

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 田野井慶太郎

---

マグネシウム (Mg) は植物にとって必要不可欠な多量必須元素の 1 つであり、クロロフィルを構成することや様々な酵素活性への寄与など、植物の重要な機能を担っている。しかし、植物において Mg 輸送に関する情報は非常に少ない。

本論文は、Mg 輸送の基本的な知見を得るために放射性同位体マグネシウム-28 ( $^{28}\text{Mg}$ ) に着目し、まず、 $^{28}\text{Mg}$  の製造から植物への供与、放射線質ごとの検出に至る実験系を組み立て、イネにおける Mg 吸収様式を、Mg 欠乏処理や阻害剤を駆使して解析したものである。

序章に続く第一章では、Mg の蓄積量が根と比較して地上部に多いことに着目し、導管液を対象として Mg の吸収・輸送様式を解析した。イネに異なる濃度の Mg を与え、根の上部の茎部を切断して溢泌する導管液を解析した結果、外溶液の Mg 濃度が低い場合には根による導管への積極的な輸送が、逆に高い場合には根による Mg の希釈作用があることが示された。外溶液 Mg 濃度と導管溢泌液 Mg 濃度の相関を解析したところ、Mg 吸収曲線は Michaelis-Menten 式と線形式、つまり飽和性成分と直線性成分に分けて説明できることが示された。このことから、根による吸収から導管による地上部への移行に至る Mg 輸送システムには、少なくとも 2 種類の機構が存在することが明らかになった。Mg 濃度が低い条件下で寄与が大きい飽和性成分では、輸送の親和性を表す  $K_m$  値は約 20  $\mu\text{M}$  であった。また高濃度域で寄与が大きくなる直線性成分の傾きは約 0.6 であった。続いて、マルチコンパートメント・トランスポート・ボックスを用い、根からの導管滲出液を解析することにより Mg 吸収に対する阻害剤の影響を調べたところ、水和した  $\text{Mg}^{2+}$  のアナログである hexaminecobalt(III) (Co-Hex) の場合、外溶液から導管までの Mg 輸送速度が減少することが示された。Co-Hex は P-type ATPase の Mg 輸送体は阻害しないことから、根が Mg を輸送する際の Mg は水和した形態であること、すなわち根にはチャンネルを介した Mg 輸送システムが存在することが示唆された。

導管液を解析する本手法では、外溶液から導管までの多岐にわたる輸送経路をまとめて評価できる一方、詳細な輸送メカニズムを議論することができない。そこで、外溶液から根への Mg 吸収を解析するため、トレーサー実験を計画した。しかし、Mg の放射性同位体、 $^{28}\text{Mg}$  (半減期：21 時間) は一般に入手不可能であることから、まず、 $^{28}\text{Mg}$  の生成ならびに精製から実験に至る系の構築を行った。

第二章では、 $^{28}\text{Mg}$  の製造とイネへのトレーサー実験法の検討を記述した。 $^{28}\text{Mg}$  の製造は AVF サイクロトロンで行い、50MeV に加速した He 粒子を、重ね合わせたアルミニウム(Al) 箔に 6 時間照射した。精製過程では、まずターゲットの Al 箔を塩酸で溶解

した後、固相抽出法で Be を除去し、次にイオン交換樹脂に  $^{28}\text{Mg}$  を含む陽イオンを吸着させた。ここにシュウ酸溶液を流すことにより大量に存在する Al を洗い出し、最後に塩酸で  $^{28}\text{Mg}$  のみを回収した。得られた  $^{28}\text{Mg}$  を Ge 半導体検出器で測定したところ、照射により同時に生成すると予想された他の核種は検出されなかった。最終的に得られた  $^{28}\text{Mg}$  は約 1MBq であった。この製造・精製した  $^{28}\text{Mg}$  を直ちにイネの吸収実験に用いた。イネ中の  $^{28}\text{Mg}$  の検出方法では、イメージング・プレートで可視化する方法と、ガンマー線をウエル型シンチレーションカウンターで測定する方法を検討し、定量解析法を確立した。この実験系を用い、イネの根における Mg 輸送活性の評価を行った。

第三章では、得られた  $^{28}\text{Mg}$  をトレーサーとして用い、Mg 濃度を 9 段階に変化させて吸収実験を行ったところ、導管液採取実験と同様に低濃度域では飽和様式に、高濃度域では直線の吸収様式になることが判明した。その  $K_m$  値は、対照区が約 250  $\mu\text{M}$  である一方、Mg 欠乏処理区では約 110  $\mu\text{M}$  と親和性が増加することが判った。これは、Mg 欠乏処理により、根による Mg 吸収の親和性が高まったことを示している。次に Mg 吸収に対する阻害剤の効果を調べたところ、脱共役剤である DNP や carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazone (CCCP)、水和した  $\text{Mg}^{2+}$  のアナログである Co-Hex の処理による Mg 吸収阻害効果は、Mg 欠乏処理を施した根の場合に大きいことが示された。この結果は、Mg 欠乏処理により、代謝エネルギーを駆動力とした Mg 輸送能が高まったことを示唆するものである。さらに、 $^{28}\text{Mg}$  を 15 分間吸収させた後、通常の水耕液へ移して  $^{28}\text{Mg}$  の植物体内動態を追跡したところ、地下部と地上部の  $^{28}\text{Mg}$  の分配比に Mg 欠乏処理の影響は見られなかったものの、葉位毎の  $^{28}\text{Mg}$  分布に変化が見られた。すなわち、対照区では最大展開葉に多量の  $^{28}\text{Mg}$  が集積した一方、Mg 欠乏処理下では  $^{28}\text{Mg}$  は最も新しい葉に集積する傾向が示された。このことから、Mg 欠乏により各葉位への Mg 分配機構が影響を受ける可能性が示された。

第四章では、 $^{28}\text{Mg}$  と同様、製造・調製を行った  $^{38}\text{K}$  トレーサーを利用し、酸性土壌で問題となる Al イオンが与える K 吸収への影響を解析した。その結果、Al 処理により、K は根端から 1-2cm の箇所において、Mg は根端より 3mm から基部側において、其々吸収速度が増加することが示された。Mg に関しては Al 障害の緩和作用が知られていることから、イネが Al に応答して Mg 吸収能を高めることにより Al 耐性を得ていることが示唆された。また、Mg 吸収は Co-Hex において根端で阻害されることから、根端ではチャンネル輸送の寄与が大きいことが示唆された。

以上、本研究は  $^{28}\text{Mg}$  を用いることにより、Mg 輸送様式の一端を明らかにした結果であり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。