

助成番号 0822

植物の塩ストレス耐性に寄与する液胞膜プロトン輸送性ピロホスファターゼおよびカチオンセンサータンパク質に関する研究

前島 正義

名古屋大学大学院生命農学研究科

概要 本研究では、これまで筆者らが研究を積み重ねてきたプロトンポンプ、金属輸送体、金属結合タンパク質に焦点を当てつつ、植物と塩との関係について再検討することを目的とした。塩は主としてNaClを中心としたが金属塩についても視野に入れた。本研究では、(1)塩の存在が植物にとってプラスの効果をもたらす可能性、(2)金属イオン輸送体の変異がイオン組成に与える影響、(3)新しいNa⁺輸送システムの存在の可能性、(4)Na⁺/H⁺対向輸送体の新しい生理機能について検討した。ここでは塩のプラス面での効果が確認できた項目(1)について概説する。

金属カチオンセンサータンパク質の研究の過程で、塩の存在が植物の銅イオン耐性を高めることを見出した。銅イオンは、多様な酵素の構造と機能を支える微量必須元素である。一方、過剰な銅はSH酵素のジスルフィド結合を促進して失活させるなど細胞毒となる。細胞内では各種のタンパク質や有機酸と結合した状態で存在し、過剰な銅イオンは液胞の中に輸送されて隔離されていると考えられている。銅の障害反応をみるときに、NaClを共存させてその影響についても分析した。0.1 mMの過剰な銅が存在する条件では、50 mMのNaClを同じ培地に加えると加算的な障害反応が見られた。しかし、塩の濃度を100 mMに上げると銅による生育阻害が顕著に軽減された。地上部生重量、根の伸長、葉の緑色の強さ、いずれにおいても、0.1 mMの銅の有無による差異はほとんど見られなかった。この結果は、高濃度の銅イオンに対する耐性は、NaClを100 mM濃度で添加することにより顕著に向上することを意味している。

塩による銅障害の軽減の生化学的な機構と意義については、より詳細な研究が必要である。現時点では、高濃度のNaClの存在による、1)根からの銅取込みの抑制、2)ascorbate oxidaseやsuperoxide dismutaseなどのストレス対応型遺伝子の誘導、3)銅イオンの液胞への隔離機能の亢進、などの機構が推測できる。本実験では、高濃度のNaClおよびCuSO₄を2週間処理した状態での植物を試料として分析した。したがって、短期的な変化ではなく、植物がストレス対応型に変換する比較的長期間の対応状況を観察したことになる。100 mM NaClによっていずれの遺伝子発現に変化が生じているのか、現在、DNAマイクロアレイ法によって検討を進めている。

1. はじめに

高塩濃度の土壌に生育する植物は、異常浸透圧および塩による化学的な障害を受け、生育に支障をきたす場合が多い。塩耐性植物の多くは、塩ストレスに対して適合溶質の合成と蓄積、特殊な細胞あるいは組織への塩の排出、細胞質の塩の液胞への隔離等の防御機構を通して耐性を発揮している。

本研究では、これまで筆者らが研究を積み重ねてきたプロトンポンプ、金属輸送体、金属結合タンパク質に焦点

を当てつつ、植物と塩との関係について再検討することを目的とした。塩は主としてNaClを中心としたが金属塩についても視野に入れた。本研究では、(1)塩(NaCl)の存在が植物にとってプラスの効果をもたらす可能性、(2)金属イオン輸送体の変異がイオン組成に与える影響、(3)新しいNa⁺輸送システムの存在の可能性、(4)Na⁺/H⁺対向輸送体の新しい生理機能について検討した。ここでは上記4点について、研究の内容、経緯と結果を報告する。なお、塩のプラス面での効果が確認できた項目(1)について重点

をおくこととした。

2. 塩の存在は過剰な銅に対する植物の耐性を高める

銅イオンは、ミトコンドリアの電子伝達鎖の複合体を含めて多様な酵素の構造と機能を支える微量必須元素である。植物では、光合成電子伝達に關与するプラストシアニン、酸化還元調節あるいは酸化ストレスに寄与するアスコルビン酸オキシダーゼやスーパーオキシドジスムターゼなどの補因子として必須機能を担っている。一方、過剰な銅はSH 酵素のジスルフィド結合を促進して失活させ、活性酸素を発生させる、あるいは脂質の過酸化、DNA やタンパク質に傷害を与え、非特異的に生体膜を損傷して細胞からの溶質の漏出をもたらす、細胞毒となる。細胞内では、各種の金属結合タンパク質や有機酸と結合した様態で存在し、過剰な銅イオンは液胞の中に濃縮・隔離されていると考えられている。

我々は、この銅イオンを結合する新規な可溶性タンパク質をシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*; strain, Columbia-0)に見出した。親水性タンパク質でありながら、N端を介してミスチル化されており、銅イオンの他にカルシウムも結合することから、PCaP1 と名づけた (plasma membrane cation-binding protein-1)。PCaP1 の銅イオンに対する Kd は 10 μ M であり 1 分子当たり 6 個の銅イオンを結合する (J. Biochem. 144: 487-497, 2008)。この PCaP1 の生理機能は未知である。PCaP1 の生理機能を解明する目的で、PCaP1 遺伝子の T-DNA 挿入破壊株 (KO) を作製し、高濃度 (0.1 mM) の銅に対する耐性を分析した。この時、銅イオンのみでなく NaCl を共存させて、その影響についても分析した。

図 1 に示されているように、過剰な銅の存在はシロイヌナズナの生育を著しく阻害する。たとえば、通常の培地 (銅イオン濃度は 0.1 μ M) で 2 週間生育させた幼植物体を銅イオン高濃度 (0.1 mM) の培地でさらに 2 週間生育させると、地上部の生重量は 30~50% 低下する (図 1)。シロイヌナズナは比較的耐塩性のある植物であり、50 mM の NaCl でも抑制はされるものの生育可能である。したがって、図の写真のように、過剰な銅がなければ、50 mM の塩が存在しても植物は比較的順調に生育する。しかし、過剰な銅が存在する条件では、50 mM の NaCl を同じ培地に加えると、加算的な障害反応が見られ、植物の根の伸長は抑制

され、地上部生重量も生育は抑制され、かつ黄化の度合いが著しくなる。つまり、過剰な銅イオンにより植物の生育は著しい障害を受ける。

しかし、塩の濃度を 100 mM に上げると、過剰な銅による生育阻害が顕著に軽減された (未発表, 図 1)。50 mM NaCl は銅耐性を向上させることはないが、100 mM にすると生重量は NaCl を添加しない場合に比べて顕著に多く、かつ緑色も強い。地上部生重量、根の伸長、葉の緑色の強さ、いずれにおいても、100 mM の NaCl 存在下では、0.1 mM の銅の有無による差異はほとんど見られなかった (図 1)。この結果は、0.1 mM という高濃度の銅イオンに対する耐性は、NaCl を 100 mM 濃度で添加することにより顕著に向上することを意味している。なお、150 mM 以上の NaCl を添加した場合は、銅の有無に関わらずシロイヌナズナの生育が著しく低下し比較検討が困難であった。

本来目的とした PCaP1 遺伝子の欠失による影響をみると、この遺伝子の欠損株においても、100 mM の NaCl は銅による生育遅延を緩和させる効果が見られた。緩和の度合いは野生株よりも小さかった。したがって、過剰な銅に対する耐性に PCaP1 は幾分かの寄与をしているが、塩による生育障害の緩和効果には PCaP1 が直接関与しているわけではないと結論づけられる。

塩による銅障害の軽減の生化学的な機構と意義については、より詳細な研究が必要である。現時点での推測が許されるのであれば、次の仮説が考えられる。(1) 高濃度の NaCl の存在が、根からの銅イオンの取込みを抑制する。これは量的、浸透圧的な効果による銅イオンの輸送速度の低下と、銅イオン輸送体の機能が高濃度 NaCl により阻害される二つの効果の加算的な結果である。(2) 100 mM の NaCl によって、ascorbate oxidase や superoxide dismutase などのストレス対応型遺伝子が強く誘導され、過剰な銅による細胞障害が軽減される。(3) NaCl によって、銅イオンの液胞への隔離機能が亢進する。本研究で観察したのは、高濃度の NaCl あるいは CuSO₄ で 2 週間処理した状態での植物である。したがって、短期的変化あるいは初期応答ではなく、植物が体制をじっくりとストレス対応型に変換するプロセスを見たことになる。上記の三つの可能性が同時あるいは時期をずらしながら寄与している可能性もある。100 mM NaCl によっていずれの遺伝子発現に変化が生じているのか、現在、DNA マイクロアレイ法によって検討を

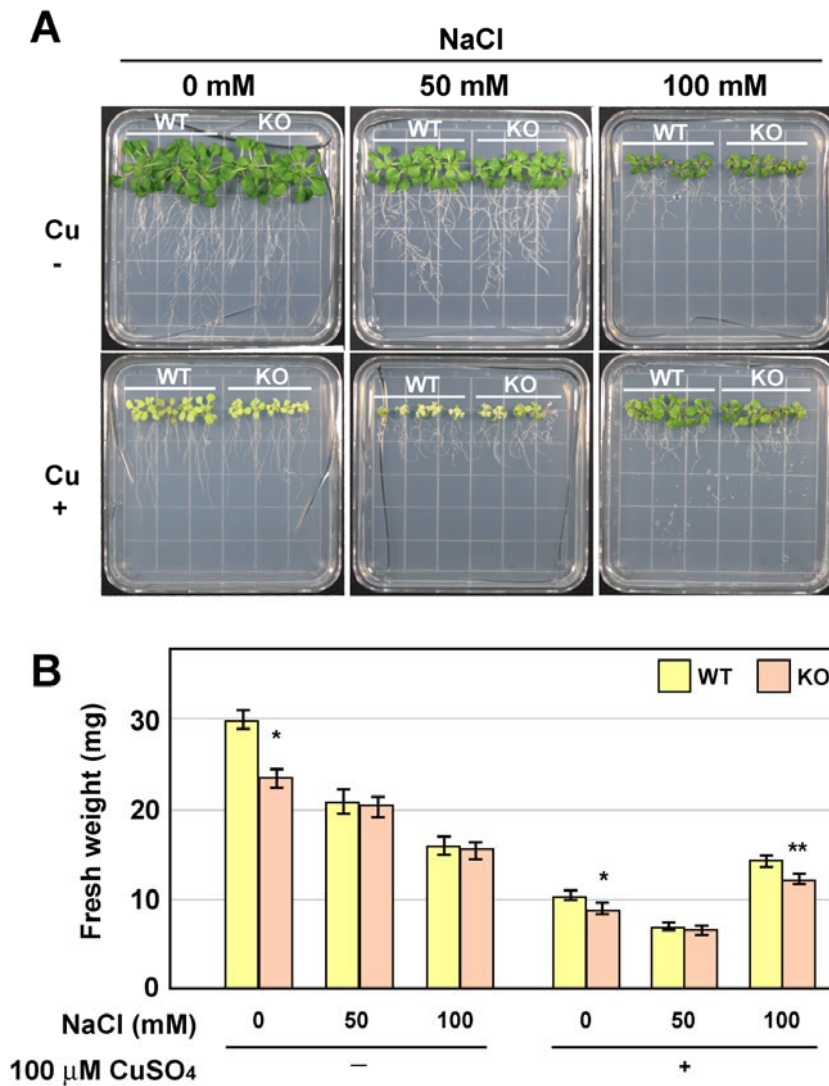


図1. NaClの存在が過剰な銅イオンに対する耐性に与える影響について。通常のMS培地には0.1 μMのCuSO₄が含まれているが、これに100 μMのCuSO₄を加えた条件を銅過剰な条件として検討した。通常の培地にて1週間生育させた*Arabidopsis thaliana*の野生株(WT)およびPCaP1の遺伝子欠失株(KO)を、記載した濃度(0, 50, 100 mM)のNaClとCuSO₄を添加した培地に植え替えて2週間育て、生育状況を写真に記録し(A)、地上部の生重量を測定し、個体1個当たりの数値を示した(B)。

進めている。

3. 金属(亜鉛)イオン輸送体の変異がイオン組成に与える影響

特定のイオンの輸送体が、植物体内のイオンバランスに与える影響について検討した。具体的には、植物の液胞膜で亜鉛輸送体MTP1(metal tolerance protein-1)を対象とした。シロイヌナズナのMTP1は、液胞膜に局在し、細胞質の亜鉛イオンを液胞内のプロトンと交換し、液胞内に亜

鉛を能動輸送する輸送体である(J. Biol. Chem., 283: 8374-8383, 2008)。MTP1が高濃度亜鉛による生理障害を防ぐために必須であることは、以前に当研究室で解明し報告した。そこで今回は、このMTP1遺伝子を欠失した植物体はどのような表現型を示すかを解析した。その目的は、MTP1遺伝子の欠失が、植物体において亜鉛含量を低下させているのかを確認するためであり、他のイオンの含量に影響を与えるのか否かを明らかにするためである。さらに、MTP1の存在によって隠れて見えない、他の亜鉛耐性

機構を見ることができであろうとの予測もあった。

事実、シロイヌナズナ (*A. thaliana*; strain, WS) の野生株は 0.5 mM の $ZnSO_4$ による発芽抑制や生育不良は見られないが、*MTP1* 遺伝子を欠失した *mtp1* 株は同濃度の $ZnSO_4$ によりシュートと根の生重量が野生株の半分に低下した。この生理障害は亜鉛を培地から除去することにより生じなくなった。この現象は、*mtp1* 株での根の伸長と停止という場面で著しい。過剰亜鉛存在下では、根での細胞分裂と細胞伸長が停止した。これは細胞の壊死ではなかった。*mtp1* 株を過剰亜鉛に曝すと、根端部分で活性酸素の発生が確認できた。活性酸素発生部位は、亜鉛を細胞質から排除する膜輸送体、さらにはフィトケラチンのように金属イオンをキレートするタンパク質の遺伝子が発現しない特殊な組織である。したがって、根端は *MTP1* の遺伝子欠失により、亜鉛障害のダメージを最も受けやすい部位とも言える。

活性酸素が発生しても細胞が死に至らないことから判断して、この活性酸素が細胞の危機伝達シグナルとなって、亜鉛ホメオスタシス関連遺伝子と酸化ストレス応答遺伝子を誘導していると推定される。実際、根全体では、過剰亜鉛の条件で、亜鉛を細胞質から排出する metal-transporting ATPase、細胞質の CuZn-superoxide dismutase の発現が促進され、逆に亜鉛取込みに関わる細胞膜輸送体の発現が顕著に低下した。いずれも亜鉛ストレス適応的な変化と考えられる。

こうした現象に関連して、植物体における元素組成を詳細に分析した。研究の対象が亜鉛輸送体にあるため、通常培地 (亜鉛 30 μM) と亜鉛過剰培地 (亜鉛 110 μM) で生育させた植物を比較した。この亜鉛過剰培地で生育した場合でも、植物は通常培地と同程度に正常に生育する。13 種の元素含量を表 1 にまとめた。通常培地での野生型のシュート (茎と葉) をみると、分析した中ではカリウムの含量が最大であり、リンとイオウがそれに続き、ナトリウムとマグネシウムは含量のオーダーが一桁低い値である。一方、同じ野生型の根を見ると含量はリン、イオウ、カリウムの順になっている。カリウムが減った分を補っているのはリンとナトリウムである。亜鉛を添加することによって亜鉛含量が 5 倍に増加しているが、これは亜鉛が必須微量元素であり植物体内に蓄える機能があることを示している。亜鉛添加は他の元素含量に影響しないのであろうか？ シュ

ートをみるとリンとイオウ、銅が 3 倍近く増加した。亜鉛がリン酸、硫酸銅イオンの膜輸送システムを活性化するのであろうか。肥料の効率吸収などの効果が見られるのか、今後の検討課題である。シュートでのナトリウム、カルシウム、カリウム、マンガンも 10% 程度の増加が見られた。こうした変化はシュートで顕著であり、根での変化は小さい。

他の元素をみると、植物にとっての不必要なアルミニウムの含量が 15 倍増大している。アルミニウムは地殻元素 3 番目に多く、酸性環境でイオン化して水溶性となり、植物の生育を抑制する。酸性土壌の主因がこのアルミニウムの溶出である。亜鉛の存在が細胞への流入を促進している可能性があるが、その機構は未解明である。

液胞への亜鉛能動輸送を司る *MTP1* の遺伝子を欠失した *mtp1* 株での元素含量の変化をみる。当然であるが、根での亜鉛含量が半減した。測定の実差を考慮すれば、大きな差異の見られる元素はなかった。唯一、根でのホウ素の含量が著しく低下した。ホウ素の大部分は細胞壁に存在するが、*mtp1* 株の根の形態に顕著な変化は見られなかった。*mtp1* 株に過剰亜鉛を与えたときに見られる顕著な変化をみると、リン、イオウ、銅の顕著な増大は野生株と同様であり、カリウム、鉄、カルシウム、ナトリウム、マンガンの上昇がより顕著であった。

今回の元素比較により、亜鉛選択性の高い *MTP1* の遺伝子欠失が他の複数の元素の組成にも顕著な変化をもたらすこと、培地における亜鉛濃度のみを変えることによって、連動するように他の複数の元素の組成が変化することが明らかになった。想定できる理由として、(1) 植物外の金属イオンが、植物への各種イオンの取込み能力に影響を与える、(2) 植物内に入った金属イオンが、各種イオンの組織間移動を変化させる、(3) 細胞内に入った金属イオンが、細胞内あるいはオルガネラ内のイオンバランスを変化させる、などがある。十分な実験的知見が蓄積すれば、元素組成あるいはイオン組成のバランスについて統一性のある法則が見出せるものと期待される。

4. 新しい Na^+ 輸送システムの存在について

当研究室ではプロトン (H^+) を能動輸送するピロホスファターゼ (H^+ -translocating pyrophosphatase, H^+ -PPase) の研究を積み重ねてきた。具体的な対象生物は陸上植物と放線菌である。これまで H^+ 特異的なイオンポンプと考えられ

表 1. シロイヌナズナ野生株および *mtp1* 株の実生の根とシュートにおける金属組成

	Root				Shoot			
	WT		<i>mtp1-1</i>		WT		<i>mtp1-1</i>	
Additional 80 μ M ZnSO ₄	-	+	-	+	-	+	-	+
Zn μ g/g	207 \pm 32	1,060 \pm 170	116 \pm 20	387 \pm 6	72.2 \pm 2.4	362 \pm 11	66.4 \pm 1.6	402 \pm 23
P mg/g	41.4 \pm 2.4	36.9 \pm 5.9	45.3 \pm 10.0	33.7 \pm 1.3	16.5 \pm 1.1	44.3 \pm 2.5	16.6 \pm 0.8	57.6 \pm 4.2
S mg/g	38.2 \pm 1.8	36.5 \pm 5.6	43.8 \pm 9.8	31.2 \pm 1.6	15.2 \pm 0.6	44.9 \pm 2.6	16.0 \pm 0.5	56.9 \pm 4.1
K mg/g	24.5 \pm 1.6	25.0 \pm 3.1	28.9 \pm 7.5	17.9 \pm 0.6	48.6 \pm 3.7	53.3 \pm 5.0	51.7 \pm 3.2	65.8 \pm 5.7
Fe mg/g	3.49 \pm 0.18	2.62 \pm 0.51	3.79 \pm 0.80	3.05 \pm 0.22	0.15 \pm 0.01	0.24 \pm 0.01	0.15 \pm 0.01	0.27 \pm 0.01
Ca mg/g	3.04 \pm 0.12	2.60 \pm 0.36	3.68 \pm 0.46	3.17 \pm 0.28	4.49 \pm 0.09	5.69 \pm 0.16	4.60 \pm 0.05	7.23 \pm 0.26
Na mg/g	2.62 \pm 0.17	2.69 \pm 0.41	2.88 \pm 0.75	1.70 \pm 0.04	1.64 \pm 0.14	1.92 \pm 0.18	1.73 \pm 0.14	2.81 \pm 0.23
Mg mg/g	1.80 \pm 0.17	1.56 \pm 0.21	1.85 \pm 0.35	1.30 \pm 0.05	1.88 \pm 0.08	2.44 \pm 0.08	1.87 \pm 0.05	3.13 \pm 0.17
Cu μ g/g	10.3 \pm 0.4	7.94 \pm 1.08	13.6 \pm 4.0	10.9 \pm 0.7	1.45 \pm 0.03	5.22 \pm 0.41	1.32 \pm 0.09	7.73 \pm 0.40
Mn μ g/g	94.7 \pm 4.4	99.7 \pm 16.5	86.6 \pm 14.1	97.1 \pm 4.1	138 \pm 2	163 \pm 8	139 \pm 1	193 \pm 9
B μ g/g	64.5 \pm 19.0	9.00 \pm 2.10	n.d.	n.d.	30.3 \pm 1.2	13.9 \pm 2.7	33.2 \pm 0.4	11.2 \pm 2.1
Cr μ g/g	2.9 \pm 0.4	1.8 \pm 0.4	2.9 \pm 0.4	2.6 \pm 1.0	0.62 \pm 0.02	1.1 \pm 0.1	0.64 \pm 0.02	1.4 \pm 0.1
Al μ g/g	555 \pm 230	336 \pm 189	494 \pm 227	379 \pm 209	11.6 \pm 0.8	174 \pm 66	11.0 \pm 1.2	80.7 \pm 3.1

シロイヌナズナの野生株(WT)とMTP1の遺伝子欠失株(*mtp1*)を通常の培地(30 μ MのZnSO₄を含む)で10日間生育し、これを終濃度80 mMのZnSO₄を含む高亜鉛培地に移して10日間生育させた。その後、シュートと根を乾燥させ、ICP-AES法による金属含量測定に供した。なお、土壌からの金属成分の混入をさけるために水耕栽培した植物の根を試料とした。シュートは寒天培地での植物より調製した。値は乾燥組織当たりのデータであり、3回の実験の平均値として示した。n.d.は検出限界以下であることを意味する。

てきたが、フィンランドの研究グループは、高度好熱菌 *Thermotoga maritima*、中度好熱菌 *Moorella thermoacetica*、好熱菌 *Methanosarcina mazei* のH⁺-PPaseを詳細に解析して、これらの酵素がH⁺ではなくNa⁺を能動輸送するナトリウムポンプであることを発表した。当研究室で対象にしている放線菌のH⁺-PPaseはNa⁺の存在によって活性が増大することから、Na⁺輸送能をもつ可能性があると推測した。具体的には、H⁺-PPaseの遺伝子を欠いた放線菌株と野生株を、NaClを含む培地で培養し生育の差異を検討した。NaCl濃度を上げることにより放線菌の生育速度は低下するが、野生株と変異株の間にはまったく差異はみられず、放線菌酵素がNa⁺-PPaseである可能性はないと判断した。

しかし、植物に好熱菌由来のNa⁺-PPaseを遺伝子導入したとき、この酵素が細胞膜あるいは液胞膜に局在化すれば、植物の耐塩性が向上するものと期待できる。

5. Na⁺/H⁺ 対向輸送体の新しい生理機能について

植物は複数種のNa⁺/H⁺対向輸送体(Na⁺/H⁺ exchanger, NHX)をもつが、その一つNHX1は液胞膜に局在する。このNHX1はその名のとおりNa⁺の輸送体として見出されたが、K⁺も輸送し得る。アサガオの開花プロセスでは、液胞と細胞の増大により花が開き、かつ液胞内のアントシアニンの色調が赤から青に変化することが知られている。色調変化は、液胞内pHが酸性から弱アルカリに変化(pH 6.6

から7.7に)することが解明されている。そこでこの液胞pH変化における液胞膜のプロトンポンプとNHX1の役割について、数年間共同研究(名古屋大学吉田久美准教授)を積み重ねた結果、生理的な輸送基質としてNa⁺ではなくK⁺がNHX1により液胞内に輸送され液胞内に蓄積することが明らかになった。開花中の花弁ではNHX1のmRNA量とタンパク質量が増大しており、NHX1をエネルギー的に駆動するプロトンポンプの活性も高い。液胞内へのK⁺の蓄積が液胞pHの上昇をもたらし、その結果花弁が青くなることが解明された。

ジャガイモから耐塩性のあるカルスを選抜し、その耐塩性の機構を共同研究として進めた(University of Minho, Portugal)。その結果、高塩濃度下で培養したカルスでは、液胞膜H⁺-PPase(上述)のタンパク質量と活性が上昇し、かつ液胞膜でのN⁺/H⁺対向輸送の活性が顕著に増大することが明らかとなり、液胞のNa⁺能動輸送と隔離機能が、耐塩性に大きく貢献していることを証明できた。

謝辞

財団法人ソルト・サイエンス研究財団による研究助成により、塩に関する多面的な実験に取り組むことができたことを明記し、深謝申し上げる。

発表した関連論文

- (1) Kawachi, M., Kobae, Y., Mimura, T., and Maeshima, M. (2008) Deletion of a histidine-rich loop of AtMTP1, a vacuolar Zn²⁺/H⁺ antiporter of *Arabidopsis thaliana*, stimulates the transport activity. *J. Biol. Chem.*, 283, 8374–8383.
- (2) Nagasaki, N., Tomioka, R., and Maeshima, M. (2008) A hydrophilic cation-binding protein of *Arabidopsis thaliana* AtPCaP1 is localized to plasma membrane via N-myristoylation and association with phosphatidylinositol phosphates, PtdIns(3,4,5)P₃ and PtdIns(3,5)P₂. *FEBS J.*, 275, 2267–2282.

- (3) Lee, M., Choi, Y., Burla, B., Kim, Y.-Y., Jeon, B., Maeshima, M., Yoo, J.-Y., Martinoia, M., and Lee, Y. (2008) The ABC transporter AtABCB14 is a malate importer and modulates stomatal response to CO₂. *Nature Cell Biology*, 10, 1217–1223.
- (4) Nagasaki, N., Miyano, M., and Maeshima, M. (2008) Protein chemical properties of plasma membrane associated cation-binding protein AtPCaP1 in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biochem.*, 144, 487–497.
- (5) Kamiya, T., Tanaka, M., Mitani, N., Ma, J.F., Maeshima, M., and Fujiwara, T. (2009) NIP1;1, an aquaporin homolog, determines the arsenite sensitivity of *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.*, 284, 2114–2120.
- (6) Queirós, F., Fontes, N., Silva, P., Almeida, D.P.F., Maeshima, M., Gerós, H., and Fidalgo, F. (2009) Activity of tonoplast proton pumps and Na⁺/H⁺ exchange in potato cell cultures is modulated by salt. *J. Exp. Bot.*, 60, 1363–1374.
- (7) Kim, Y.-Y., Choi, H., Segami, S., Cho, H.-T., Martinoia, E., Maeshima, M., and Lee, Y. (2009) AtHMA1 contributes to detoxification of excess Zn(II) in *Arabidopsis*. *Plant J.*, In press (July issue).
- (8) Kawachi, M., Mori, H., Kobae, Y., Tomioka, R., and Maeshima, M. (2009) A mutant strain *Arabidopsis* that lacks vacuolar membrane zinc transporter MTP1 revealed the latent tolerance to excessive zinc. *Plant Cell Physiol.*, In press (June issue).
- (9) Yoshida, K., Miki, N., Momonoi, K., Kawachi, M., Katou, K., Okazaki, Y., Uozumi, N., Maeshima, M., and Kondo (2009) Synchrony between flower opening and petal-color change from red to blue in morning glory, *Ipomoea tricolor* cv. Heavenly Blue. *Proc. Japan Acad.*, (Ser. B, Physical and Biological Sciences). In press (June issue).

No. 0822

Studies on Vacuolar Membrane Proton Pumps and Metal-Cation Sensing Proteins Involving in Salt Tolerance in Plants

Masayoshi Maeshima

Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University

Summary

We investigated relationship between salt and plants through proton pumps, cation transporters, and metal-cation-binding proteins. We could carry out several projects with support by SSRF; (1) possible positive effect of salt on plant growth, (2) effect of the lack of a metal transporter on the balance of metal elements in plants, (3) possibility of novel sodium transport system, and (4) additional role of vacuolar membrane Na^+/H^+ exchanger. Here we describe briefly on the project (1).

During the study on metal-cation-binding proteins, we found that NaCl at high concentration conferred the resistance to copper toxicity in *Arabidopsis thaliana*. Copper is toxic for plants at excess concentrations, although copper is an essential microelement. Many proteins and organic acids bind Cu^{2+} and excess Cu^{2+} is incorporated into vacuoles in plants. We tested the effect of NaCl on the copper tolerance of *A. thaliana*. CuSO_4 at 0.1 mM notably suppressed the growth of plants. When NaCl was added at a concentration of 100 mM to Cu^{2+} -containing medium, plants grew well compared with that without NaCl (unpublished data). At present we cannot explain biochemical mechanism of this phenomenon. However, there are some possible explanations: namely, suppression of Cu^{2+} -uptake system, induction of several genes involving stress responses, such as CuZn-superoxide dismutase, and activation of the vacuolar Cu^{2+} -uptake system by NaCl. Now we carry out DNA microarray analysis to determine genes induced by NaCl.