

## 2Bp-9

高速液体クロマトグラフィーによるアカパンカビの内生  
オーキシンの定量

富田香織・木山肇子\* 中村輝子 (日女大・生理 \* 関東学  
院大・工)

*Neurospora crassa* 野生株 74A の発芽過程において、オーキシンは発芽と若い菌糸の伸長に促進効果を示すが、培養開始後約1日を経過した成熟菌糸においては促進効果を示さない。今回、私たちは、このようにオーキシニンに対する反応の異なる2つの時期(培養開始後7時間と22時間)において、内生オーキシニン量がどのように変化しているかと、高速液体クロマトグラフィーを用いて調べたので、報告する。

培養方法等は、これまでと同様である。分生子は、坂口フラスコ中  $2 \times 10^6$  conidia/ml の濃度で液体振盪培養された。培養後、菌体と培地は、フナーで吸引し過すことにより分離された。菌体は、凍結乾燥された後、80%メタノール中で、内部標準としての 1mmol IPA (indolepropionic acid) と共に、破砕された。吸引し過後、濾液を酒石酸で pH 3.5 に調整し、等量の石油エーテルで3回洗った後、ジエチルエーテルで3回抽出した。この抽出物を、5mM 酢酸ナトリウムで pH を調整した後、不溶性ポリビニルピロリドンで遠心し、その上清を、酢酸ナトリウム 60% エタノールで調整された DEAE A-25 sephadex カラムに添加し、0.5M NaCl 60% エタノールで溶出した。溶出液を濃縮した後、1N HCl で pH を 3.5 に調整した。この抽出物は、50% アセトニトリルを溶出液として、SEP-PAC C-18 カートリッジで精製された。培地においては、1mmol の IPA を加えた後に、ジエチルエーテルで抽出し、その後菌体と同様の方法で抽出された。オーキシニンはカートリッジ 8MBC 1810  $\mu$  (日本ウォーターズ リミテッド) を備えた、HPLC システムで、蛍光 HPLC モーター RF-535、紫外分光光度計検出器 SPD-6A (島津製作所) により、25% アセトニトリル 酢酸 Buffer 20mM pH 3.5 で溶出した。分析された。蛍光検出器の励起波長は 280nm、測定波長は 350nm で、紫外分光光度計検出器の波長は、290nm とした。IAA の保持時間は、約 8分である。

両時期において、菌体に比べ、培地中により多くの IAA が存在することが認められ、7時間培養での培地中には、約  $10^{-7}$  M、22時間培養での培地中には、約  $10^{-6}$  の IAA の存在が認められた。