

2C—5

大豆ならびに水稻培養細胞における 2,4-D metabolite の検索

○堀江洋之, 小島邦彦, 大平幸次(東北大・農)

組織培養においてカルス誘導現象がみい出されて以来、いろいろな植物のカルス誘導が試みられている。それにともない Suspension Cultured Cell における 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) の代謝、2,4-D による器官の脱分化、再分化に関する報告もなされている。演者らは、大豆胚軸由来のカルスを液体培地に移植した大豆培養細胞と水稻種子由来の水稻培養細胞との継代培養をここ数年来続けてきている。この両培養細胞は、2～3日間の潜伏期間を経て8～10日目頃まで増殖し続ける。基本培地には 2,4-D, 2ppm の濃度で加えているがこれを除去すると大豆細胞では5～6日で生育を停止し、褐変化がみられる。また水稻細胞では、2,4-D 除去培地で7日間を1 passage とした継代培養を行なうと2 passage 目で新鮮重が増加し、発根して分化の傾向がみられるが、4 passage 目で生育が停止する。この細胞増殖に対する 2,4-D の作用機構を明らかにするための予備実験として、両細胞に ^{14}C -2,4-D を投与して 70% エタノール可溶性画分における 2,4-D の挙動を調った。P.P.C., T.L.C 展開の結果、大豆細胞では遊離の 2,4-D と、低分子と結合した 2,4-D が検出。水稻細胞では遊離型の 2,4-D だけがみられた。大豆細胞で検出された結合型の 2,4-D について、同定を試みた結果、加水分解によりエーテル可溶性画分では、放射活性をもつ 2,4-D だけがみられ、アミノ酸としてアスパラギン酸, グルタミン酸, アラニンが主に検出された。糖は検出されなかった。エーテル不溶性画分では 2,4-D と 2,4-D 以外の放射活性をもつ数個の物質がみられた。アミノ酸としてグルタミン酸, グリシン, アラニン, 他に数個みい出され、糖としてグルコースが検出された。このことからエーテル可溶性画分には、2,4-D-アスパラギン酸(2,4-DAsp), 2,4-D-グルタミン酸(2,4-DGlu), の存在が推定される。エーテル不溶性画分にはアミノ酸と糖が、2,4-D および 2,4-D 自身が代謝された物質と結合していることが推定される。推定される 2,4-D 結合物のうち入手可能であった合成の 2,4-DAsp, 2,4-DGlu, 2,4-D の3種の物質を用いて両培養細胞の生育に対する濃度レスポンスをみた。水稻細胞では 2,4-D 濃度 10^{-2} ～ $10^{-5}M$ で継代培養における生育が安定。濃度過剰区は $5 \times 10^{-3}M$ で 1 passage で生育停止。2,4-DAsp, 2,4-DGlu 濃度 10^{-6} ～ $10^{-5}M$ で生育が安定。濃度 $5 \times 10^{-3}M$ では、1 passage では生育可能 2 passage で生育停止。一方大豆細胞では、2,4-D 濃度 10^{-6} ～ $10^{-5}M$ で生育良好。過剰による生育停止は $10^{-3}M$ でみられた。また 2,4-DAsp, 2,4-DGlu 濃度 $10^{-5}M$ で生育良好。過剰での生育停止は $10^{-3}M$ でみられた。以上のことから水稻と大豆細胞において、2,4-DAsp, 2,4-DGlu が適切な濃度で生育を促進することがわかった。その濃度範囲は、水稻細胞が広い。また欠乏症状も水稻細胞で出現しにくい。2,4-D とそのアミノ酸結合物の両細胞の生育に対する生理活性を比較すると 2,4-D が強く作用しているように思われる。