

A-114 ニンジンとキュウリにおけるアスコルビン酸酸化酵素の組織化学的検出

広島大学校教育 ○田村 咲江
広島県猪山小 佐々木 香代子

目的 ニンジン(根部)とキュウリ(果実)におけるアスコルビン酸酸化酵素の局在性を
を知らることを目的として、スライドガラス上の非働体フィルムに基質を均一に含ませ、組
織片を貼り付けて切片中の酵素によって分解させ、分解した基質の位置から酵素活性の局
在性を知らる方法(基質フィルム法)を用いて実験を行った。

方法 富士原子核乾板(BM type, 15 μ), 富士オートラジオグラフ乾板(同)又はコダック乾
板(プロジェクター用)を未使用で現像・定着・水洗・乾燥し、2% ASA 相当濃度
の ASA と ASA-Na を用いて pH 5.6 に調整した基質液に 37 $^{\circ}$ C 30分浸漬し基質フィルムとした。試
料をクライオトーム(Lipshaw)にて 20 μ の切片とし、基質フィルム上に貼り付け、20 $^{\circ}$ C 又は
37 $^{\circ}$ C で 2~10分反応させた後、暗室で 10% AgNO₃(pH 4.0)を滴下し 15分放置した。純水の流れて
膜面から切片を剥ぎ取り、反応後のスライドガラスと切片をテオ硫酸ナトリウムに浸漬し
た後水洗した。前者は乾燥後封入し、後者は緩衝ホルマリン液で固定後スライドガラスに
貼り付け、フイトグリーンとサフラニンの二重染色を施した。

結果 残存した基質には銀が沈着しているが、酵素活性の強い部位は透明野として観察
される。ニンジンの柔組織では、細胞内に ASA 酸化酵素活性が強く、細胞壁は極めて弱いの
に比べ、導管では内部は活性をほとんど示さず導管壁が強い活性を示した。キュウリの果
実では皮層部柔組織の一部に 20 $^{\circ}$ C 2分の作用ですでに細胞の形をとどめない位強い反応が
みられた。若い種子では種皮に子葉よりも強い活性がみられた。キュウリにおいても導管
壁に強い活性が観察された。