

## 2Ca-4

## 銅、亜鉛耐性タバコ培養細胞の獲得とその耐性機構

○岸波 功、Jack Widholm<sup>\*</sup>(Plantech Res. Inst.  
<sup>\*</sup>University of Illinois)

一般に高濃度で存在する重金属は、植物の生育を阻害することが知られている。しかしある種の植物はそのような環境条件下でも、通常的环境におけるのと同様な生育を示すことが自然界においてしばしば認められる。これらの植物はその生育している環境に存在している重金属に対して耐性を獲得している。この重金属に対する耐性の獲得は一般的に速やかであり、この性質は優性的に遺伝される。我々は特に銅および亜鉛耐性の特徴とその耐性機構を解明するために、タバコ培養細胞 (*Nicotiana plumbaginifolia*) を用いて、銅および亜鉛耐性培養細胞を選抜し、それらの性質と耐性機構の解明を行った。

タバコ培養細胞をその生育を完全に阻害する濃度の銅 (0.02 mM)、または亜鉛 (2.0 mM) を含む培地に移植し、長期間振とう培養を行い生育するコロニーを選抜した。これらのコロニーは同濃度の金属を含む培地に移植し、更に培養を続け安定した生育を示す耐性株を得た。これらの耐性細胞は感受性細胞と比較して銅耐性細胞は約 10 倍、亜鉛耐性細胞は約 6 倍の耐性を有していた。これら耐性細胞は 30 代の間銅または亜鉛を添加しない培地で生育させた場合、元の耐性細胞と比較して亜鉛耐性細胞の場合はほぼ同程度の、銅耐性細胞では僅かながら低い耐性の程度を有していた。ゆえにこれら耐性はタバコ培養細胞においては選択圧が存在しなくとも安定して保持される性質をもつと推定された。また銅耐性細胞は亜鉛、アルミニウムに対しても耐性を示し、亜鉛耐性細胞も同様に銅、アルミニウムに耐性を示した。しかしそれら耐性の程度は元来の金属に対する耐性の程度よりも低かった。さらに銅、亜鉛両耐性細胞ともに感受性細胞よりも速やかに培地中の銅または亜鉛を吸収し、両耐性の機構は銅、亜鉛の吸収抑制によるものではないことが明かとなった。両耐性細胞の粗抽出液を Sephadex G-75 のゲル濾過に供すると、金属を含むピークは 2 つ検出され、大部分の金属は低分子画分のピーク (<MW 3,000) に回収された。しかし感受性細胞の溶出パターンと比較して、耐性細胞に特徴的なピークは検出されず、従来報告されている metallothionein に類似した蛋白はこれらの耐性には関与していないと結論した。両耐性細胞ともに感受性細胞よりも多くのクエン酸やリンゴ酸を含んでいたことより、低分子画分に溶出される金属は有機酸とキレート結合していることが示唆された。またこれら有機酸は銅、亜鉛添加により耐性細胞中に急激に増加した。さらに感受性細胞にクエン酸やリンゴ酸と共に銅または亜鉛を添加すると、それら金属による生育阻害は完全に打ち消された。以上の結果より銅および亜鉛耐性は有機酸、特にクエン酸やリンゴ酸の生成促進、およびそれらによるキレート化によるものと推定された。