



キュウリ果実切片のエチレン生成に対する methionineと1-aminocyclopropane-1-carboxylic acidの効果

寺井, 弘文
水野, 進
蔡, 龍銘

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 16(1):55-60

(Issue Date)

1984

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00225521>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00225521>



キュウリ果実切片のエチレン生成に対する methionine と 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid の効果

寺井 弘文*・水野 進*・蔡 龍銘**

(昭和58年8月10日受理)

EFFECT OF METHIONINE AND 1-AMINOCYCLOPROPANE-1-CARBOXYLIC ACID ON ETHYLENE PRODUCTION OF CUCUMBER SLICE TISSUE

Hirofumi TERAJ, Susumu MIZUNO and Lung-ming TSAY

Abstract

This study was conducted to determine the role of methionine and ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) on ethylene producing pathway in cucumber slice tissue.

When DL-methionine was infiltrated into the slice tissue at a concentration of 10 or 50 mM, the ethylene production by the tissue was stimulated and no significant difference in the rate of ethylene production could be detected between the two concentrations of methionine. The tissues were treated individually with D-or L-methionine at a concentration of 10 mM. As a result, the ethylene production was stimulated in the tissue treated with the D-isomer of methionine. When other amino acids (DL isomer mixed), namely, ethionine, phenylalanine, valine, or leucine, these amino acids were fed to the tissue by infiltration, only phenylalanine had the effect on acceleration of ethylene production. As in the case of methionine, the effect of D or L isomer of phenylalanine on ethylene production was examined. The D-isomer had a stimulatory effect on ethylene production but the L-isomer did not. On the other hand, treatment with ACC at a concentration of 0.1 mM or above increased considerably the rate of ethylene production as compared with the control.

Methionine, phenylalanine or ACC were fed to the cucumber slice tissue together with 1 mM of AOA (aminooxyacetic acid) which is known to inhibit ACC synthase in ethylene producing pathway. The rate of ethylene production in D-methionine treatment was reduced severely by treatment with AOA. However, AOA suppressed the ethylene production in D-phenylalanine treatment at a lower rate than suppressed in control, while the ethylene production from ACC was hardly inhibited by AOA.

These results suggest that the ethylene produced in cucumber slice tissue was generated through ACC synthesis, and the stimulation of ethylene synthesis by D-methionine depend on ACC synthase, however, D-phenylalanine increased the rate of ethylene production in a different way from D-methionine.

緒 言

エチレンは植物ホルモンの一つであり 植物の生育過程において重要な役割を担っている。植物におけるエチレンの生成経路については数々論議され、最近AdamsとYangはmethionine→S-adenosylmethionine(SAM)

→1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) →ethyleneの経路を発表した。それ以来、この経路について多くの研究がなされる様になった。一方、果実の成熟過程における climacteric型と non-climacteric型のそれぞれの果実にみられる相違点の一つは、前者が成熟時に自己触媒的なエチレン生成を行うのに対し、後者は外生のエチレンに感応(呼吸増加)するもの、自己はほとんどエチレンを生成しないところにある。

* 保蔵加工学研究室 **自然科学研究科資源利用
神戸市灘区六甲台町 Rokkodai Nada-ku Kobe

筆者らは果実におけるエチレン生成とその働について、生理学的な見地から研究を行っている。

本報告はその一環として non-climacteric 型果実に属し、熟度による生理活性の変化が少なく、かつ自己媒的エチレン生成を伴わないキュウリ果実の切片を用い、メチオニンと ACC のエチレン生成に対する役割を調べることを目的として、その添加効果をみたものである。

材料及び方法

実験材料として市販のキュウリ果実を使用した。キュウリ果実を厚さ 2~3mm の輪切り切片とし、果実の部位によるかたよりが生じないように、それぞれの処理区へ均等に配分した。添加処理に使用したアミノ酸、および ACC は水溶液とし、AOA (aminooxyacetic acid) は NaOH で pH7 に調整後使用した。キュウリ切片へのそれぞれの試薬の添加は 20枚の切片を溶液に浸漬し、70mmHg の減圧下で吸収させた。その後、切片表面の水分をふき取り、約 600ml の密閉したガラス容器に入れ、一定時間ごとに内部のガスを採取し、ガスクロによりエチレン濃度を測定した。ガスクロのカラム充填剤には、試料ガス内の炭酸ガスの影響を除くため、ポラパック Q を使用した。

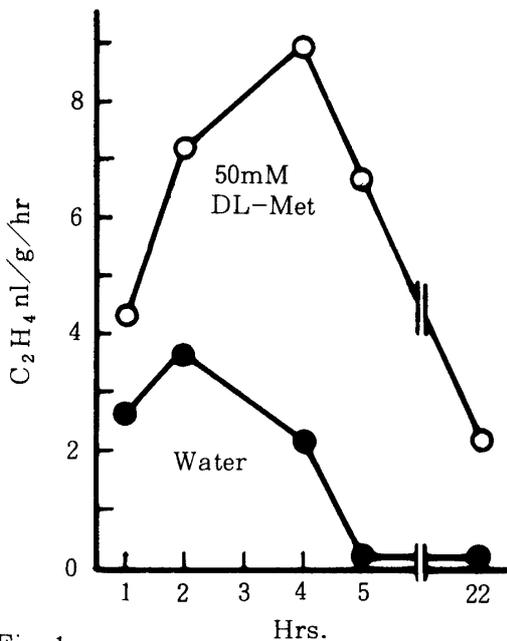


Fig. 1.

Effect of DL-methionine on ethylene production of cucumber slice tissue. After treatment by infiltration cucumber disks (2mm thick, 20 pieces) were incubated in a 600-ml flask at 20°C. Gas samples were withdrawn periodically, and ethylene was determined by GLC.

結 果

エチレンの前駆物質であるメチオニンをキュウリ切片に添加し、エチレン生成の様子をみたのが第1図である。対照区の水処理区においてエチレンの生成は認められたが 50mM の DL-メチオニン処理によりエチレンの生成はさらに増加し、DL-メチオニンに促進効果が示された。そこで、エチレン生成に対する添加メチオニンの濃度による影響を知る目的で、第2図に示した様に 50 mM と 10mM のメチオニンを添加した。その結果、10mM は 50 mM に比べ、生成量はやや少ない傾向があるものの、最大値およびそれに達するまでの時間には著しい差異が認められなかった。アミノ酸には D 型と L 型の立体異性体が存在し、タンパク質を構成するすべてのアミノ

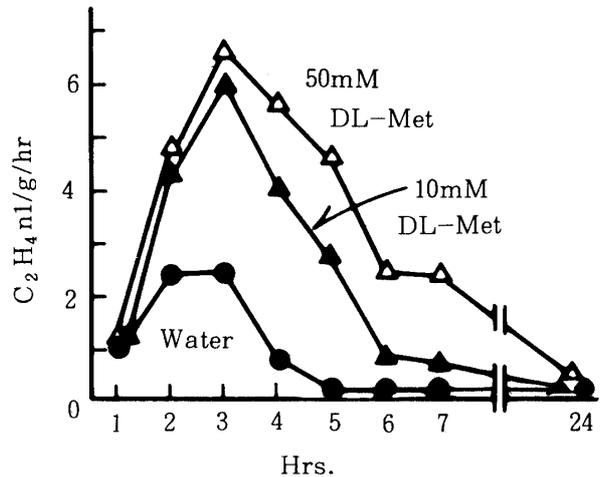


Fig. 2. Effect of DL-methionine in various concentrations on ethylene production of cucumber slice tissue. Experimental conditions were as given in Fig. 1.

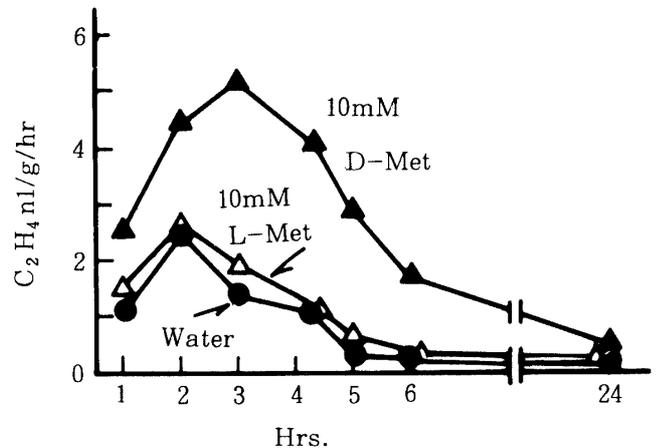


Fig. 3. Effect of D- or L-methionine on ethylene production of cucumber slice tissue. Experimental conditions were as given in Fig. 1.

酸はL型である。このキュウリ切片のメチオニンのエチレン生成に対する添加効果がD型によるものか、またはL型によるものかを調べるため、D型またはL型のメチオニンで個別に処理を行った。処理濃度は両メチオニンとも10mMを用い、結果を第3図に示した。D型とL型のエチレン生成に対する効果は、L型は対照区の水処理区とほとんど差異がなかったのに対し、D型は著しく促進した。つぎにメチオニン以外の数種のアミノ酸について、エチレン生成への影響を第4図に示した。スレオニン、エチオニン、バリン、ロイシンは水処理区と大差なく、DL-フェニルアラニンに効果が認められた。フェニルアラニンにエチレン生成の促進効果のあることがわかったので、今度はD型とL型のフェニルアラニンを個別に処理し、その効果を調べた。その結果を第5図に示した。D型のみには促進効果があり、L型は水処理区とほとんど相違なかった。つぎに、メチオニンからエチレンへの経路の中間物質であるACCを組織に添加し、エチレン生成への影響をみたのが第6図である。0.01mMではほとんど効果はなく、0.1mMで促進され、1mMで顕著なエチレンの発生があった。一方、メチオニンからエチレンへの代謝過程においてAOAはS-アデノシルメチオニンからACCへの段階を阻害する。そこで、D-メ

チオニンやD-フェニルアラニンによって促進されたエチレン生成は、ACCの合成過程を経由してなされたものかどうかを調べることを目的とし、両D型アミノ酸お

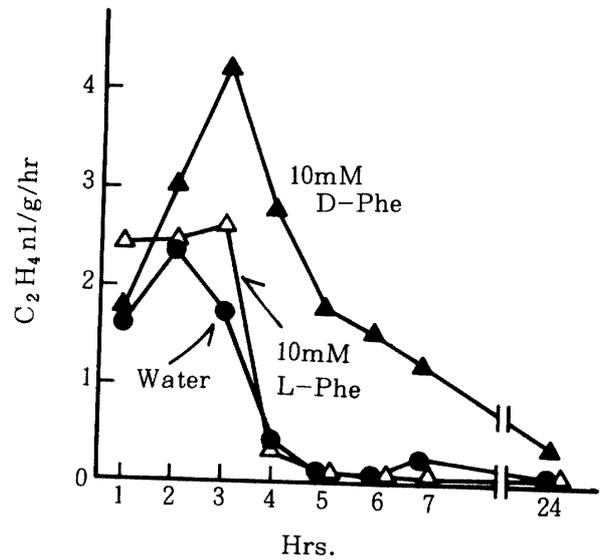


Fig. 5. Effect of D- or L-phenylalanine on ethylene production of cucumber slice tissue. Experimental conditions were as given in Fig. 1.

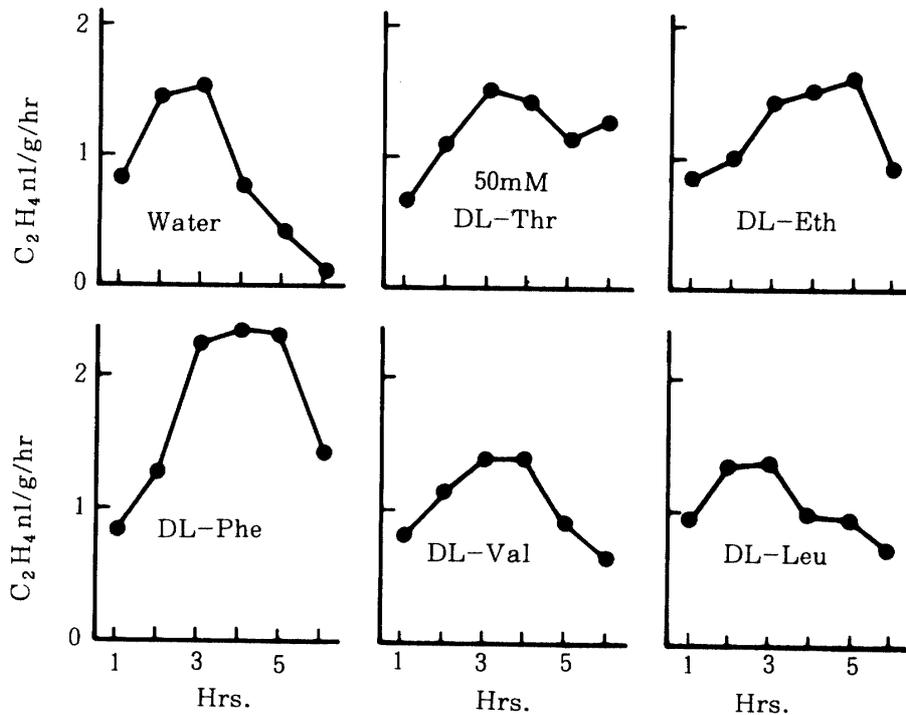


Fig. 4. Effect of several kinds of DL-amino acid (50mM) on ethylene production of cucumber slice tissue. Experimental conditions were as given in Fig. 1.

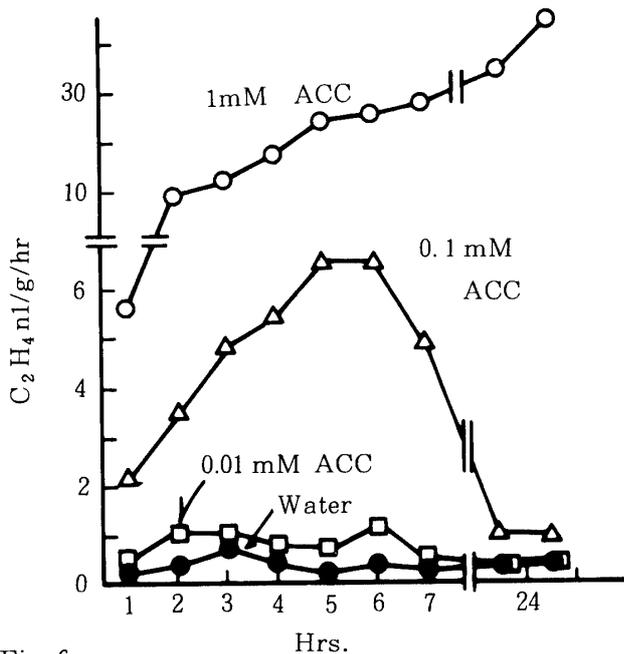


Fig. 6. Effect of ACC in various concentrations on ethylene production of cucumber slice tissue. Experimental conditions were as given in Fig. 1.

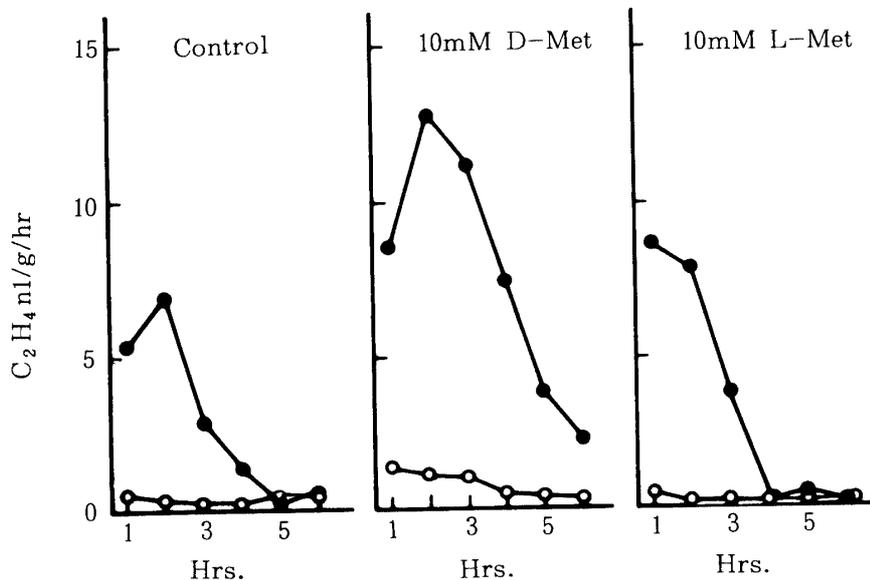


Fig. 7. Effect of AOA combined with D- or L-methionine treatment on ethylene production of cucumber slice tissue. AOA concentration was 1 mM, and the AOA solution was adjusted to pH 7 with NaOH. Experimental conditions were as given in Fig. 1.

○—○ With AOA, ●—● Without AOA

よびACCに1 mMのAOAを併用し、組織切片に添加した。メチオニンとの併用結果を第7図に、フェニルアラニンについては第8図、ACCについては第9図に示した。第7図のメチオニンについては、対照区およびL-メチオニン区のエチレン生成はAOAの添加により著しく阻害され、D-メチオニン区も同様高率で抑制された。また第8図のフェニルアラニンはD型区において、対照区での阻害ほど抑制されなかった。しかし第9図に示したACC処理については、0.1および0.5mMともAOAの有無による違いは、対照区でのAOAの有無による差以上の相違はなかった。

考 察

植物における内生エチレンの前駆物質について、多くの議論がなされてきたが、近年Baurらの研究から、メチオニンが最も有力視されるに至り、その中間物質としてSAMやACCの存在が明らかとなった。^{2) 3) 4) 5)} 本実験では、まずキュウリ切片にメチオニンを添加し、エチレンの生成をみた。その結果、対照区の水処理区においてもエチレンの生成が観察された。キュウリはnon-climacteric

型の果実に属し、intactな状態ではエチレン生成は非常に少ない。¹²⁾ したがって、このエチレン生成はいわゆるwound ethyleneであろうと思われる。DL-メチオニンを添加したものは、より促進されたエチレンの生成があり、メチオニンの添加効果が認められた。しかし、メチオニンはトレーサー実験により、エチレンへの取り込みは確認されているものの、一般的に、⁸⁾ かならずしも顕著なエチレン生成につながるとはかぎらない。^{5) 6)} この実験に用いたメチオニンはDL混合物であるところから、D型とL型を個別に処理し、その効果を確認した。その結果、L型に効果なく、D型に効果のあることがわかった。このことから、DL-メチオニンにおけるエチレン生成促進効果はD型によるものと思われる。生物を構成しているタンパク質はL型のアミノ酸であり、一般にD型は存在しないと言われている。またトレーサーの実験から、L型のメ

チオニンがエチレンの前駆物質であることが確認されて⁴⁾⁵⁾いる。そこで、他のアミノ酸について同様の調査を行ったところ、フェニルアラニンに効果のあることがわかり、さらにD型、L型個別の添加実験の結果、D型のフェニルアラニンに促進効果のあることが認められた。Satoh

¹¹⁾らは *Xanthium pennsylvanicum* の子葉において、メチオニンの他、ロイシン、スレオニン、エチオニン、バリン、フェニルアラニンのD型にエチレン生成の促進効果のあることを明らかにしている。しかし、本実験では、メチオニンとフェニルアラニンに効果があり、その他のアミノ酸では効果がなかった。このことについて、Liuらは⁹⁾mung beanの子葉を用いた実験から、D-メチオニンやD-フェニルアラニンはACCから1-(malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid (MACC) への経路を阻害し、それ故ACCが増加することになりエチレン生成が促進されると報告した。またHyodoらは⁷⁾カンキツのalbedo組織にACCを添加し、L-メチオニンを併用するとエチレンの生成は抑制され、D-メチオニンでは抑制されないことを報告した。一方、ACCはACC synthase によりSAMから合成され、Ethylene-forming enzyme でエチレンに分解される。そのACCをキュウリ切片に添加したところ、0.1mM以上で顕著なエチレンの生成があった。Cameronらは⁶⁾キュウリも含め、各種の野菜でACCの添加実験を行い、ほとんどの野菜で0.1mMのACCで顕著なエチレン生成を認めている。

つぎに、これらのエチレン生成に前述の経路がどのように関係しているかをACC合成の阻害剤を使用して調査した。AOAはAVG (aminoethoxyvinylglycine) と同様、ピリドキサル酵素であるACC synthase を阻害する¹³⁾。AOAの添加により、各処理区の対照区は著しくエチレンの生成が抑制され(第7, 8, 9図)、またD-メチオニンによるエチレンの生成も顕著に抑制された。D-フェニルアラニンもAOAによりエチレン生成は抑制された。しかし、その阻害率を対照区の場合と

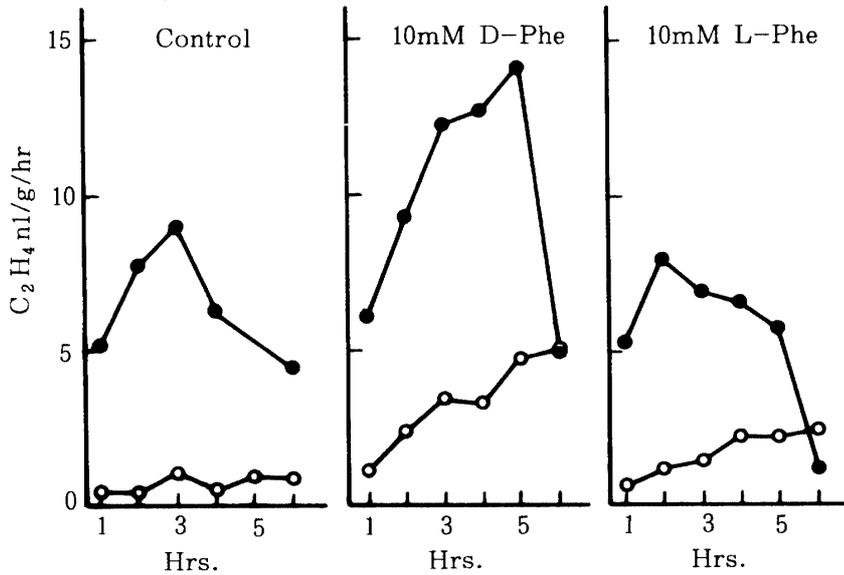


Fig. 8. Effect of AOA combined with D- or L-phenylalanine treatment on ethylene production of cucumber slice tissue. Experimental conditions were as given in Fig. 7.
○—○ With AOA, ●—● Without AOA

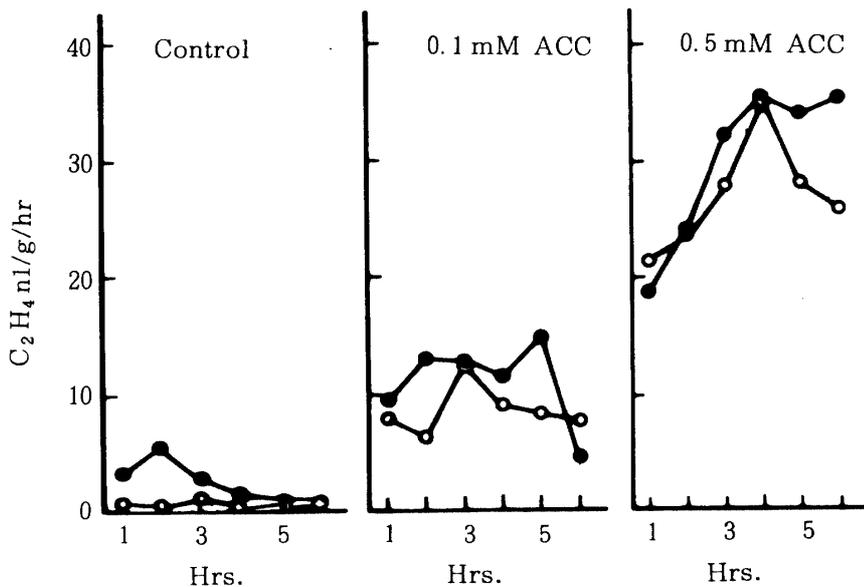


Fig. 9. Effect of AOA combined with ACC treatment on ethylene production of cucumber slice tissue. Experimental conditions were as given in Fig. 7.
○—○ With AOA, ●—● Without AOA

AOAはAVG (aminoethoxyvinylglycine) と同様、ピリドキサル酵素であるACC synthase を阻害する¹³⁾。AOAの添加により、各処理区の対照区は著しくエチレンの生成が抑制され(第7, 8, 9図)、またD-メチオニンによるエチレンの生成も顕著に抑制された。D-フェニルアラニンもAOAによりエチレン生成は抑制された。しかし、その阻害率を対照区の場合と

比較すると、D-フェニルアラニンのそれはさほど高くなく、D-フェニルアラニンによって促進された部分、すなわち、対照区とのそれぞれの差の部分はAOA処理の有無にかかわらず、ほぼ同量であった。このことから、D-フェニルアラニンにより促進されたエチレン生成は十分にAOAにより阻害されていない様に思われる。ACCについては、0.1 mMも0.5mMもAOAによりほとんど阻害されることはなく、そのAOA処理の有無による差は対照区での差とほとんど相違なかった。

以上のことを総合すると、non-climacteric 型のキュウリ果実でも障害によりエチレンを生成すること、さらにそれにはACC synthase が関係していることがわかった。またD-メチオニン、D-フェニルアラニンにL型ではみられないエチレン生成促進効果があったが、その作用機構については、AOAによる阻害実験から、必ずしも同一ではないものと思われた。

摘 要

本研究はエチレン生成経路におけるメチオニンとその中間物質であるACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) のエチレン生成に対する役割を、キュウリ切片を用いて調査したものである。

切片にDL-メチオニン (10mM, 50mM) を添加したところ、エチレン生成は促進され、両濃度間には大差がなかった。またD型、L型のメチオニン (10mM) を個々に処理した結果、D型にのみ促進効果があった。その他のアミノ酸として、スレオニン、エチオニン、フェニルアラニン、バリン、ロイシン、のDL型を添加し、促進効果をみたところ、フェニルアラニンのみ、その効果を認めた。フェニルアラニンについてD型、L型で効果を個別に調査したところ、D型にのみエチレン生成促進効果がみられた。一方、ACCを切片に添加したもので、0.1mM以上の濃度で著しい促進作用があった。

メチオニンからのエチレン生成経路で、ACCの合成を阻害するAOA (aminooxyacetic acid) を、メチオニン、フェニルアラニン、ACC等と併用し、キュウリ切片に処理をした。その結果、D-メチオニンについては、AOAによりエチレン生成は著しく抑制された。D-フェニルアラニンでは、AOAにより阻害されたが、対照区でのAOAの阻害率ほど効果はなかった。ACCについてはAOAの顕著な抑制効果はみられなかった。

引用文献

1. ABELES F. B., *Ethylene in Plant Biology*, ch 3, pp 30-57, Academic press, New York, San Francisco, London, 1973.
2. ADAMS D. O. and S. F. YANG, *Plant Physiol.*, 60, 892-896, 1977.
3. ADAMS D. O. and S. F. YANG, *Proc. Nat. Acad. Sci. (U. S. A.)*, 76, 170-174, 1979.
4. BAUR A. H. and S. F. YANG, *Plant Physiol.*, 44, 1347-1349, 1969.
5. BAUR. A.H., S. F. YANG, H. K. PRATT, and J. B. BIALE, *Plant Physiol.*, 47, 696-699, 1971.
6. CAMERON A. C., C. A. L. FENTON, Y. YU, D. O. ADAMS and S. F. YANG, *HortScience*, 14, 178-180, 1979
7. HYODO H. and T. NISHINO, *Plant Physiol.* 67, 421-423, 1981.
8. LIEBERMAN M., A. T. KUNISHI, L. W. MAPSON, and D. A. WARDALE, *Biochem. J.*, 97, 449-459, 1965.
9. LIU Y., N.E. HOFFMAN, and S.F. YANG, *Planta*, 158, 437-441, 1983.
10. McGLASSON W. B., *The Biochemistry of Fruits and their products 1* Ed. A. C. HULME, ch. 16, pp475-519, Academic Press, London and New York, 1970.
11. SATOH S, and Y. ESASHI, *Planta*, 149, 64-68, 1980.
12. WANG C. Y., and D. O. ADAMS, *Plant Physiol.*, 69, 424-427, 1982.
13. YANG S. F., *Recent Advances in the Biochemistry of Fruits and Vegetables*, Ed. J. FRIEND and M. J. C. RODES, ch 4, pp89-106, Academic press 1981.