

## 2C-22

## カボチャ子葉中のサイトカイニンの遊離と測定

桜井直樹, 住野寿彦, 倉石晋 (広大・総科)

黄化カボチャ (*Cucurbita maxima*) の子葉は、光照射後約2時間のラグの後、クロロフィル形成を開始する。一方暗所でサイトカイニン処理を行なうと、ラグなしに緑化を開始し、また光照射の際、サイトカイニン様活性が増加する (Uheda & Kuraishi, 1977)。このことから、光はサイトカイニン合成を經由して子葉の緑化を引き起こすものと考えられる。

演者らは、カボチャ子葉中で光によって誘導されるサイトカイニンの分離・定量を試みるため、カボチャ子葉からのサイトカイニンの定量的な抽出・精製方法を検討してきた (植物学会, 1980年)。従来、植物体内のサイトカイニンの抽出・精製方法で用いられてきた Sephadex LH-20, パーパークロマトグラフィー, 薄層クロマトグラフィーは、操作時間が長く、また定量的にサイトカイニンを分離することが困難であると思われるため、これらの方法を用いず、有機溶媒で抽出後、CP (セルロースホスファート) カラム, PVP (ポリビニールピロリドン) カラムを用いて精製した後、高速液体クロマトグラフィーを用いて、4種のサイトカイニン [ゼアチン (Z), ゼアチンリボシド (RZ), イソペンテニルアデニン (iP), イソペンテニルアデニン (RiP)] の抽出・分離を試みた。

暗所で4日間生育させたカボチャ子葉を、80%エタノールで抽出後、エタノールを減圧下で除去し、水層を石油エーテル、ジクロロメタンで洗い、n-ブタノールでサイトカイニンを抽出した。ジクロロメタンで水層を洗う場合、水層のpHが4.0では43%のRiP, 73%のiPがジクロロメタン層に移るが、pH2.5ではジクロロメタン層に移るのは、それぞれ7.8%, 9.8%であった。Z, RZは、いずれの場合もジクロロメタン層には移らなかった。水層のpHを7.0にもどしたあと、n-ブタノールで抽出した分画を、CPカラム, PVPカラムで精製し、日本分光社製 Fine SIL C18 を充填したカラムを装備した高速液体クロマトグラフィーを用いてサイトカイニンを分離した。

4種のサイトカイニンの抽出効率を求めるため、黄化カボチャ子葉 (50g) を80%エタノールで抽出した抽出液にサイトカイニンを各々100nmoleずつ加え、上記の方法で抽出・精製を行ない、高速液体クロマトグラフィーで各サイトカイニンを分離し、クロマトグラム上のピーク面積から抽出効率を計算した。その結果、Zはほぼ100%回収でき、RZ 63.1%, RiP 82.9%, iP 58.8%の回収率を得た。

次に黄化カボチャ子葉に6,000luxの光を1, 2, 3, 4時間照射し、それぞれの子葉からサイトカイニンの抽出を試みた。その結果、RZに相当するピーク面積は光照射前に較べて、光照射1時間で約6倍に増加し、その後急速に減少した。また、Zに相当するピーク面積は3時間で最大 (約2.5倍) になり、4時間目で減少した。RiP, iPに相当するピーク面積は、Z・RZに較べて小さいが各々1時間、2時間目で最大となった。また、RiPに相当するピークのあとに、カルスの細胞分裂は促進しないが、黄化オウリ子葉の緑化を促進する活性が検出された。