

1Dp-2

細胞壁微小管の低温安定性における細胞壁の役割

° 紅 朋浩、柴岡 弘郎 (阪大・理・生物)

植物細胞の細胞壁微小管は、比較的低温に安定であると言われている。しかもその安定性は、ホルモンの影響やageによって、あるいは低温馴化の過程で変わることが報告されている。こういった変化の機構を知るには、植物細胞壁微小管の低温安定性が何によって生じているのかを知る必要がある。本実験では、タバコ培養細胞BY-2を用い、安定化機構の解明を試みた。

この培養細胞からチューブリンを単離精製し、*in vitro*で重合させた微小管を低温処理したところ、速やかに脱重合した。次に、細胞から酵素的に細胞壁を取り除いたプロトプラストを調整し、分裂を抑えるホルモン条件下 (1.0 mg/l benzyladenine; BA, 0.1 mg/l naphthaleneacetic acid; NAA) で培養し、細胞壁を再生した3日後の細胞について、抗チューブリン抗体を用いた間接蛍光抗体法で微小管を観察することにより、低温の影響を調べた。低温無処理では、細胞長軸に垂直に並ぶ微小管が見られ、0℃・30分処理したものでも、いくつかの断点はあるがなお多くの微小管が観察された。ところが、単離直後のプロトプラストについて調べたところ、低温無処理では、多くの微小管が見られたのに対し、低温処理した場合は微小管が著しく減少した。これらの結果は、*in vitro*では働いていない低温安定化の機構が、細胞壁を持つ細胞にはあって、プロトプラストにはないことを示している。さらに、polylysine をコートしたカバーガラスにプロトプラストをはり付け、低張で破裂させたあとに残った細胞膜ゴースト上の微小管を用い、この微小管が低温に安定であることを確かめた。プロトプラストの微小管が低温不安定で、基質にはり付けた細胞膜ゴースト上の微小管が安定であったことから、基質にはり付けるために用いたpolylysine・0.1 mg/ml 存在下でプロトプラストを低温処理したところ、微小管はほとんど減少しなかった。また、このpolylysine による安定化は、pH7 では見られず、pH6 以下で見られた。その他の多価カチオンとして、ポリアミンを用いて同様の実験を行なったところ、分子鎖の長い spermine でやや安定化が見られ、短い spermidine では効果がなかった。多価カチオンが微小管の安定化に働いたことから、*in situ* で細胞壁微小管を安定化しているものは、Ca²⁺ を介した細胞膜と細胞壁中のペクチンとの架橋ではないかと考え、Ca²⁺ 存在下で polygalacturonic acid (PGA) の影響を調べたところ、10 mg/ml の濃度でありあまり顕著ではないが微小管安定化作用が見られた。しかし、引き続きCa²⁺ 非存在下でPGAの効果調べたところ、ここでも同程度の安定化作用が見られ、Ca²⁺ を介さずに安定化を引き起こすことがわかった。また、このPGAの安定化作用のpH依存性を調べたところ、polylysine の場合とは逆に、pH7 で安定化が見られ、pH6 では見られなかった。次に、細胞壁を再生した細胞で、細胞壁の示す微小管安定化作用のpH依存性について調べた。上に述べたBA・NAA 培地では、培養1日目に低温処理した場合、微小管はpH5.8 で安定、pH7.5 で不安定だった。培養3日目では、いずれのpHでも安定だった。また、分裂するホルモン条件下 (0.2 mg/l 2,4-D) で培養した場合、培養1日目では、pH5.8、pH7.5 のいずれでも不安定であったが、培養3日目では、pH5.8 で安定、pH7.5 で不安定であった。

これらの結果から、分裂後間もない細胞では、細胞壁中に存在する多価カチオンが細胞壁微小管の安定化に係わっているものと考えられる。また、時間の経過とともに、それ以外の低温安定化機構が現われるものと思われる。