

短 報

サツマイモ塊根におけるゼアチンリボシドの
免疫組織化学的検出*

中 谷 誠・松 田 智 明**

(農業研究センター・**茨城大学農学部)

Immunohistochemical Localization of Zeatin Riboside in Tuberous
Root of Sweet Potato

Makoto NAKATANI and Toshiaki MATSUDA**

(National Agriculture Research Center, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan; **Faculty of Agriculture,
Ibaraki University, Ami-machi, Ibaraki 300-03, Japan)

1991 年 12 月 2 日受理

Key words: Immunohistochemistry, Tuberous root,
Sweet potato, Zeatin riboside.

キーワード: 塊根, サツマイモ, ゼアチンリボシド, 免疫
組織化学.

サツマイモの塊根形成時における量的変動等から, 塊根形成とゼアチンリボシド (ZR) との関連が示唆されている^{2,3)}. 解剖学的観点からサツマイモ塊根形成の機構はよく解明されており⁸⁾, ZR の塊根内分布の把握は, 塊根形成の生理的機構を解明する上で興味ある課題と思われる. 近年, 免疫学的手法の植物ホルモン研究への適用が進み, 最近, 植物ホルモンの免疫組織・細胞化学的検出例^{1,5,6,7)}も報告されている. そこで, サツマイモ塊根における ZR の免疫組織化学的検出を光学顕微鏡的に試みた.

材料と方法

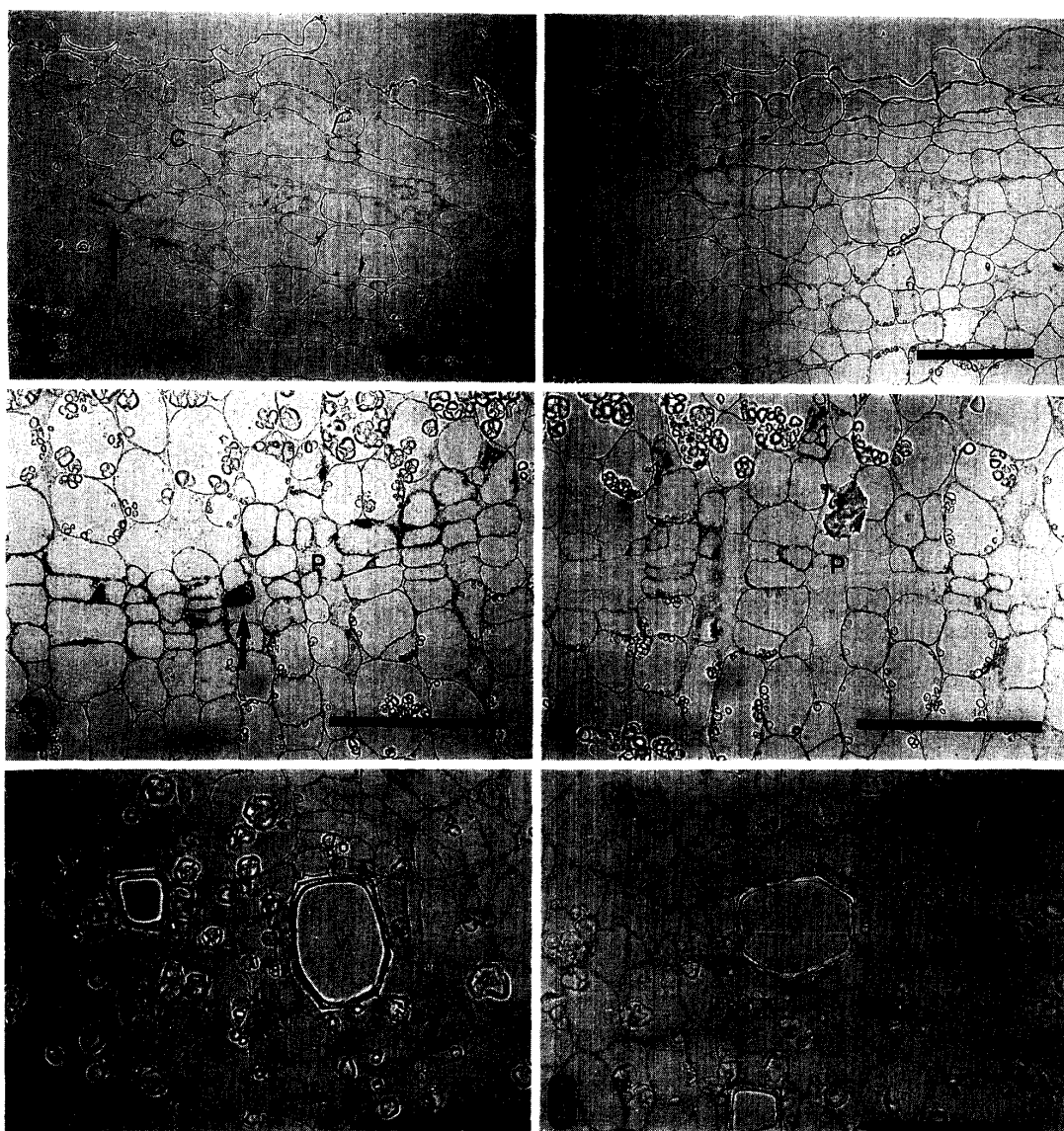
供試品種として, コガネセンガンを用い, 大型素焼鉢に 1991 年 5 月 30 日に挿苗した. 挿苗 6 週間後に根を洗い出し, 直径 10 mm 内外の塊根の最太部付近を材料とした. 固定は Sossountzov ら⁶⁾に準じて行い, 常法にてスパー樹脂包埋し, 厚さ 1 μ m の横断切片を作製した. 切片は Sotta ら⁷⁾に準じてエッチングし, Sossountzov ら⁶⁾の用いた金コロイド法に準じて免疫染色し, 光学顕微鏡で観察した. 1 次抗体として市販の抗 ZR モノクローナル抗体 (Idetek) を 0.2 mg/ml の濃度で用いた. 対照として, 1 次抗体の代わりに過剰の ZR を加えて不活化した抗体を処理した区と, 同濃度の非免疫マウス IgG を処理した区の 2 区を設けた.

結果と考察

対照とした 2 つの区では同様の像が観察されたので, 以下ではこの 2 区をまとめ対照区と表記し, 抗 ZR 抗体処理区を処理区と略記する. 周皮の形成層 (C) ないし篩部最外層付近では, 処理区の方が対照区に比べわずかに強い染色が認められた (第 1, 第 2 図). 1 次形成層帯 (P) では処理区で明らかに強い染色が認められた (第 3, 4 図). 木部導管 (V) 周囲の分裂組織では, 対照区でもやや強い非特異的染色が認められたが, 処理区の方が染色はわずかに強かった (第 5, 6 図). 篩管においては対照区でもかなり強い非特異的染色が認められ, 処理区との差は認められなかった. 貯蔵柔細胞等上記以外の組織では, 細胞壁に沿って極弱い非特異的染色が見られた以外に強い染色は認められず, 対照区と処理区の差はなかった.

本実験で用いた抗 ZR 抗体と同一抗体を用いた酵素免疫測定法によるサツマイモ塊根抽出物の分析では, 生物検定や機器分析と同様の ZR 分析値が得られている³⁾ので, 抗体の交差反応の問題はなかったと考えられ, 1 次形成層帯での強い反応は ZR によるものと思われる. また, 周皮直下と導管周囲の組織でもわずかに反応があるように観察された. 塊根各部位を分けて ZR を分析した報告⁴⁾では, ZR 含量は 1 次形成層付近で最も高く, 周皮を含む篩部がこれに続き, 木部で最も低いとされている. 木部の大半は本実験でほとんど反応がなかった貯蔵柔細胞で占められている. このように本実験の結果は, 上記の報告⁴⁾とほぼ一致し, ZR の分布を反映しているものと思われる. そして, 塊根形成と関連の深い 1 次

* 大要は第 192 回講演会 (1991 年 11 月) において発表.



第 1 図 抗ZR抗体処理区の塊根周皮付近。

第 2 図 不活化抗体処理区の塊根周皮付近。

第 3 図 抗ZR抗体処理区の 1 次形成層付近。

第 4 図 非免疫マウスIgG処理区の 1 次形成層付近。

第 5 図 抗ZR抗体処理区の本部導管付近。

第 6 図 非免疫マウスIgG処理区の本部導管付近。

C: 周皮形成層, P: 1 次形成層, V: 導管。図中の矢印は染色部位を, 棒線は 100 μ m を示す。

形成層⁶⁾における ZR の分布が免疫組織化学的に確認されたことは, ZR の塊根形成への関与をさらに強く示唆するものと思われる。

このように, 1 次形成層での ZR の存在を組織化学的に示すことが出来たが, その他の組織では明瞭な分布像を得ることが出来なかった。塊根等の比較的大きな器官での組織レベルの検出手法としては, 固定法改良や感度向上等による染色強度向上と, 非特異的染色, 特に通導組織における非特異的染色の抑止が今後の課題と思われる。

引用文献

1. Eberle, J. et al. 1987. *Planta* 172: 289—297.
2. Matsuo, T. et al. 1983. *Plant Cell Physiol.* 24: 1305—1312.
3. Nakatani, M. et al. 1991. *Jpn. J. Crop Sci.* 60: 91—100.
4. 中谷 誠ら 1991. *日作紀* 60: 322—323.
5. Ohmiya, A. et al. 1990. *Plant Cell Physiol.* 31: 711—715.
6. Sossountzov, L. et al. 1988. *Planta* 175: 291—304.
7. Sotta, B. et al. 1985. *J. Histchem. Cytochem.* 33: 201—208.
8. 戸苅義次 1950. *農事試報* 68: 1—96.