

2Ba-7

タバコ表皮の花芽発生能に関連した内生 IAA のマスフラグメントグラフィーによる定量

野間 正名、古池 直子、川島 伸磨 (専売中研)

1. 目的. 花の咲いているタバコから組織片を切り取り、*in vitro* で培養すると、花芽および(または)葉芽を生ずるが、それらの割合は、切り取った組織片の部位によって異なる。すなわち、花の咲く部位に近い組織程、花芽を生成する割合が多い。この "floral gradient" は、タバコ茎の表皮、3-6層の細胞にも存在することが知られている。一方、いずれの組織でも、培養による花芽分化には、培養培地中に、IAA と Kinetin を与えることが必要である。これら外生植物ホルモンと、内生植物ホルモンの関係を明らかにする目的で、タバコ表皮中の IAA 含量を、2, 4, 5, 6, 7 重水素置換 IAA を内部標準として、キャピラーカラムを用いてマスフラグメントグラフィーにより定量した。

2. 方法. 10-12輪、花の開いたタバコ (*N. tabacum* cv MC) (全葉数、24-26枚) より、花枝、第1花枝上部の茎、オ1節間およびオ2節間の茎、オ11-オ13節間の茎からそれぞれの表皮および皮層を、また花軸も採取した。採取後、ただちに100%アセトンで抽出し、その際、 d_5 IAA を適量加えた。常法により CH_2Cl_2 可溶酸性画分を得、PVPカラムにより精製し、 CH_2N_2 でメチル化し、遊離 IAA 画分を得た。 CH_2Cl_2 不溶酸性画分に d_5 IAA を加え、 NaOH を 1N になるように加え、1hr 室温に放置後、同様に精製し、アセトン可溶 alkaline labile 結合型 IAA 由来 IAA 画分を得た。抽出残渣に、 d_5 IAA と共に 1N NaOH を加え、1hr 室温に放置し、同様に精製し、アセトン不溶 alkaline labile 結合型 IAA 由来 IAA 画分を得た。マスフラグメントグラフィーは、日立 M-80, M-003 GC-MS システムにより行った。試料中の IAA 量は、予め作製しておいた検量線により、 m/z 130/ m/z 135 (基準ピーク)、 m/z 189/ m/z 194 (M^+) の面積比より求めた。分析条件は、以下のとおりである。カラム: メチルシリコン、 $50\text{m} \times 0.33\text{mm}$ フェーズドシリカキャピラリーカラム、 He : 10ml/min 、カラム温度 205°C 、イオン源: 200°C 、イオン化電圧: 20eV 。

3. 結果および考察. 遊離 IAA は、花軸中には、 43ng/g.f.w. 、花枝、オ1花枝上部の茎、オ1および2節間、オ11、12および13節間中の茎の表皮皮層中には、夫々 40, 53, 100, 63ng/g.f.w. 含有されていることが判明した。遊離 IAA が各組織片中に均一に分布していると仮定し、乾物重より計算して濃度を求めると、夫々、0.28, 0.27, 0.34, $0.57, 0.36\text{ }\mu\text{M}$ となる。アセトン可溶 alkaline labile 結合型 IAA 由来 IAA 含量は、夫々、 11ng/g.f.w. ($0.07\text{ }\mu\text{M}$)、 172ng/g.f.w. ($1.16\text{ }\mu\text{M}$)、 34ng/g.f.w. ($0.22\text{ }\mu\text{M}$)、 172ng/g.f.w. ($2.34\text{ }\mu\text{M}$)、 36ng/g.f.w. ($0.24\text{ }\mu\text{M}$) であった。

タバコ花枝の表皮より3-6層の細胞層を培養し、花芽を得る場合、培地中に IAA と Kinetin を $1\text{ }\mu\text{M}$ 添加しなければならぬ。また IAA 濃度を変えず、Kinetin を BA に変え、 $10\text{ }\mu\text{M}$ 加えると、葉芽に変化することが知られている。したがって、これら外生 IAA は、夫々組織片の IAA のプールサイズを維持するのに必要であって、花芽形成能は、プールサイズ"の大きさによってのみでは説明できないように思われる。