

505

タバコ培養細胞における UDP-Glucose : Scopoletin Glucosyltransferase 活性に及ぼす2,4-Dの効果 (信州大、繊維、応用生物)

○安井 強、阿部直子、植村俊昭、小野道之、下坂 誠、岡崎光雄

1) 目的 タバコ培養細胞(*Nicotiana tabacum* L. "Bright Yellow" T-13, 馴化カルス)に2,4-dichlorophenoxyacetic acid(2,4-D)を添加するとUDP-glucose : scopoletin glucosyltransferase(SGTase)の活性化に伴い、scopoletinの配糖体であるscopolinの生産量が増大する。本研究では、2,4-D処理、無処理の両SGTaseの精製を行い、その酵素的諸性質を比較し、2,4-DによるSGTaseの活性化機構について検討した。

2) 方法 対数増殖期のタバコ培養細胞に1ppmの2,4-Dを添加あるいは無添加の細胞からSGTaseを抽出した。両SGTaseは、Sephadex G-100, DEAE-cellulose, Hydroxyapatite, Sephadex G-100カラムクロマトグラフィーで精製し、諸性質を検討した。

3) 結果 得られた標品は、両SGTase共、SDS-PAGEで均一で、分子量約45,000であった。至適pHは2,4-D処理のSGTaseでpH7.5、無処理のSGTaseでpH7.0であり、熱安定性は、前者が後者に比べ、多少安定性が低かった。両SGTaseのUDP-glucose、scopoletinに対するそれぞれの基質親和性には差がなく、活性化エネルギーは2,4-D処理のSGTaseで7.0kcal/mol、無処理のSGTaseで12.6kcal/molであり、2,4-D処理による活性化は酵素触媒活性のみの増大によるものであることが明らかになった。現在、本酵素のcDNAのクローン化に向けて実験を進めている。

Effect of 2,4-D on UDP-Glucose : Scopoletin Glucosyltransferase Activity in Tobacco Cell Culture

○Masaru Yasui, Naoko Abe, Toshiaki Uemura, Michiyuki Ono, Makoto Shimosaka
Mitsuo Okazaki (Dept. Applied Biol., Fac. Textile Sci. & Technol., Shinshu Univ.)

506

緑化植物細胞(毛状根, 苔類カルス)の光混合栄養増殖

(阪大・基礎工, *熊本大・理) ○佐藤 仁, 宮岡正夫, 紀ノ岡正博,
田谷正仁, 東稔節治, 小野莞爾*

【目的】 二酸化炭素を炭素源とする植物細胞の光独立栄養培養を目的として、各種植物細胞の緑化を行っている。本研究では、緑化植物細胞を光混合栄養の条件下で培養し、増殖特性、クロロフィル含量などに及ぼす培養条件の影響を検討した。

【実験方法】 植物細胞は、毛状根としてバックブーン(*Ipomoea aquatica*)、カルスとしてゼニゴケ(*Marchantia polymorpha* A18)およびフタバネゼニゴケ(*M. paleacea* var. *dioetera*)を使用した。培地としては、Murashige-Skoog(MS)液体培地に糖(ショ糖またはブドウ糖)を添加したものを主に用い、約3000 lux 光照射下 25℃にて振盪培養を行った。細胞量は乾燥重量により測定し、クロロフィルはアセトン抽出後比色定量した。

【結果】 従属栄養増殖している白色のバックブーン毛状根を光照射下で継代培養したところ、毛状根が形態変化することなく細胞の緑化が認められた。この緑化毛状根のクロロフィル含量は 3.6 mg/g-dry cells であり、細胞内レベルでの分化が起っていることが示唆された。一方、ゼニゴケおよびフタバネゼニゴケのカルス細胞は、極めて活発な光混合栄養増殖能を有しており、クロロフィル含量も 4.5 mg/g-dry cells (ゼニゴケカルス), 15.6 mg/g-dry cells (フタバネゼニゴケカルス)と高い値を示した。現在、これら植物細胞の光混合栄養増殖に及ぼす光強度、二酸化炭素分圧などの影響を検討中である。

Photomixotrophic growth of greenish plant cells (hairy root and liverwort callus)
○Hitoshi Sato, Masao Miyazaki, Masahiro Kino-oka, Masahito Taya, Setsuji Tone,
Kanji Ono* (Dept. Chem. Eng., Osaka Univ., *Dept. Biol. Sci., Kumamoto Univ.)