

3Dp-8

植物培養細胞における炭素源の吸収

網野真一, 田沢 仁 (東京大・理・植物)

植物の細胞培養ではほとんどの場合、スクロースを炭素・エネルギー源としている。この時、培地に加えられたスクロースが培地中でグルコースとフルクトースに加水分解されるという報告が以前よりなされ、この加水分解は主に細胞壁(由来)のインベルターゼによるものと考えられているが、近年も炭素源の選択やその利用の問題として培養細胞系での研究が進められている。一方、植物体における糖輸送については、転流や液胞内の糖の蓄積に関して多くの研究があり、そのなかで phloem unloading などアポプラストのインベルターゼによる加水分解が関与している例が知られている。本発表では、イネの培養細胞において、炭素源として与えたスクロースが主として細胞外で加水分解後利用されると思われる知見を得たので、それについて報告する。

材料のイネ培養細胞は、寒天培地(R2無機塩類, B5有機成分, 3%スクロース, 2mg/l 2,4-D)上に無菌処理したイネ種子(日本晴)を播き、得られたカルスを同じ液体培地を用いて継代した。細かい細胞塊を得るためには、1mmのナイロンメッシュを用いた。実験には、生重量50~100mgの細胞を20mlの培地に1週間毎に継代しているものを用いた。

培地中の糖量の変化を比色, HPLCで調べると、スクロースは培養2日後にはその80%以上がグルコースとフルクトースに分解されていた。その後、細胞の増殖にともない総糖量は減少するが、グルコースとフルクトースはほぼ等量残っていた。この分解は細胞壁中のインベルターゼによるものと考え、粗細胞壁画分を単離して調べたところ、十分なインベルターゼ活性が見出された。またこの活性はpH4付近で最も高く、培養初期に起こる培地pHの低下はスクロースの細胞外での分解に促進的にはたっているものと思われる。実際、20mM MESで培地の酸性化を抑えると、培養初期のスクロースの分解も遅れることが見出された。

一方、スクロースに代えてヘキソースを炭素源として培養すると、グルコースあるいはフルクトース単独で少なくとも10代は継代できた。しかし、この場合でも細胞壁画分のインベルターゼ活性はあまり変化せず、細胞内の主な遊離糖として、グルコース、フルクトース、スクロースがともに見出された。

さらに糖利用の指標として、細胞懸濁液とセルラーゼRS, マセロザイムR-10を用いて調製したプロトプラストの2つの系に¹⁴Cラベルの基質を与え、放出される¹⁴CO₂を測定した。その結果、懸濁細胞ではスクロース、グルコース、フルクトースより¹⁴CO₂の放出が見出されたが、プロトプラストではスクロースからの¹⁴CO₂放出が他と比較してかなり低かった。しかし、この培地に市販の酵母インベルターゼを加えると、¹⁴CO₂の放出は上昇した。

以上のことから、イネの培養細胞系では、炭素源のスクロースは主として細胞外で分解後に吸収・利用されるものと考えられる。