

トマトとイヌホウズキのキメラの代謝的研究

その3 可溶性蛋白質の性質について

熊谷孝美 宇佐美正一郎

著者達はこれまで、トマトとイヌホウズキの接木によつて作ったキメラの代謝生理学的一側面として、葉や茎の組織がもつ呼吸能を対照植物と比較しながら研究してきた。その結果、キメラを構成する二種類の組織即ちトマトとイヌホウズキに起源をもつ各組織がキメラという特殊な植物の場に共存することによつて、対照植物の組織とある点において異なる性質をもつことを明らかにした⁽¹⁻³⁾。対照植物であるトマトとイヌホウズキは異属の植物であり、形態学的にかなりの差異がある点からみても、酵素蛋白質を含めてその構成蛋白質には何等かの違いがあつて然るべきである。これら異属の植物に起源をもつ組織が、キメラという一個の独立した植物体内に共存した場合、それぞれの組織の構成蛋白質がいかなる状態で存在しているかを追求することは興味のある問題と思う。以上の観点のもとに、この論文では、蛋白質の性質を解明する一手段として、葉と茎の可溶性蛋白質の種々の pH における凝固性を比較的に研究したものである。ここに短報的に報告する。

材料と方法

実験材料は、同紀要掲載の論文(2)と同じものを用いた。発育 age はすべて2~3ヶ月の同じものを用いた。葉はなるべく上部の若いものを適宜に選んで主脈を除いた部分を用いた。

茎は頂部より約20cmの長さに切り、葉柄を基部から切断除去した。葉茎共に少くも二株から採つた材料を実験に用いた。

2~3gの材料に5mlの3% NaCl を加えて海砂と共に乳鉢ですりつぶし、4層のガーゼで濾過した液を1,200 r.p.m. で約10分間遠心分

離し、その上澄液に水を加えて、葉の場合には100 ml、茎の場合は15 ml とした。(葉の蛋白質量は茎のその7~8倍であつた)。この溶液を1 ml づつ試験管に12本とり、11本には種々の pH (3.6~5.6) の M/5 酢酸緩衝液を1 ml づつ加え、残りの1本には対照として水1 ml を加えて約1時間0~2°C 中で冷却放置した後、再び1,200 r.p.m. で10分遠心分離して上澄液中の N 量を Lowry 法⁽⁴⁾ で定量し、最初の N 量からの減少量を沈澱した蛋白質量とした。以上の処理で上澄液に含まれる蛋白質は、アルブミン及びグロブリンであると考えられる。なお、実験は同じものについて少くとも二回行ない殆んど一致する結果を得た。データーの表現は、各 pH 中沈澱量の最大であつたものを沈澱率100%(等電点)、全く沈澱しなかつたものを0%として比較的に示した。

結 果

1. 葉の可溶性蛋白質の凝固性

葉の場合にはキメラの組織を二つに分離できなかつたので全組織をそのまま用いた。図1はその結果を示すが、対照植物であるトマトとイヌホウズキの沈澱率の様式が著しく異つてゐることは注目すべき点である。即ち、蛋白質の等電点と考えられる最大の沈澱率を示した pH はトマトで3.8、イヌホウズキでは4.6であつた。又、トマトでは pH 5.6 で全く沈澱しなかつたのに対して、イヌホウズキではなお10%の沈澱率を示した。換言すれば、同じ沈澱率を示す pH がトマトよりイヌホウズキの方がアルカリ側にずれていることである。これに対してキメラは全体的にはトマトのカーブの様式に近い型を示

したと云えるが、等電点がトマトより0.2だけアルカリ側にずれていること、pH 5.6ではなお5%の沈澱率を示したこと、及びpH 5.2以上で

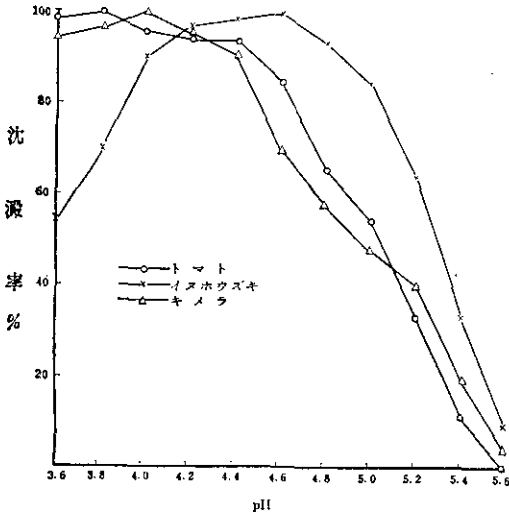


図1 葉の可溶性蛋白質の各pHにおける凝固率

はトマトよりアルカリ側にカーブがあることなどは、キメラの葉の組織がイヌホウズキの組織の影響を受けていることを暗示する現象である。しかし、pH 4.4と5.0の間においてトマトよりむしろ酸性側にカーブがずれている点は上の推論に反する現象であった。

2. 茎の可溶性蛋白質の凝固性

茎の場合には、キメラを構成する二種類の組織を分離して、それぞれ対照植物の対応する組織と比較できるが、その前段階としてこの実験では分離しない茎の組織をそのまま用いて、可溶性蛋白質の各pHにおける凝固性を比較した。図2はその結果を示す。

葉の場合にはトマトとイヌホウズキの等電点が著しく異っていたが、茎では全く一致し、キメラも同じ等電点を示した。(pH 3.8) このように同じイヌホウズキであつても茎と葉の蛋白質の等電点が異なることは興味ある現象である。等電点以外のpHの部分では、大体の傾向として三者共に葉の場合と似た様式を示した。即ち、イヌホウズキが全体的にアルカリ側にカーブが片寄っていること、キメラのカーブがpH 4.1~4.7の範囲内でトマトより酸性側にあること、及び

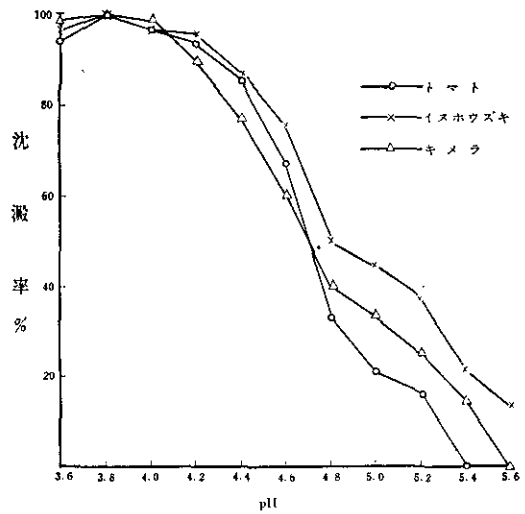


図2 茎(分離しない全組織)の可溶性蛋白質の各pHにおける凝固率

pH 4.7以上ではトマトとイヌホウズキの中間型を示したことなどである。全く沈澱しないpHはトマトで5.4、キメラが5.6であるのに対してイヌホウズキはpH 5.6でもなお13%の沈澱率を示した。

3. トマトとキメラの茎内層の可溶性蛋白質の凝固性

キメラの内層はトマト起源の組織であり、外層(2細胞層)はイヌホウズキ起源であるから同じ起源の組織同志で比較するには、トマトとキメラの各内層、及びイヌホウズキとキメラの

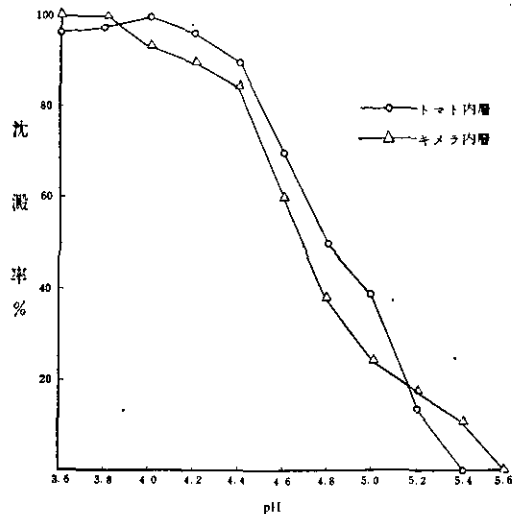


図3 トマトとキメラの茎内層の可溶性蛋白質の各pHにおける凝固率

各外層で比較すればよいわけであるが、後者はこの実験に用いる程の材料を得ることができなかつたので、止むを得ず前者のみを用いて比較した。(図3)

分離しない茎の組織を用いた前の実験ではいずれの植物も pH 3.8 に等電点があつたが、トマト内層の等電点が pH 4.0 にあつたことはうなづけない結果であつた。しかし、pH 3.8 との沈澱率の差はわずか 2% であつた点からみて、あるいは実験誤差に原因するものかも知れない。

カーブの全般的な様式は、分離しない茎を用いた時のトマトとキメラの示すカーブの關係に似ていることが認められる。特に沈澱率 0% の pH がトマトで 5.4、キメラで 5.6 であつたことは全く一致した結果である。しかし、pH 3.8~5.2 の広い範囲においてキメラのカーブが酸性側にかなりずれている現象、言い換えれば、その範囲内の同じで PH 沈澱する蛋白質量がトマトに比べて少いことは、分離しない組織の場合に比較してかなり強調された形で現われている。その原因はともかくとして、トマトに起源をもつキメラ内層の可溶性蛋白質の性質がトマト内層のそれと異つた様式を示したことは、キメラという特殊な植物の場にあつて、その組織が本来備えている蛋白質の生理的特質を何等かの点で異つたものに変えられて存在することを暗示するものである。

考 察

トマトとイヌホウズキという異属の植物に起源をもつ両組織が共存して一個の独立した植物(キメラ)を形成した場合、それぞれの組織が本来の生理的性質をそのまま具備して独立的に存在することは一寸考え難い。それぞれの組織細胞の遺伝子構成が本来のものとは異なるにしても、相接して共存する以上、その組織間に相関連した代謝が行なわれるのは当然考えられることであり、その結果としてお互いに相互作用を及ぼし合つて本来のものとは異つた生理的性質をもつ組織に変化する可能性は十分あると考えられる。その可能性を仮定してこれま

でキメラの研究を続けて来た。前報(2)においては、キメラの茎の呼吸能が両対照植物のそれより高いことなど以上の仮定を肯定する結果を得ている。

この報告では、その解明の手段を可溶性蛋白質の種々の pH における凝固性に求めた。如何なる解析手段を用いる場合にもキメラの組織のもつ性質を完全に解明するには、キメラを構成する二種類の組織を分離してそのそれぞれについて対照植物と比較的に研究することが望ましい。しかし葉を実験材料とする時にはその分離は技術的に困難であるし、茎の場合にも外層の組織は量が少く、少量で足りる特殊な実験の場合以外は仲々用いることができない。この実験においても最後のトマト、キメラの茎内層を用いた実験以外は分離しない組織をそのまま用いた。しかし分離しない組織を用いた場合でも、内層に比べて外層が量的に著しく少いので、その結果から凡そのことは推定できると考える。

植物の組織細胞内において機能に關与している蛋白質の大部分は可溶性蛋白質と考える。

この実験では、稀薄な食塩溶液に可溶性蛋白質を集めたのであるから、アルブミンとグロブリンが含まれる筈であり、これらが細胞内においてその生理的機能に主要な役割をもつ蛋白質であると推定される。

実験結果から明かなように、葉、茎いずれの場合もイヌホウズキはトマトに比べて、よりアルカリ側で沈澱する蛋白質が多かつた。特に葉の場合に著しかつた。これに対してキメラは、ある pH 範囲(ほぼ 4.2~5.0 の間)ではトマトより更に酸性側にカーブが片寄り、それよりアルカリ側ではトマトとイヌホウズキの中間型を示す傾向が認められた。分離しない組織を用いた図 1、2 の結果だけについていえば、上述の如くキメラの外層(イヌホウズキ起源)の組織は内層(トマト起源)の組織に比べて量的にかなり少いわけであるから、もしキメラを構成する両組織が起源組織本来の性質をそのまま保持していると仮定すれば、キメラの沈澱率カーブの様式はトマトのそれと殆んど一致した型を

示すか、あるいは、わずかにイヌホウズキ起源の組織に影響されたとしても、トマトの沈澱率カーブと平行して少しアルカリ側に片寄つた型を示す筈である。しかるに結果はそうではなく pH 5.0 付近でトマトのカーブと交差している点からみて、キメラの両組織の蛋白質が本来のものとは何等かの点で異つた性質のものに変つていないかと考えられる。又、互に対応するトマトとキメラの各茎内層の組織と比較した図 3 の結果は、そのことを更に明確に立証していると云える。これらの両組織は起源の同じものであるから、キメラ内層の組織が本来のままの性質を有するならば両者は殆んど同じ沈澱率を示すべきであるが、図 1、2 のトマトとキメラの関係に似た、しかも、キメラのカーブがトマトのそれより酸性側に片寄る pH の範囲が広くなつている点が強調された様式を示した。

キメラとイヌホウズキの各外層の組織で比較した実験がないことと、実験に用いた pH がある限られた範囲内だけであつたので推論の域を出ないが、以上のことからおよそ次のことが考えられる。キメラという特殊な植物の場にあつて、トマト起源の組織が本来のものと同つた性

質を有するものに変つていること、即ち、pH 4.0 ~ 5.0 の範囲では同じ pH において沈澱する蛋白質がトマトより少く、それ以上の pH では逆に多くなつていることである。分離しない茎組織での結果(図 2)もこの推論を支持していると考えられる。即ち、その場合のキメラはイヌホウズキ起源の組織と一緒に含んでいるから、その影響で図 3 のキメラの沈澱率カーブが全体的にアルカリ側にわずかだけ移動したような型のものになつたと考えられる。勿論、以上のことはイヌホウズキ起源であるキメラ外層の組織が如何なる性質のものになつているかがわからないから断言はできないが、同じ pH において沈澱する蛋白質量は少くともトマトより多いと推定される。

現在更に他の手段を用いてキメラの蛋白質の性質を追究中である。

文 献

1. 熊谷, 宇佐美, *Plant and Cell Physiology* (1964). 投稿中.
2. 熊谷, 宇佐美, *北星短大紀要*, 9, 21~26 (1963).
3. 増淵, 熊谷, *核と細胞質*, 2, 12, (1961).
4. Lowry, O. H., et al, *Jour. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951).