

生体内の鉄及び含鉄成分に関する研究 (第3報)⁽⁶⁾

葉緑体中の鉄について

金森 正雄

Studies on Form of Iron and Iron-containing Material in Living Tissue.

III. On the Iron of Chloroplast.⁽⁶⁾

By

MASAO KANAMORI

A. 緒言

著者は前報⁽¹⁾⁽²⁾に於て植物体に於ける鉄の分布並に葉部の形態等について報告したが、その結果、葉部の而も葉緑体と考えられる部位に可成りの量の鉄を見出したので、更に進んで葉部に於ける各種酵素作用及び生理作用の根源である Chloroplast について、これを大阪白菜を試料として単離し、その組成及び鉄の形態等を調べたので以下これを報告する。

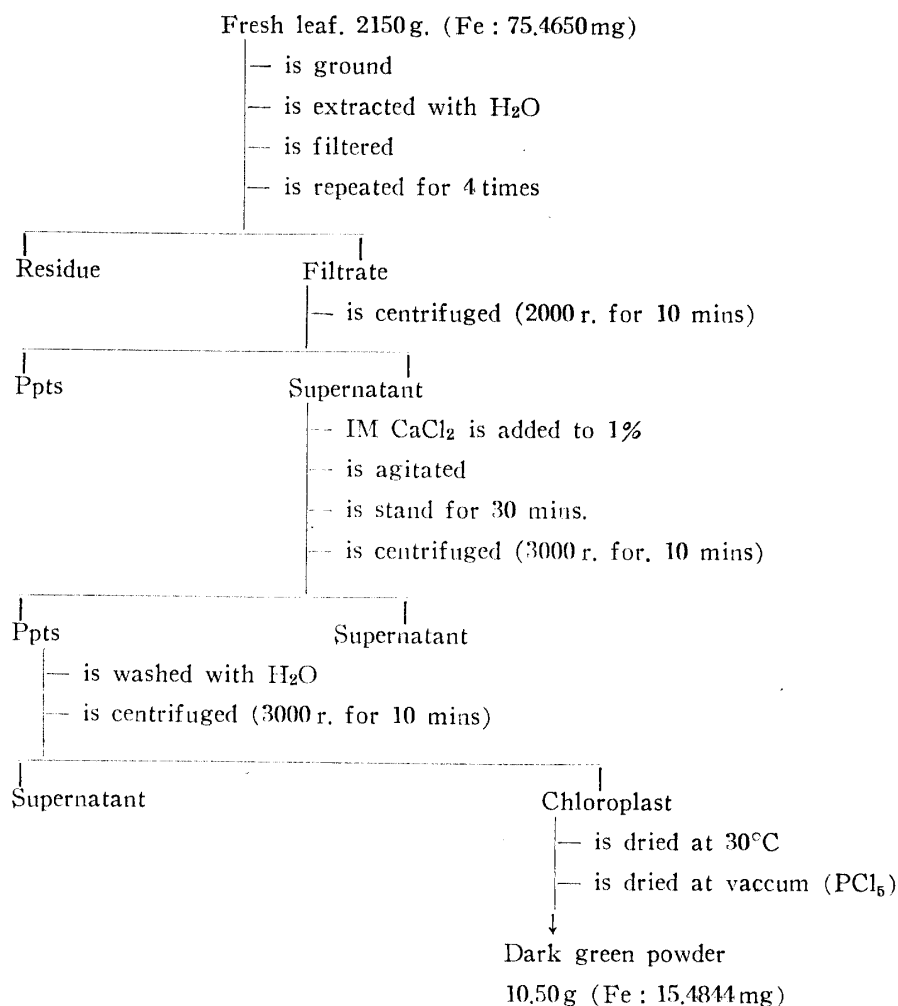
B. 実験結果並に考察

Chloroplast の単離とその性質に関しては、Arnoff⁽³⁾ Menke Bakatsu, Neish, Granick & Hill et al 等の数多くの研究がある。これらの単離法を大別すると、先づ Chloroplast を抽出する方法として、H₂O, glucose sucrose phosphate buffer 等を使用する方法と、沈澱させる方法として、CH₃COOH, CO₂, CaCl₂, MgCl₂, (NH₄)₂SO₄, centrifuge 等を使用する方法とがあり、この抽出、沈澱法を組合せた各種の方法が存在する訳である。著者はこれらの各方法を追試して、比較的便利な方法であつた CaCl₂ を使用する方法を modify して Table 1 の如き操作を反復して、大阪白菜から Chloroplast を単離した。即ち新鮮葉 2150g から 10.5g の dark green の Chloroplast powder を得その収量は略 0.5%であつた。

得られた Chloroplast 並に原試料の組成を見た結果は Table 2 の如くであり、その 60% は protein で ash の含量も 11% と可成り高含量であつたが、この結果は Menke⁽³⁾ が spinach から得た Chloroplast の組成、即ち protein 47.7%, lipid 37.4%, ash 7.8% と比較し、ash protein 共に多少多かつたが、略同じ値を得た。尙亦、鉄の含量を前報⁽¹⁾によつて定量したところ 15mg per. 1g of chloroplast で相等高含量であつた。Neish & Menke⁽³⁾ の報告の如く、灰分、鉄の大部分は Chloroplast 中に集中しており、殊に全鉄の 1/3 が Chloroplast に存在し、収量より判る如く、約5倍に増加して Chloroplast 中に集中する。Fe/N, Fe/Ash, Fe/Dry matter の比も原試料に比し、夫々4,5,4倍に増加しており、このことから Chloro-

plast, 中に鉄が多く, 集中して存在することが認められた。

Table. 1. Isolation of Chloroplast.



次に Van Slyke⁽⁴⁾ 法によつて, Chloroplast 中の amino-N の分布をみた結果は, Table 3 の如くで, soluble-N が大部分で, mono-amino-N が多く, basic-amino-N はその1/4に過ぎなかつた。その中, arginine は殊に多く, cystine も多く含有されていた。

以上の事から大阪白菜の Chloroplast は, protein を主体として, その他 lipin, chlorophyll, ash, carbohydrate 等を主成分としていることが推察される。

次に Chloroplast を Table 4 の如く fractionation して, 鉄の形態並に, その含量を定量した結果は, Table 5 の如くであつた。(鉄の定量は何れも前報⁽⁴⁾によつて行つた。) その結果によると, Nitrogen の 50% は, soluble な albumin globulin glutelin の形態で存在し, その部分に全鉄の約 30% が含まれており, 大部のものは, protein と結合して存在していると推測されるが, これは各 fraction 中の Fe/N の比が略 1 : 100 であること, 及び小松菜, 菠薐草等について同一の結果を得ていることから推察される。

Table. 2. Composition of Chloroplast.

	Osaka Shirona		Isolated Chloroplast		
	Fresh matter	Dry matter	Fresh matter	Dry matter	
Weight	g	2150	—	10.50	—
Moisture	%	91.41	—	7.89	—
Ash	%	1.51	17.58	11.21	12.17
Total-N	%	1.03	11.99	9.29	10.09
Crude-protein	%	6.44	7.49	58.06	63.06
Starch	%	—	—	0.64	—
Total iron in sample	mg.	75.4650	—	15.4844	—
Iron content per. 1g. of sample	mg.	0.0351	0.4086	1.4747	1.6011
Fe/N		1 : 280	—	1 : 70	—
Fe/Ash		1 : 430	—	1 : 80	—
Fe/Dry matter		1 : 246	—	1 : 60	—

Table. 3. Distribution of Amino Acid in Chloroplast.

Insoluble-N	%	6.19
Soluble-N	%	93.81
Ammonia-N	%	9.96
Humic-N	%	7.26
Arginine-N	%	15.34
Cystine-N	%	4.62
Histidine-N	%	2.19
Lysine-N	%	2.88
Total-N in filtrate from bases	%	53.55
Amino-N in filtrate	%	41.09
Total-N in form of bases	%	25.03
Amino-N in form of bases	%	12.06

Aceton 抽出の Ext-IV は chlorophyll と lipin 及び其他僅少の各種成分, を含むと考えられ, 之の fraction 中にも僅かの鉄を含んでいたことは, 興味のあることであるが, これが不純物として存在しているのではなからうかとも考えられる。chlorophyll については, tomato⁽⁵⁾ では 1.2×10^{-12} g Elodea⁽⁶⁾ では 2.5×10^{-12} g of chlorophyll per. chloroplast を含むと, 言は

れ、protein と chlorophyll 分子間との関係は、葉の中の chlorophyll の状態を知るのに重要であるが、chloroplast 中では protein 100000 平均分子量に対して 30 chlorophyll 分子量が存在すると言はれる。

Ppts 中に残存する大部分の nitrogen は denaturate によつてできた insoluble protein であると推論出来る。尙 Chloroplast の protein⁽⁹⁾ は glutelin 様のもと言はれるが、この点に関しては、以上の結果からは判断し難いが多少はうなづける。然し何れにしても、Chloroplast の protein の本体に関しては protein の変性なしに、而も enzyme の変性破壊なしに、lipid を除去し得られねば、その特性を明白にすることは出来ぬと推論される。

Table. 4. Fractionation of Chloroplast.

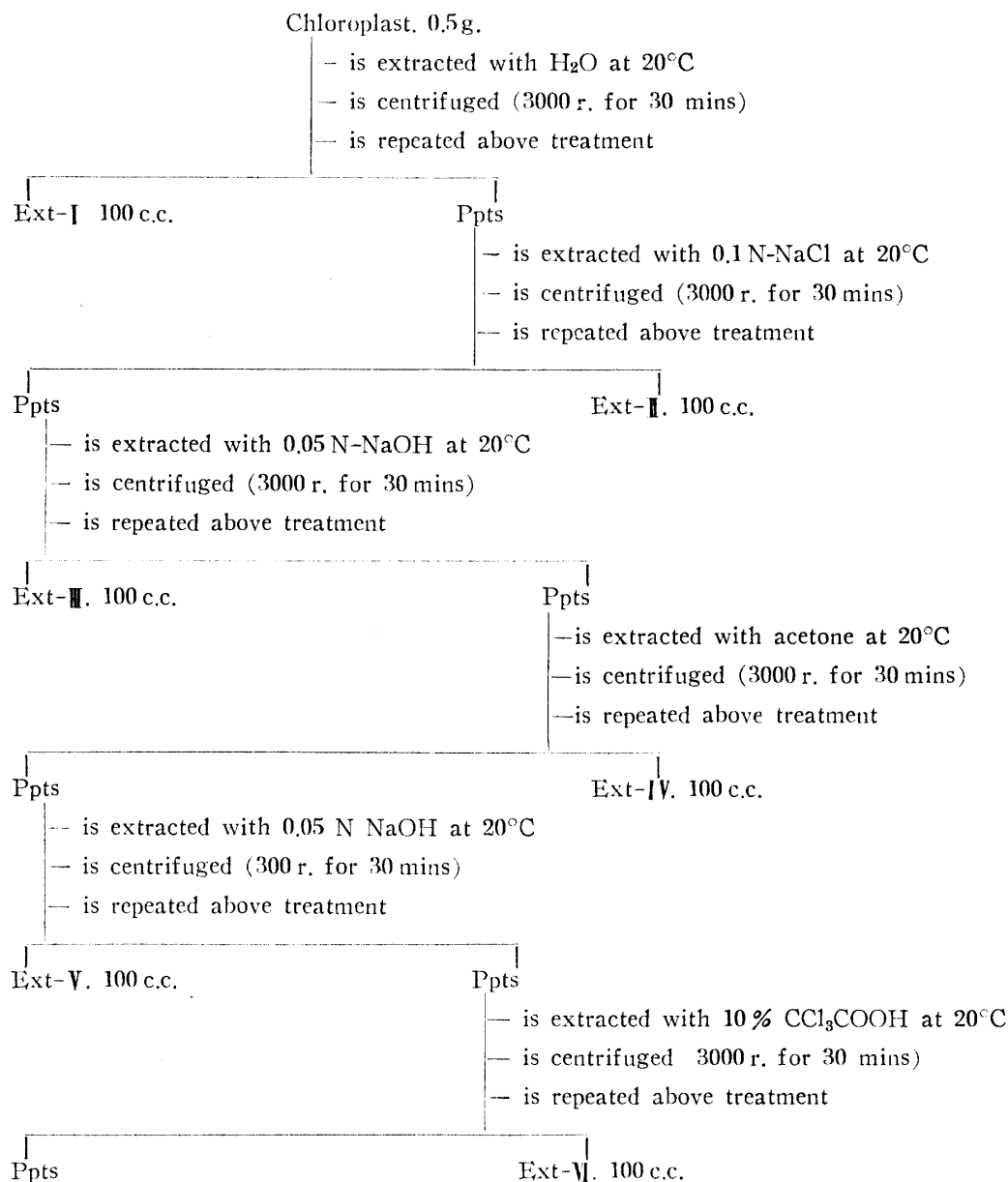


Table. 5. Iron and Nitrogen Contents in Fractionated Chloroplast.

	Iron contents	% in Total iron	Nitrogen content	% in Total nitrogen	Fe/N
	γ.	%	mg.	%	
Ext-I	84.5	11.46	9.81	21.11	1 : 116
Ext-II	19.8	2.69	1.88	4.04	1 : 95
Ext-III	126.2	17.11	11.90	25.60	1 : 94
Ext-IV	17.7	2.40	3.65	7.85	1 : 206
Ext-V	44.6	6.05	4.99	10.74	1 : 112
Ext-VI	trace	trace	1.25	2.69	—
Ppts	444.6	60.29	13.00	27.97	1 : 29
Total	737.4	100.00	46.48	100.00	—

次に Ext-I, II, III 夫々について、電気透析を行い、鉄の移動を調べたがその結果は Table 6 の如くであつて、勿論、透析液の pH, 温度、透析時間、電流によつて同一に論ずることは出来ぬが、これらの抽出液についての結果からは、所謂、イオン結合していると思はれる鉄は、Ext-I, II, III と夫々 15, 45, 65% であつて、albumin, globulin, glutelin 形態になるに従つてイオン結合している鉄は多くなつてゐることを認めた。albumin 形態のものの中では protein と鉄が極めて強く結合して、容易に透析膜外に出られなかつた爲と考えられる。即ち Ext. I, II, III で protein と結合していると考えられる鉄は 85, 55, 35% であると推論される。

続いて、各種酵素の補欠分子簇として存在する hemin-Fe の存在を Chloroplast について、前報の如く、間接・直接法によつて、確認、定量した結果は Table 7 の如くであつて、hemin-Fe は全鉄含量の 25% であつて、可成りの量を含み、この含量は protein と共存する鉄が、30% 存在する事実と、思い併せて興味ある結果であつた。

Table. 6. Determination of Iron by Electrodialysis.

		Ext-I	Ext-II	Ext-III
Total iron	γ.	84.5	19.8	126.2
Iron out of membrane	γ.	12.0 (14%)	8.7 (44%)	84.1 (67%)
Iron in membrane	γ.	72.5 (86%)	11.1 (56%)	42.1 (33%)

尙 Trifolium Pratense の Chloroplast に就て行つた Neish⁽³⁾ 等の結果によると、10% CCl₃COOH によつて抽出される無機形態の鉄は、全鉄の約 74% であり、大阪白菜の Chloroplast の無機形態の鉄と略相等しい結果であつた。従つて Chloroplast 中には全鉄の約 1/4 の hemin-Fe が存在すると考えられる。

Table. 7. Determination of Hemin and Non-hemin-Fe in Chloroplast.

		Direct Method	Indirect Method
Weight of chloroplast	g.	1.1905	1.4406
Total-Fe	mg.	1.7557	2.1244
Hemin-Fe	mg.	0.4310	0.5224
Non-hemin-Fe	mg.	1.3247	1.6020
Hemin-Fe/Non-hemin-Fe		1 : 3.073	1 : 3.066

終りに臨み終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜つた恩師京都大学農学部教授近藤金助先生に深甚の謝意を表する次第である。

C. 要 約

- (1) 大阪白菜から chloroplast を単離し、その化学組成、並びに鉄の形態を明にした。
- (2) 葉部の鉄は chloroplast に集中して存在することを認めた。
- (3) chloroplast protein 中の Fe : N の比は略 1 : 100 であつた。
- (4) chloroplast protein 中、電気透析によつて、半透膜外に出る鉄は water soluble NaCl soluble, NaOH soluble protein の順に多く、膜内に残る鉄は、この順に少かつた。
- (5) chloroplast は全鉄の約25%の hemin-Fe を含有していた。
- (6) chloroplast の amino-acid 分布から、mono-amino acid-N が多く arginine, cystine-N の含量が高いことを認めた。

D. 文 献

- (1) 金森：西京大学学術報告，農学第2号
- (2) 金森： “ “ “ “
- (3) A. C. CHIBNALL : J. Biol. Chem. **55** (1923) 333
S. GRANICK : Amer. J. Bot. **25** (1938) 561, 558
W. MENKE : Z. Bot. **32** (1938) 273
“ : Z. Physiol. Chem. **257** (1939) 43, **263** (1940) 104
“ : Kolloid. Z. **85** (1938) 256
R. HILL : Nature **139** (1937) 881
“ : “ **146** (1940) 61
“ : Proc. Roy. Soc. London, B. **127** (1939) 192
“ : “ **129** (1940) 238, 339
A. C. NEISH : Biochem. J. **33** (1939) 293, 300
S. ARO OFF : Plant. Physiol **21** (1946) 293

- (4) D. D. VAN SLYKE : Ber. **43** (1910) 5170
 " : " **44** (1911) 1684
 " : J. Biol. Chem. **9** (1911) 185
 " : " **10** (1911) 15
 " : " **12** (1912) 275
- (5) H. EULERS B. BORGMAN & H. HELLSTROM : Ber. Deut. Bot. Ges. **52** (1934) 458.
- (6) 本報告は1949年4月10日日本農芸化学会大会にて講演。

Summary

- (1) I have isolated chloroplast from *Osakasirona* and proved chemical composition and form of iron in it.
- (2) I have realized the iron in leaf is concentrate in it's chloroplast.
- (3) I have realized ratio of Fe : N in the chloroplast protein is 1 : 100.
- (4) I have realized the iron produce from membrane by electro dialysis increases in order water-soluble NaCl-soluble and NaOH-soluble protein, and the iron remains in membrane decreases in order water-soluble NaCl-soluble and NaOHsoluble protein.
- (5) I have realized hemin-iron of about 25% of total iron is contain in its chloroplast.
- (6) I have realized monoamino acid-N is much quantity and content of arginine, cystin-N is high by distribution on amino acid of chloroplast.