

## トマトとイヌホウズキのキメラの代謝的研究

### その5 イオン交換セルローズによる可溶性蛋白質の分画

熊 谷 孝 美

著者はこれまで、トマトとイヌホウズキの接木によつて作つた周縁キメラの代謝生理的性質を追求してきた<sup>(1-3)</sup><sup>(4)</sup>。前報においては、対照植物であるトマトとイヌホウズキの葉及び茎の可溶性蛋白質の性質をイオン交換セルローズによる分画パターンによつて比較した。

その結果、葉においても茎においても両植物の間で質的に異なる分画のあることを認めた。この論文においては、これら対照植物間で異なる分画パターンに注目しながら、キメラにおいていかなるパターンを示すかを知るために行なつた実験結果を報告する。

#### 材料及び方法

実験に用いたキメラは、トマト (*Lycopersicon esculentum* var. Kinnari) を台木に、イヌホウズキ (*Solanum villosum*) を接穂として、接木によつて人為的に作つた周縁キメラで、その組織構成は、トマト起源の組織を中側にして、それを概ね、二層のイヌホウズキ起源の組織で取囲んだ型のものである。このキメラは、挿木によつて殖やすより他に手段はないが、実験材料としては、挿木してから2~3ヶ月の発育 age のものを用いた。葉は植物の頂部から若いものを数枚とり、数株からのものを合せて生体重量で約2g 用い、茎は頂部から10~15cm の部分を数本、生体重量で約7g のものを用いた。キメラの茎内層(トマト起源の組織)は茎の切り口の周辺部にカミソリで傷をつけ、手で剥皮することによつて得た。

これらの材料を乳鉢に入れ、これに茎では15ml、葉では10mlの、0.02M、pH 7.0 磷酸緩衝液を加えて、海砂と共にすりつぶし、4層のガーゼで濾した液を10,000 r. p. m で10分遠心分

離して、上澄液をとり、硫酸アンモニウムを0.7飽和になるように加え、30分冷蔵庫に放置してから、15,000 r. p. m で10分遠心分離して蛋白質を沈澱させた。この蛋白質を0.02 M pH 7.0 磷酸緩衝液10ml を加えて溶解し、この液を石油コロジオン膜を透して上と同じ緩衝液中で約20時間透析した。透析は2℃の冷蔵庫中で行なつた。蛋白質の吸着に用いたイオン交換セルローズは、塩基性陰イオン交換体であるDEAEセルローズ (Diethyl-aminoethyl-cellulose (Brown)) で、これを0.02 M pH 7.0 磷酸緩衝液で数回洗つて平衡化したものを2.2cm×12.0cm のカラムに約7cmの厚さにつめて使用した。このカラムに透析を終えた蛋白質溶液を吸着させ、次に示す液を展開剤として順に用い、1分間1.3mlの速さで蛋白質の溶出を行なつた。

#### 展 開 剤

1. 0.02M pH 7.0 磷酸緩衝液
2. 0.10M pH 7.0 磷酸緩衝液
3. 0.20M pH 7.0 磷酸緩衝液
4. 0.20M pH 7.0 磷酸緩衝液+0.10M NaCl.
5. 0.20M pH 7.0 磷酸緩衝液+0.20M NaCl.
6. 0.20M pH 7.0 磷酸緩衝液+0.30M NaCl.
7. 0.20M pH 7.0 磷酸緩衝液+0.40M NaCl.
8. 0.20M pH 7.0 磷酸緩衝液+0.50M NaCl.
9. 0.20M pH 7.0 磷酸緩衝液+0.60M NaCl.
10. 0.20M pH 7.0 磷酸緩衝液+0.80M NaCl.
11. 0.20M pH 7.0 磷酸緩衝液+1.0 M NaCl.

溶出液を連続的に、Light path 5 mm, 容量0.3ml のセルに通し、波長2537Åの紫外線の吸収を20秒毎に自動的に記録した。紫外線の吸収及び記録には UVICORD 紫外線吸収計を使用した。

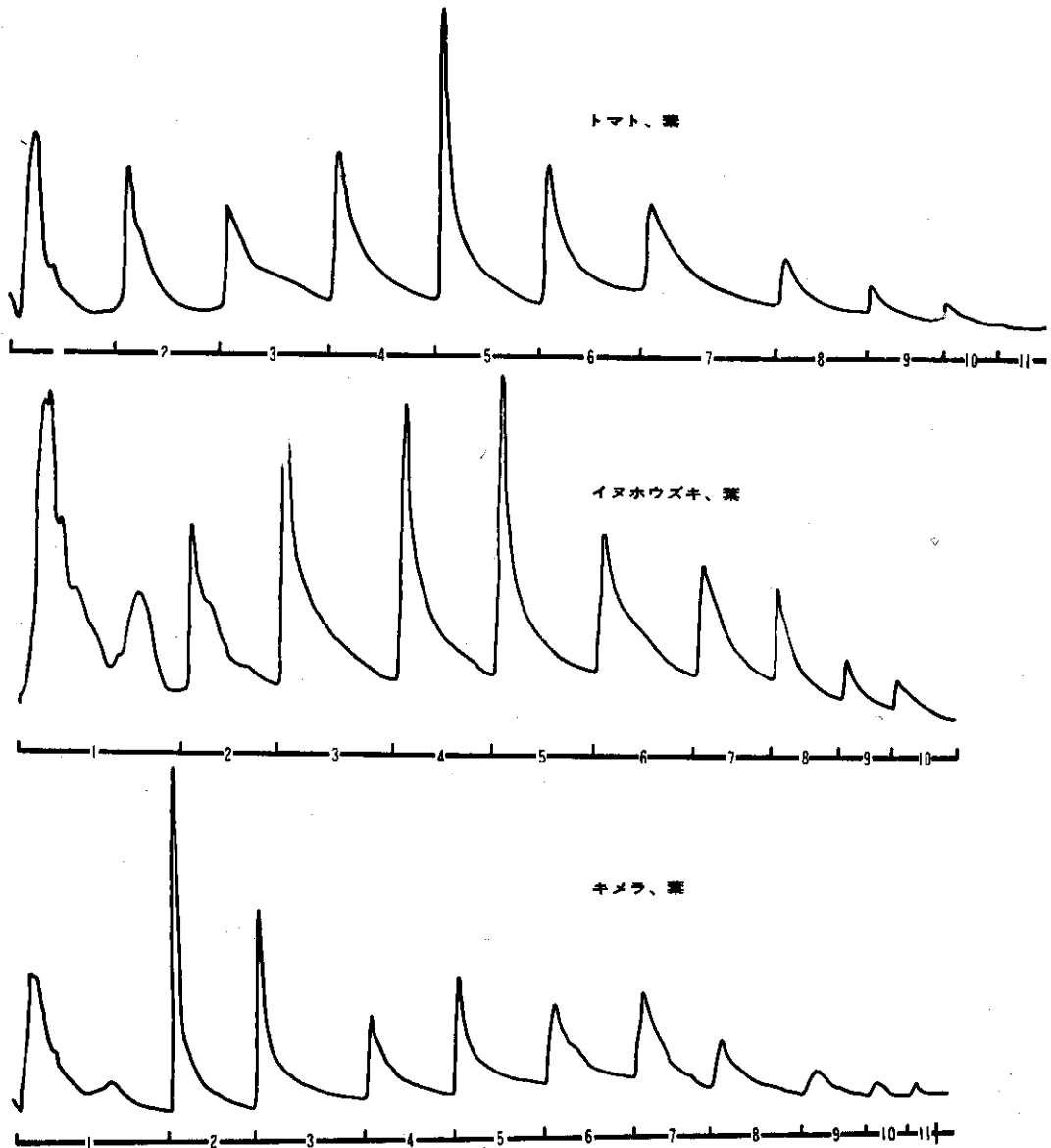


図1 イオン交換セルローズによる葉の可溶性蛋白質の分画

## 結 果

### 1. 葉の可溶性蛋白質の分画

図1は同じ発育 age (2~3ヶ月) の対照植物 (既掲) 及びキメラの若い葉の可溶性蛋白質の分画パターンを示す。前報でも指摘したように、トマトとイヌホウズキの各分画のうち、質的に違うのは第1の分画である。すなわち、イヌホウズキの第1の分画中には大きな Main

Component に付随してトマトにはない相当大的な第二の Component が存在することと、Main Component の Peak が小さく2つに分れたパターンを示すことである。これに対して、キメラでは同じく第一の分画にイヌホウズキに似たパターンが得られた。イヌホウズキに比べると、Main peak の割れ方が少し不明瞭ではあるが、確かに小さく二つに分れているし、第二の Component もイヌホウズキの場合のよ

## トマトとイヌホウズキのキメラの代謝的研究

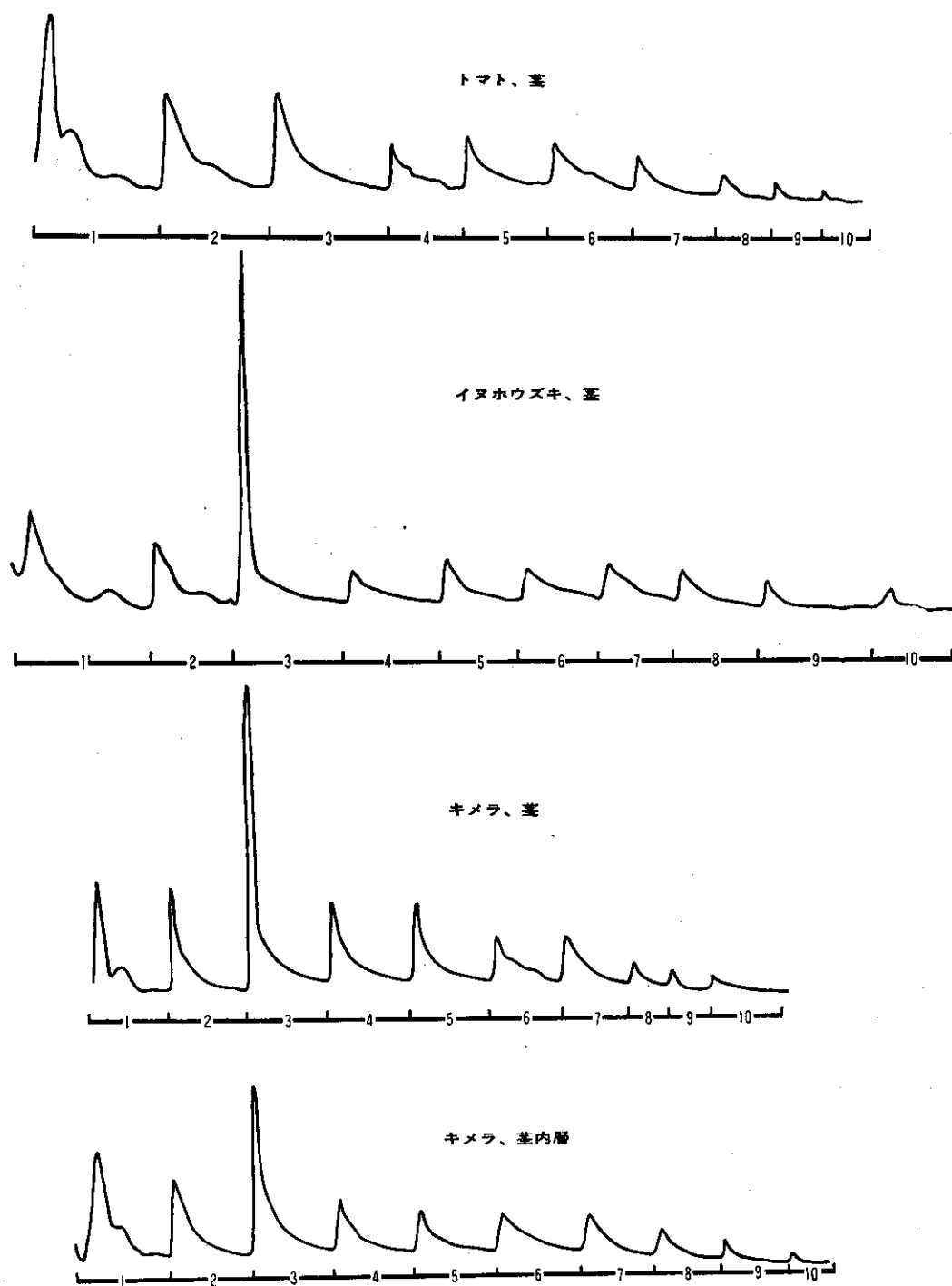


図2 イオン交換セルローズによる茎の可溶性蛋白質の分画

うに大きくはないが、明らかに存在している。  
 この他、キメラに特徴的なこととして注目されるのは第二の分画が対照植物にはみられない非

常に大きく鋭角的な peak を示すことである。  
 しかし、それとは反して、対照植物にみられる  
 第4、5あたりの大きな Component はキメラ

ではみられない。

## 2. 茎の可溶性蛋白質の分画

図2は茎の可溶性蛋白質の分画パターンを示す。茎の場合トマトとイヌホウズキで、特徴的に異なるのは、第三の分画である。すなわち、イヌホウズキのこの分画は、同じトマトの分画とは全く異質な細く大きな peak を示す。具体的に言えば急激に溶出が起り、その速度が非常に大きな蛋白質を含む分画と言うことができる。これに対してキメラの茎（全体）では同じく第三の分画にイヌホウズキと全く同じような peak を示した。

茎の場合には葉の場合と違つて、キメラを構成する二種類の組織を分けることができるので、同時にトマト起源の組織であるキメラの茎内層についても分画を行なつた。

その結果、茎全体を用いた場合程顯著ではないが、やはり第三の分画にイヌホウズキ型の Peak をみる事ができた。

## 考 察

著者は、これまで、キメラの生理的特質をその対照植物と比較、検討してきた。キメラが対照植物のいずれよりも、呼吸活性的に優位な性質を示すこと<sup>(2,3)</sup>から、キメラを構成する二種類の組織間に何等かの相互作用のあることが推定されたので、このことを証明する一つの手段として次に可溶性蛋白質の性質に注目して実験を進めてきた。可溶性蛋白質の種々の pH における凝固性<sup>(4)</sup>についての実験からも上述の推定を肯定する結果を得たが、更にこの問題を明確にすべく、前報<sup>(5)</sup>とこの論文においては、イオン交換セルローズによる可溶性蛋白質の分画パターンを対照植物とキメラで比較した。

これまでの一連の実験の場合と同じように葉を用いる場合はキメラを構成する両組織を、互いに分離して実験することはできなかつたので、直接的証明は与えることができないと思うが、キメラの葉の第一分画に、イヌホウズキ型のパターンをみる事ができたのは、その第二分画の特徴的な peak と合せて、可溶性蛋白質

の組成の上でも、キメラの両組織間の相互作用の存在を暗示するものと考えられる。

しかし、このことを直接示すのは、茎の分画パターンの比較である。すなわち茎の場合には、キメラを構成する両組織を凡そ分けて実験できるからである。キメラの外層、つまりイヌホウズキ起源の組織は量的に少なく実験できる材料を得ることができなかつたが、内層、つまりトマト起源の組織の分画パターンを直接トマトのそれと比較することができた。勿論、キメラの茎全体を用いての分画パターンが、イヌホウズキと殆ど同じパターンを示したことから、トマト起源であるキメラの内層の組織が、外側のイヌホウズキ起源の組織の影響を受けていることを強調できると思うが、トマト起源であるキメラ内層の第三分画が、イヌホウズキ型のパターンを示したことは何よりも直接、そのことを物語るものである。

以上のことから、可溶性蛋白質の組成という観点からも、キメラを構成している起源を異にする二種類の組織が、キメラという特殊な植物体内に共存することにより、互いに影響し合つて、対照植物のそれぞれが、本来有している性質が変えられて存在していることを示すことができた。このことは又、今まで種々の観点から強調してきたキメラの両組織間の相互作用の存在を、更に明確な形で支持できる結果と考える。

## 要 約

1. キメラの葉と茎の可溶性蛋白質を DEAE セルローズによつて分画し、対照植物（トマト、イヌホウズキ）のそれらと比較した。
2. キメラの葉の分画パターンは、トマトとイヌホウズキで特徴的な差がみられた第一分画において、ほぼ中間的なパターンを示した。また、第二分画にトマト、イヌホウズキいずれにもみられない特徴的な peak が認められた。
3. キメラの茎（分離しない全組織）の分画パターンは、イヌホウズキのそれと殆ど同じ

であつた。特に第三の分画にイヌホウズキ型の特徴的な peak がみられた。

4. トマト起源の組織であるキメラの茎内層の分画パターンは、茎の全組織の場合ほど著しくはないが、第三分画にやはりイヌホウズキ型の peak がみられた。
5. 以上の結果から、可溶性蛋白質の組成という点でも、キメラを構成している異起源の2組織間に何らかの相互作用があり、起源植物

が本来有している可溶性蛋白質組成に部分的変化が生じていると考えられる。

#### 文 献

1. 増淵, 熊谷, 核と細胞質, 2, 12 (1961),
2. 熊谷, 宇佐美, *Plant and Cell Physiology*, 5—3, 193—203 (1964).
3. 熊谷, 宇佐美, 北星短大紀要, 9, 25—30, (1963).
4. 熊谷, 宇佐美, 北星短大紀要, 9, 31—34, (1963).
5. 熊谷, 北星短大紀要, 10, 9—15, (1964).