

1Ep-10

藻類シラタマモにおける低張処理に伴う原形質遊離 Ca^{2+} の増加

— 原形質に注入したエクオリンの発光 —

岡崎芳次¹、吉本康明²、平本幸男³、田沢仁⁴ (大阪医大・教養・生物、²基生研・細胞増殖、³東工大・理・生物、⁴東大・理・植物)

汽水産車軸藻シラタマモ (*Lamprothamnium succinctum*) は外液の浸透圧変化に対して細胞の浸透圧を変化させ膨圧を一定に保つ調節機構を持っている。膨圧調節の際、細胞体積の 90 % 以上を占める液胞では K^+ と Cl^- 濃度が増減して浸透圧が調節される。

低張処理に伴う膨圧調節は外液 Ca^{2+} 濃度を通常の 3.9 mM から 0.01 mM に下げると完全に阻害される(1)。また 3.9 mM 下での低張処理によって原形質流動は一過的に阻害されるが、0.01 mM 下では阻害されないこと、原形質流動速度が原形質中遊離 Ca^{2+} 濃度に依存し 1 μM 以上で阻害されることから(2)、低張処理に伴って外液 Ca^{2+} 3.9 mM 下では、外液からの Ca^{2+} の流入に伴い原形質中遊離 Ca^{2+} が一過的に増加し、外液 Ca^{2+} 0.01 mM 下では外液からの Ca^{2+} の流入が抑えられ、その増加が阻害されたのではないかと推論した。原形質中遊離 Ca^{2+} 濃度の増加が低張処理に伴う K^+ と Cl^- の細胞外への流失に関与しているのではないかと考え、膨圧調節の際の原形質中遊離 Ca^{2+} 濃度の動態を測定するために、 Ca^{2+} 感受性蛋白質エクオリンを原形質内に注入した。

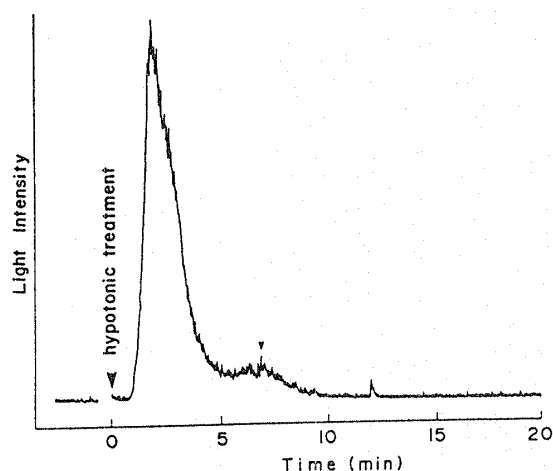
細胞の調製は以下のように行なった。約1/3に希釈したHerbst人工海水で培養したシラタマモ節間細胞を隣の節間細胞より切り離し、その両端をポリエステルの糸でくくった後、連続照明下で二日以上静置した。次に両端の糸のうちの一つをピンセットで細胞から引きはなし、節間細胞の一端の原形質層が明瞭に顕微鏡下で観察できるようにした。エクオリン注入用のガラス毛细管は細胞の長軸方向にそって細胞端から挿入した。ガラス毛细管の先端が原形質で覆われた時、圧力をかけてエクオリンを注入した。エクオリン発光の測定は、Bioluminescence Reader (Aloka Co. Ltd.) で行なった。

図1は外液 Ca^{2+} 3.9 mM下での低張処理に伴うエクオリンの発光を示している。約一分遅れて低張処理後、原形質中遊離 Ca^{2+} 濃度は増加し始め、2-4分後にピークに達し、以後減少し始め、約30分後に元のレベルまで回復した。図2では、外液 Ca^{2+} 濃度を0.01 mM に下げた時、低張処理に伴うエクオリンの発光は阻害されることを示している。そして30分後 Ca^{2+} 濃度を3.9 mMに戻した時、15-30 sec後に発光が始まった。このことは、原形質中遊離 Ca^{2+} 濃度の増加が外液からの Ca^{2+} の流入によることを示唆する。低張処理に伴う原形質中遊離 Ca^{2+} 濃度の変化と膜コンダクタンスの変化の時間経過がよく相似していることから、原形質中遊離 Ca^{2+} 濃度の増加が K^+ と Cl^- の細胞外への流失に深くかかわっていると結論した。

(1) Okazaki and Tazawa 1986a, Plant, Cell and Environment, 9,185-190.

(2) Okazaki and Tazawa 1986b, Plant, Cell and Environment, 9,491-494.

図1 低張処理によるエクオリンの発光

図2 外液低濃度 Ca^{2+} によるエクオリン発光の阻害