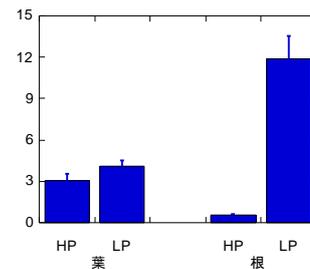


図 4 FW あたりのクエン酸含量 ($\mu\text{mol g}^{-1}$)。

低リン酸下で葉で合成されたクエン酸は根に輸送され、放出されていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

① Hachiya T, Watanabe CK, Boom C, Tholen

D, Takahara K, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K (2010) Ammonium-dependent respiratory increase is dependent on the cytochrome pathway in *Arabidopsis thaliana* shoots. *Plant Cell Environ*, 33, in press (査読有)

② Watanabe CK, Hachiya T, Takahara K, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Uesono Y, Terashima I, Noguchi K (2010) Effects of AOX1a deficiency on plant growth, gene expression of respiratory components, and metabolic profile under low nitrogen stress in *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant Cell Physiol*, 51, 810-822 (査読有)

③ Yoshida K, Shibata M, Terashima I, Noguchi K (2010) Simultaneous determination of in vivo plastoquinone and ubiquinone redox states by HPLC-based analysis. *Plant Cell Physiol*, 51, 836-841 (査読有)

④ Yoshida K, Noguchi K (2009) Differential gene expression profiles of the mitochondrial respiratory components in illuminated *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell Physiol*, 50, 1449-1462 (査読有)

⑤ Hachiya T, Noguchi K (2008) Effect of growth temperature and total non-structural carbohydrate accumulation on growth coefficient in *Petunia x hybrida* petal. *Physiol Plant*, 134, 293-302 (査読有)

⑥ Watanabe CK, Hachiya T, Terashima I, Noguchi K (2008) The lack of alternative oxidase at low temperature leads to a disruption of the balance in carbon and nitrogen metabolism, and to an up-regulation of anti-oxidant defense systems in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Cell Environ*, 31, 1190-1202 (査読有)

⑦ Yoshida K, Watanabe C, Kato Y, Sakamoto W, Noguchi K (2008) Influence of chloroplastic photo-oxidative stress on mitochondrial alternative oxidase capacity and respiratory properties: a case study with *Arabidopsis* yellow variegated 2. *Plant Cell Physiol*, 49, 592-603 (査読有)

⑧ Noguchi K, Yoshida K (2008) Interaction between photosynthesis and respiration in

illuminated leaves. *Mitochondrion*, 8, 87-99 (査読有)

⑨ 野口 航 (2009) 光照射下の葉の呼吸系の働き 光合成研究 19: 59-65 (査読有)

[学会発表] (計6件)

①朱 正、寺島一郎、野口 航「低リン酸環境に対するホウレンソウの呼吸系の応答」日本植物生理学会第51回大会、熊本 (2010年3月18~21日)

② Noguchi K, Yoshida K "Metabolic Interaction between Chloroplast and Mitochondrion" The 5th German-Japan Binational Seminar. From Photoreaction to Biomass: Phototrophs in Ecosystems and Biotechnology, Tsukuba, Japan, (June 3-6, 2009)

③野口 航「植物の呼吸と物質生産」第9回光合成研究会公開シンポジウム、駒場 (2009年5月29~30日)

④ Noguchi K, Hachiya T, Watanabe C, Yoshida K "AOX and light intensity" AOX Symposium 2008, Evora, Portugal (22-27 Oct, 2008)

⑤野口 航「高等植物の呼吸系の環境応答」日本植物学会第72回大会、高知 (2008年9月24~27日)

⑥ Noguchi K, Hachiya T, Watanabe C, Yoshida K "Can the respiratory chain dissipate excess reducing equivalents in illuminated leaves?" International Congress on Plant Mitochondrial Biology, Nara, Japan (25-29 June, 2007)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/seitai/pl/personal/noguchi/noguchi_menu.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野口 航 (NOGUCHI KO)

東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：80304004

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：