



ミズバショウの花の細胞顆粒について：
呼吸に関する基礎的研究の一つとして

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2012-11-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 桑山, 弥寿男, 佐藤, 直樹, 宇佐美, 正一郎 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.32150/00001983

ミズバショウの花の細胞顆粒について*

——呼吸に関する基礎的研究の一つとして——

桑 山 弥 寿 男

北海道教育大学岩見沢分校家庭科教室

佐 藤 直 樹・宇佐美 正一郎

北海道大学理学部植物学教室

On the Particulate Granules in *Lysichiton* Spadix
—A Basic Study on Respiration—

Yasuo KUWAYAMA

Department of Home Economics, Iwamizawa Branch, Hokkaido University of Education

Naoki SATO and Shoichiro USAMI

Department of Botany, Faculty of Science, Hokkaido University

Summary

Centrifugal fractionation and electron micrographic observation were made on the particulate granules in *Lysichiton* spadix cells which have a specific characteristic of cyanide-resistant respiration.

Starch grains and chloroplasts were precipitated from suspensions of ground cells by centrifugation at 500 xg for 10 minutes, and most of the mitochondria were precipitated from the supernatant fluid by centrifugation at 15,000 xg for 20 minutes.

All of the prepared electron micrographs of the spadix cells showed abundant sections of mitochondria. Electron micrographs showed sections of chloroplasts in cells of surface parts of the spadix, sections of starch grains in cells of inner tissues of the flowers, and sections of endoplasmic reticulum in some cases.

Especially in connection with cyanide-resistant respiration, some natures of particulate granules in the spadix cells were discussed.

緒 言

ミズバショウの花の呼吸が青酸や一酸化炭素によって阻害されないだけでなく、その酸素吸収量がかえって増大することについてはすでに報告した¹⁾。また、遠心分離によるこの花のミトコンドリア分画についても、青酸無阻害呼吸が示された²⁾。この特異的な呼吸は通常の電子伝達系のほかに、ある種のb型チトクロームが関与することによって営まれることが推定され⁴⁾、さらに、このb型チトクロームはミズバショウの花から精製され結晶化された⁵⁾。

* 宇佐美正一郎教授還暦記念論文

ヒトをふくめて生物の酸素呼吸は、青酸などいわゆる呼吸毒によって阻害を受けるのが一般である。

われわれは、呼吸生理学の一つの基礎的研究過程として、このような特異的呼吸機作をもつミズバショウの花の細胞顆粒について、遠心分離によるその分画と電子顕微鏡による観察とについてここに報告する。

材料と方法

北海道に自生するミズバショウ (*Lysichiton camtschaticense* Schott) の、苞が開き花穂の表面に規則正しく並んでいる一つずつの花からはおしべの突出する以前の時期の、花を材料とした。

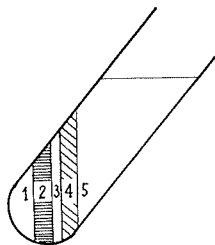
遠心分離による顆粒分画のためには、花穂から花の部分のみをそぎとり、ほぼ同重量の磨砕液を加え、ホモジナイザーを使用して氷冷しながら磨砕し、綿布を通した濾液を遠心分離した。磨砕液の組成は、0.25 M 蔗糖・0.1 mM EDTA・0.1 mM MgCl₂・0.02 M アスコルビン酸・0.02 M 磷酸緩衝液 pH 7.8 とした。また、顆粒の細分のために、40%~10%の蔗糖密度勾配を用いた。

各種顆粒の同定のためには、光学顕微鏡による観察、ヨード・ヨードカリ液やヤヌス・グリーン B 液による染色性、色素抽出による分光分析等のほか、電子顕微鏡による観察をおこなった。

花の各組織の電子顕微鏡による観察のためには、1%四酸化オスmium固定のうえ、メチル・メタアクリレート 3: n-ブチル・メタアクリレート 7 の樹脂に包埋し、切片を作製した。

結果と考察

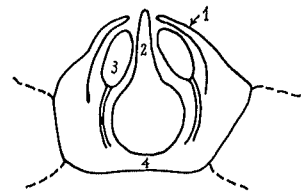
ミズバショウの花を磨砕し綿布を通した濾液を 500×g, 10 分間の遠心分離によって、第1図に示したような、4層の沈澱物がえられた。下層から黄緑色の細胞塊・細胞壁層、黄色の花粉層、白色の澱粉顆粒層、および、薄緑色の葉緑体層であった。これらは光学顕微鏡による観察で確かめられ澱粉顆粒についてはヨード・ヨードカリ液による染色性からも確かめられた。また、葉緑体についてはアセトンによる色素抽出のうえ分光分析をおこない、クロロフィル a および b の存在を確認した。500×g, 10 分間の遠心分離上澄液について、遠心力をさらに増加させてゆくと、葉緑体破片とともにミトコンドリアが沈澱層にあらわれ、15,000×g, 20 分間の遠心分離でミトコンドリアはほとんど沈澱した。そして、その上澄液は透明帯赤褐色となった。ミトコンドリアについては、



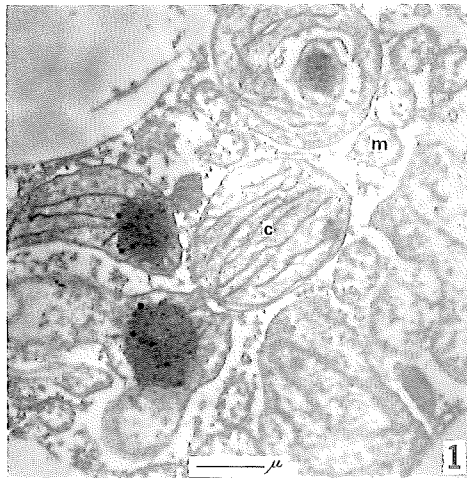
第1図 500×g, 10分間の遠心分離による沈澱層および上澄液
 1. 細胞塊・細胞壁層
 2. 花粉層
 3. 澱粉顆粒層
 4. 葉緑体層
 5. 上澄液



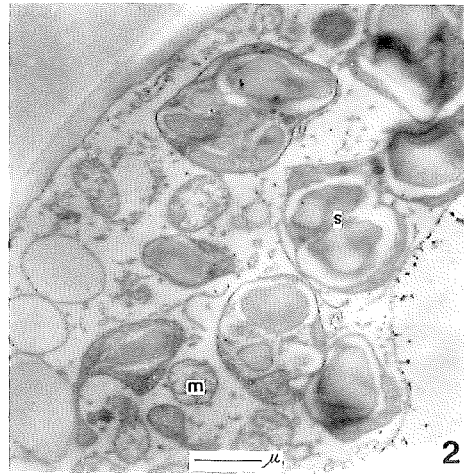
第2図 500×g, 10分間上澄液の5,000×g, 10分間沈澱物の40%~10%蔗糖密度勾配1,000×g, 60分間遠心分離による分画
 1. 澱粉顆粒
 2. 葉緑体破片およびミトコンドリア
 3. 上層



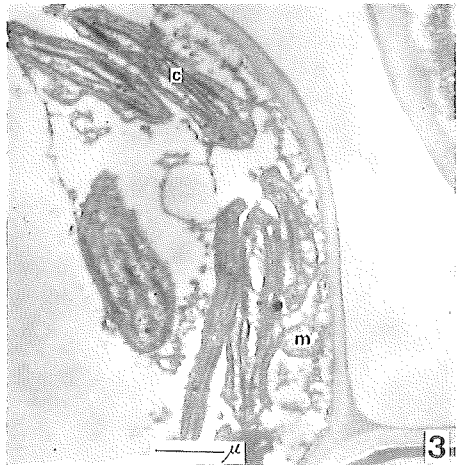
第3図 ミズバショウの花の模式図
 1. 花被
 2. めしべ
 3. おしべ
 4. 花の基部



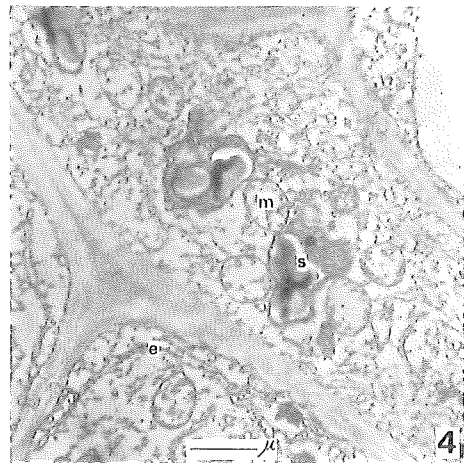
1. 花被の表面部分



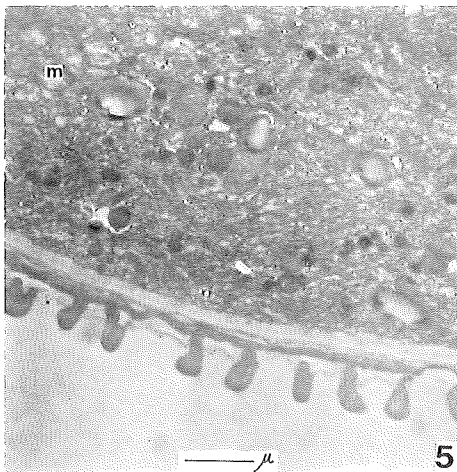
2. 花被の中央部分



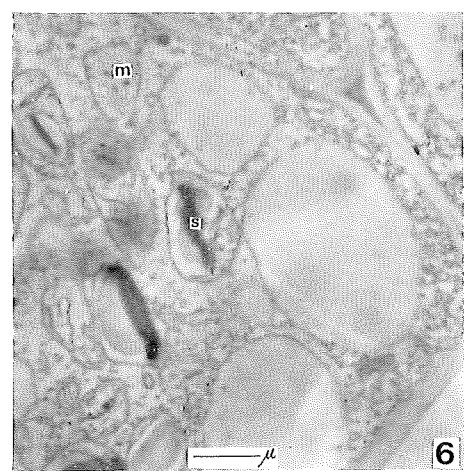
3. めしべの先端部分



4. めしべの中央部分



5. 花粉の表面部分



6. 基部の部分

第4図 ミズバショウの花の各組織における細胞顆粒
c: 葉緑体, e: 小胞体, m: ミトコンドリア, s: 澱粉顆粒

ヤヌス・グリーン B 液による染色性から確かめられた。

また、 $500\times g$ 、10分間の遠心分離上澄液について、 $5,000\times g$ 、10分間の遠心分離をおこない、沈澱する顆粒を細分するために、40%~10%の蔗糖密度勾配を用いて $1,000\times g$ 、60分間の遠心分離をおこなった。その結果、下層に少量の混在していた澱粉顆粒、中間層に葉緑体破片とミトコンドリア、そして、上層は淡黄褐色の層とはっきり分離した(第2図)。この上層にはミトコンドリア破片が含まれると考えられる。また、蔗糖密度勾配遠心分離をくりかえすことにより顆粒の精製が可能と考えられる。

遠心分離による顆粒分画の実験により、ミズバショウのこの時期の花の組織には、すくなくとも澱粉顆粒、葉緑体、およびミトコンドリアの存在が明らかである。各顆粒とも磨砕および綿布濾過等の過程で破損される可能性が充分にあり、核についてはとくにその可能性が大きいと考えられる。また、この実験では確認されるに到っていないが、ミクロソームの分画のためには、この実験で用いたよりもさらに大きな遠心力を必要とすると考えられる。

それぞれの顆粒の細胞内での存在を確認するために、花の各部分について電子顕微鏡による観察をおこなった。ミズバショウの花の一つを模式的にあらわしたのが第3図であり、花被、めしべ、おしべ、および、花基部からなっている。

第4図1~6のすべてに共通してみられるように、ミトコンドリアは観察したすべての細胞に見出された。花の表面部分、すなわち第4図1および3には葉緑体が見出され、花の内部、すなわち第4図2、4および6には澱粉顆粒が見出された。また、花粉(第4図5)は他の部分とは異なっており、その構造は密であり、その表面は突起でおおわれ、さらに粘膜をもつようであった。第4図4には小胞体認められた。

花被の表面部分(第4図1)にみられた葉緑体はラメラ構造が未発達であり、未成熟の段階にある葉緑体と考えられる。これに比して、めしべの先端部分(第4図3)にみられた葉緑体は成熟度の、よりすすんだ段階にあると考えられる。澱粉顆粒については、澱粉がその顆粒のほとんどを占める状態ではなく、消費されつつあることを示すように考えられる。ミトコンドリアは認められたすべてについて、その内部は密でなく、また、動物細胞でみられるような、はっきりとしたクリステの発達が認められない。このことは、ミズバショウと同科であるところの *Arum* の花の電子顕微鏡による観察⁶⁾においても同様である。そして、このことは分画時などにおいてミトコンドリアの破損をもたらしやすいと考えられる。

ミズバショウの花のミトコンドリア分画の呼吸が青酸無阻害であり⁷⁾、また、この分画が b 型チトクロームの強い吸収帯を示す⁸⁾こと、さらに、この花の各部分とも青酸無阻害呼吸を示し¹⁾、各部分すべての細胞にミトコンドリアが見出されたこと等からみて、自動酸化能をもち青酸不感受性の b 型チトクロームがミトコンドリアに存在する可能性は強いと考えられる。

摘 要

青酸によって阻害されない呼吸機作をもつミズバショウの花の細胞顆粒について、遠心分離による細胞顆粒の分画と、電子顕微鏡による観察をおこなった。

澱粉顆粒と葉緑体は $500\times g$ 、10分間の遠心分離で沈澱し、ミトコンドリアは $15,000\times g$ 、20分間の遠心分離でそのほとんどが沈澱した。

観察したすべての細胞に多くのミトコンドリアが見出された。花の表面部分の細胞には葉緑体が、そして、花の内部の細胞には澱粉顆粒が見出され、ほかに小胞体が認められた。

この花の細胞顆粒について、とくに青酸無阻害呼吸との関連において考察した。

本研究をおこなうにあたり、高橋昭一郎氏および八木正己氏に実験上の援助をいただいた。記して深く謝意を表す。

文 献

- 1) 桑山弥寿男・宇佐美正一郎：北海道学芸大学紀要（第二部），11-1B, 18 (1960).
- 2) 桑山弥寿男・庄貞行・宇佐美正一郎：植物学雑誌，74, 375 (1961).
- 3) Kuwayama, Y. : J. Hokkaido Gakugei University (II), 13-1B, 69 (1962).
- 4) 桑山弥寿男：北海道科学研究費自由課題による研究報告書，10, 99 (1968).
- 5) Sato, N., Kuwayama, Y., and Usami, S. : in manuscript.
- 6) Simon, E.W., and Chapman, J.A. : J. Exp. Bot., 12-36, 414 (1961).