

報告番号 \* 甲第 2363 号

## 主論文の要旨

題名 傷害サツマイモ塊根組織での  
ミクロボディ-の発達に関する研究

氏名 江坂宗春

## 主論文の要旨

報告番号

※甲第

号

氏名

江坂宗春

本研究は、傷害サツマイモ塊根組織でミクロボディーが発達することを明らかにし、その機構について、カタラーゼの生合成とミクロボディーへの取り込みを中心にして考察したものである。

以前から、傷害を受けたサツマイモ塊根組織でミトコンドリアや小胞体などの細胞内小器官が形成または発達することが知られていた。傷害組織でミクロボディーの指標酵素であるカタラーゼも活性増大を示すことから、傷害組織でミクロボディーもまた形成または発達するものと推論した。

サツマイモ塊根組織から調製した粗ミトコンドリア画分をショ糖密度勾配遠心にかけることにより、ミクロボディーを分離した。ただし、組織を磨碎する際に用いる緩衝溶液にポリフルレATを加えると、カタラーゼ活性の分布がミトコンドリアの分布と一致し、ミクロボディーの分離が不可能であることがわかった。

新鮮サツマイモ塊根組織からのミクロボディーには、カタラーゼと尿酸オキシターゼの活性が、傷害組織からのミクロボディーにはこの2酵素の活性と非常に微量のロジフェールオキシターゼ活性が検出された。しかし、緑葉ヘルオ

キシノム-ム<sup>1</sup>の代表的酵素であるヒドロキシピルビン酸シクワターゼやクリコル酸オキシターゼ、アリオキシノム-ム<sup>2</sup>の代表的酵素であるイソクエン酸リアーゼやリンゴ酸デヒドロゲナーゼおよび動物のペルオキシノム-ム<sup>3</sup>に存在するとされているシアン耐性ハルミチルCoA酸化酵素群は検出されなかった。このことから、サツマイモ塊根ミクロボディは、他の茎や根などの組織に存在し、その機能がまだ明らかではない“nonspecialized microbodies”に属するものと結論した。

傷害組織で、ミクロボディ画分のカタラーゼ活性は増大したが、尿酸オキシターゼ活性は増大しなかった。このことから、傷害組織でカタラーゼのみを含むミクロボディが形成または発達するものと考えた。なお、この際、精製ミクロボディ画分のリン脂質量あたりのカタラーゼ活性も増大していた。

次に、こうしたカタラーゼのみを含むミクロボディの形成または発達の機構を検討するため、まず傷害組織のミクロボディ画分からカタラーゼを精製した。精製カタラーゼは動物のカタラーゼと同様に、分子量6万の同一サブユニットからなる四量体であった。しかし、このカタラーゼは、動物のカタラーゼと違って、酸性や中性のpH領域で非常に不安定であり、280nmの吸光度と405nmの吸光度の比が1.49で、ウシ肝臓カタラーゼのその約2倍であった。

ついで、この精製カタラーゼに対する特異抗体を調製した。この抗体を用いた一元平板免疫拡散法で、組織中のカタラーゼタンパク質の量を定量した。その結果、傷害組織でカタラーゼタンパク質量が増大することがわかった。しかしながら、このカタラーゼタンパク質量の増加率はカタラーゼ活性の増加率に比べてかなり低かった。すなわち、傷害組織で単位カタラーゼタンパク質量あたりのカタラーゼ活性(カタラーゼ比活性)が増大した。免疫学的電気泳動カフロティンク法により、新鮮組織の細胞では、ミクロボディ-の外に、通常のカタラーゼタンパク質とは異なった弱活性型のカタラーゼタンパク質が存在することがわかった。

エチレンを含む空气中でサツマイモ塊根組織をインキュベートすると、カタラーゼ活性は増大したものの、エチレンを含まない空气中でインキュベートした時よりも、その増加率が低かった。すなわち、エチレンは傷害組織でのカタラーゼ活性の増大を抑制した。また、このエチレンを含む空气中でインキュベートした傷害組織では免疫学的に定量したカタラーゼタンパク質量はまったく増大せず、遂に減少する傾向を示した。そして、単位カタラーゼタンパク質量あたりのカタラーゼ活性は著しく増大した。

エチレンを含む空气中でインキュベートした傷害組織のミクロボディ-膜画分には、かなりの量のカタラーゼ活性が

検出された。このカタラーゼは膜結合型カタラーゼではなく、凝集状もしくはコア状のカタラーゼと推定した。免疫学的電気泳動フロロティックスの結果から、エチレンはカタラーゼ分子に何らかの分子的修飾をひきおこすことが示唆された。おそらく、この分子的修飾がカタラーゼを凝集もしくはコア化しやすくするのであろうと考えた。

以上の結果から、傷害組織でのミクロボディーの形成または発達の機構は次のようであらうと推測した。傷害組織でのカタラーゼ活性の増大は第一に、カタラーゼタンパク質の de novo の合成による。しかし、さらに新鮮組織の場合には、ミクロボディーの外により活性の高いカタラーゼの前駆体が存在していて、この前駆体が“post-translationally”にミクロボディーへ取り込まれ、その際に活性化することによるのであろう。一応、この乗新鮮組織のミクロボディーの外の弱活性型カタラーゼはミクロボディー内のカタラーゼの前駆体ではなく、傷害組織では通常のカタラーゼのみが生合成され、このカタラーゼのみが“post-translationally”にミクロボディーへ取り込まれるという可能性を完全に否定することはできない。

また、エチレンは、おそらく、傷害組織でのカタラーゼタンパク質の de novo の合成を阻害するが、カタラーゼ前駆体の“post-translational”なミクロボディーへの取り込みと

その活性化には影響を与えないのであろう。そして、カタラーゼタンパク質に何らかの修飾をひきおこさせ、凝集もしくはアグリーゲーションさせるのであろう。エチレンのこのような効果がどのようにひきおこされ、どのような生理的な意味をもちているのか、今後の問題として残されている。