

## 1Bp-4

## オオセキショウモ細胞膜分画の調製

○高木慎吾、吉田静夫★、永井玲子（大阪大・教養・生物、★北海道大・低温研）

オオセキショウモ (*Vallisneria gigantea*) はトチカガミ科の淡水産植物で、その葉肉細胞の原形質流動が赤色光 (R) と近赤外光 (FR) とによって調節されている。R照射に伴って細胞質の  $Ca^{2+}$  濃度が下降し、この事が流動を惹き起こす。FR照射は拮抗的作用を示す (1)。プロトプラストを用いて、R照射が細胞内からの  $Ca^{2+}$  の汲み出しを誘発する事も確かめたので (2)、光による流動の調節機構について図1のような作業仮説を立てた。細胞膜を介した  $Ca^{2+}$  の流れに、濃度勾配に従って常に起こっている流入と、エネルギー-依存的な流出との二方向を想定し、後者の活性がフィトクロムの制御下にある。即ち、R照射によって光変換した Pfr が  $Ca^{2+}$  の汲み出しを促進し、細胞質の  $Ca^{2+}$  濃度が下がる事によって流動が誘発されると考える。

上記の様な  $Ca^{2+}$  輸送機構が細胞膜に存在するものと予想し、その特性や光制御の有無を追究するために、オオセキショウモから細胞膜分画を調製する事を試みた。葉を Polytron PT35 によって破碎した後、8000mgの上清から10万mgで落ちて来るマイクロゾーム分画を、ポリエチレングリコールとデキストランからなる二相分配にかけ (3)、細胞膜と細胞内膜系とを分離した。二相分配を行なう際の NaCl 濃度はその効率に影響を与えるので、0-30 mM・NaCl 存在下で調製した細胞膜分画の純度を、標識酵素活性によって比較した (図2)。IDP (イノシン二リン酸) ase をゴルジ体、Cyt c oxidase をミトコンドリア、NADH-Cyt c reductase を ER の標識酵素として測定した。NaCl 濃度を上げるに従って各細胞内膜系の酵素活性は低くなり、30 mM でほぼ0になる。これに伴ってバナジウム感受性 ATPase の比活性が上昇してゆくことより、高純度の細胞膜分画が得られているものと思われる。さらにこの分画をシロ糖密度勾配遠心にかけた結果、バナジウム感受性 ATPase 活性のピークは、39% (W/W) シロ糖に相当するフラクションに現われた。相分配を行なう前のマイクロゾーム分画を密度勾配遠心にかけると、ERの標識酵素活性は16-21%、ミトコンドリアは40-41%のフラクションにピークを示すため、これらとは異なる密度を持つ膜系である事がわかる。

(1) Takagi & Nagai (1985) *Plant & Cell Physiol.* 26, 941-951.

(2) 高木・永井 (1986) 日本植物学会第51回大会研究発表記録 2pE8

(3) Yoshida, et al. (1983) *Plant Physiol.* 72, 105-114.

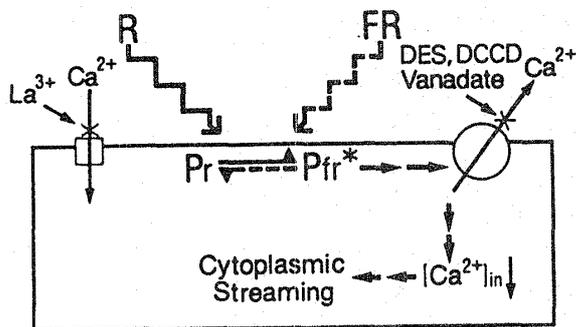


図1

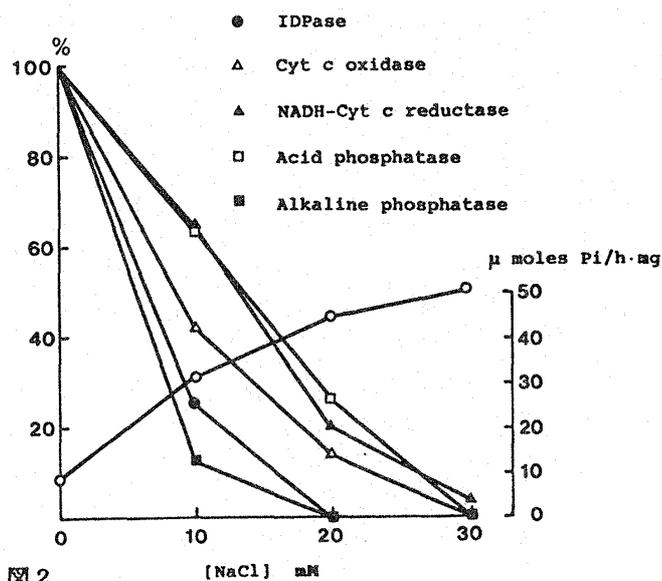


図2