

## 3Ep-5

エンドウ幼植物の発育に伴うフィトクロム I および  
フィトクロム II の量的変化・許斐康嗣<sup>1,2</sup>・安部 弘<sup>2</sup>・古谷雅樹<sup>1,2</sup>

(1東大・理・植、2基生研)

〔目的〕近年、明所生育のエンドウ芽生え組織中には、黄化組織に存在するフィトクロム(フィトクロム I)とは免疫原性が異なるフィトクロム(フィトクロム II)が存在することが見出された(Abe et al. 1985)。続いて黄化芽生え組織からも検出された(許斐ら、1986、本大会)。それでは、エンドウ胚軸断片で、吸水に伴って生成されるフィトクロム(Konomi et al. 1985, Konomi and Furuya 1986)は、どちらの分子種であろうか。そこで本研究では、フィトクロム I と II に対して反応性が異なる 2 タイプのモノクローナル抗体を用いて、暗黒下あるいは明所下で培養したエンドウ種子胚軸および幼植物の、吸水・発育に伴うフィトクロム I 並びにフィトクロム II の出現と生成について検討することを目的とした。

〔材料と方法〕(1) 種子胚軸および幼植物の培養法と、粗抽出液の調製：エンドウ休眠種子から得た胚軸断片を、暗黒または白色光( $6\text{wm}^{-2}$ )照射下、0.2%寒天培地上(25℃)で培養した。また、幼植物は、吸水種子をパーミキュライト上で生育させて得た。一定時間培養後の植物材料に緩衝液(pH7.8)を加え、破碎した。残渣を取り除いた破碎液にポリエチレンイミンを加えて遠心し、上清を粗抽出液とした。(2) イムノアフィニティークロマトグラフィーを用いた、フィトクロム II の粗抽出液からの分画：まず、フィトクロム I とは特異的に反応するが、フィトクロム II とは反応しないモノクローナル抗体をアガロースビーズに結合させたカラムを作製した。次に、このカラムに粗抽出液を通し、フィトクロム I をカラムに吸着させ、流出分画(フィトクロム II 分画)を得た。(3) ELISAによるフィトクロム(I および II)の定量法：本研究のELISAは、一次抗体の抗エンドウフィトクロムラビットIgGと、二次抗体のモノクローナル抗エンドウフィトクロムマウス抗体とで、標準精製フィトクロム溶液または検査試料中のフィトクロムをsandwichする方法を用いた(Konomi et al. 1985)。ただし、フィトクロム I の分析には、粗抽出液を用い、フィトクロム I 特異的抗体で検出した。一方、フィトクロム II の分析には、カラム流出分画(フィトクロム II 分画)を用いて、フィトクロム I と II 両者に反応性を示す抗体により検出した。

〔結果と考察〕暗所下培養の場合、フィトクロム I は時間とともに増加し、12時間目で胚軸当たり約0.2 $\mu\text{g}$ に達した。一方、フィトクロム II も徐々に増加するが、12時間目では約0.05 $\mu\text{g}$ であった。また、明所下培養の場合、フィトクロム I は、暗所培養に比べてその増加量は少なく、フィトクロム II の増加は暗所の場合と殆ど同じであった。すなわち、エンドウ種子胚軸においては、明暗両条件下で吸水に伴う、フィトクロム I およびフィトクロム II の生成が観察されるが、その生成量は前者が光の影響を受け減少するのに対して、後者の生成量は光の影響を受けないことがあきらかとなった。