

# ノリのアイソザイムにみられる品種間差 (短報)

藤井 直幹  
(有明海研究所)

## Difference of Isozymes between 2 varieties of *Porphyra*

Naoki FUJII  
(Ariakekai Laboratory)

ノリ養殖の現場では、漁業者自身による優良なノリの選抜が従来から行われており、多くの「ノリの品種」が氾濫しているのが現状である。その名称の多さは漁業者が「品種」の選択を行う際に混乱を招いている。

本来、アマノリ類は構造が単純であり環境によって形態が容易に変化するため、品種の判別をその外観から行うことは非常に困難である。

アマノリ類のアイソザイムについては種間差を示唆した報告<sup>1)</sup>があるが、本研究では陸上植物のアイソザイム分析手法<sup>2)</sup>を既知のスサビノリの2品種に用いた結果、IDHおよびGDHアイソザイム像に品種間差が見られたので報告する。

### 方 法

分析に用いた2品種は、色彩が異なるため肉眼で容易に判別できるもので、養殖には使用されていないスサビノリの色素変異体ナラワグリーン (NG) とナラワレッド (NR) である。分析試料には室内培養によって得られた両品種の葉体を使用した。図1に葉体からの泳動用試料の調整方法を、表1に試料抽出液の組成を示した。

泳動用ゲルにはこれまでのデンブングルに代えて、7.5%のポリアクリルアミドゲルを使用し、泳動用試料を10 $\mu$ l、マーカーとしてBPB溶液を1 $\mu$ l添加した。泳動条件は10mA, 75V, 泳動時間は3時間とした。泳動用緩衝液にはTris-クエン酸緩衝液 (pH6.0~8.0) を用いた。

染色はIDH (Isocitrate Dehydrogenase), GDH (Gulutaminate Dehydrogenase), PGI (Phosphoglucoseiso-

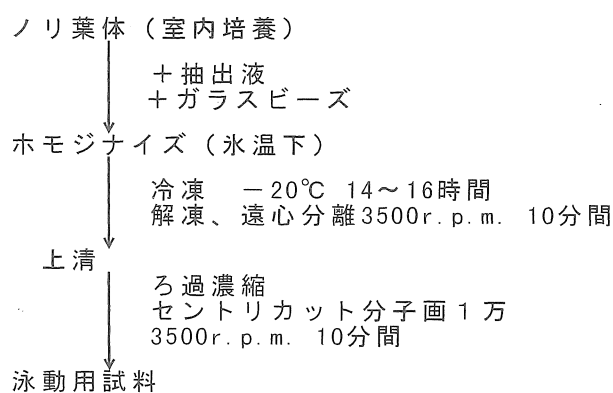


図1 泳動用試料の調整方法

表1 試料抽出液の組成 (250ml)

17.5g	Sucrose
1.5g	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
125mg	EDTA
250mg	L-Ascorbic Acid
0.25ml	Mercaptoethanol

merase), Malic Enzyme, MDH (Malate Dehydrogenase), FDH (Formate Dehydrogenase), ADH (Alcohol Dehydrogenase), 6-PDH (6-Phosphogluconate Dehydrogenase) の8酵素について行った。

これまでの筆者の経験から、アマノリ類は他の生物と比較すると酵素量が少ない、もしくは酵素活性が低いと考えられたため、Wendelが用いた処方<sup>2)</sup>を改変し、染色液の基質を2倍量、補酵素、PMS, NBTを4倍量とした。用いた染色液の組成を表2に示した。

表2 染色液の組成

<b>Alcohol Dehydrogenase (ADH)</b>	<b>Malate Dehydrogenase (MDH)</b>
25ml 0.1M Tris-HCl pH8.5 buffer	25ml 0.1M Tris-HCl pH8.5 buffer
1/3ml ethanol	1/3ml ethanol
0.5ml DPN	0.5ml DPN
0.4ml PMS	0.4ml PMS
1.0ml NBT	1.0ml NBT
<b>Formate Dehydrogenase (FDH)</b>	<b>Glutamate Dehydrogenase (GDH)</b>
25ml 0.1M Tris-HCl pH8.5 buffer	25ml 0.1M Tris-HCl pH8.5 buffer
1ml FA	1ml GA
1.0ml DPN	1.0ml DPN
0.6ml PMS	0.6ml PMS
1.0ml NBT	1.0ml NBT
<b>Isocitrate Dehydrogenase (IDH)</b>	<b>6-Phosphogluconate Dehydrogenase (6-PDH)</b>
25ml 0.1M Tris-HCl pH8.5 buffer	25ml 0.1M Tris-HCl pH8.5 buffer
1ml ICA	0.5ml 6-PGA
0.5ml MgCl <sub>2</sub>	0.5ml MgCl <sub>2</sub>
6drops TPN	6drops TPN
1.0ml PMS	0.4ml PMS
1.0ml NBT	1.0ml NBT
<b>Malic Enzyme</b>	<b>Prospoglucoisomerase (PGI)</b>
12.5ml 0.1M Tris-HCl pH8.5 buffer	12.5ml 0.1M Tris-HCl pH8.5 buffer
12.5ml dH <sub>2</sub> O	0.5ml F-6-P
2.5ml MA	0.5ml MgCl <sub>2</sub>
0.5ml MgCl <sub>2</sub>	8drops TPN
2.0ml TPN	8drops PMS
1.0ml PMS	1.0ml NBT
2.0ml NBT	0.5ml G6-PDH

DPN : B-Nicotinamide adenine dinucleotide 20mg/ml  
 TPN : Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate 10mg/ml  
 NBT : Nitro blue tetrazolium 10mg/ml  
 PMS : phenazine methosulfate 5mg/ml  
 ICA : Isocitric acid 50mg/ml  
 MA : DL Malic acid 100mg/ml  
 6-PGA : 6-phosphogluconic acid, trisodium salt 20mg/ml  
 G-6-PDH : Glucose-6-phosphate dehydrogenase 40ml  
 FA : Formic acid-sodium salt 1M  
 GA : L-(+) Glutamic acid-sodium salt 1M  
 MgCl<sub>2</sub> : 100mg/ml

## 結 果

酵素染色の結果の模式図を図2に示した。

IDHではNG, NRでそれぞれ陽極側に2本のバンドが検出され、移動度に差が見られた。陰極側のバンドは移動度に差が見られなかった。

GDHではNG, NRでそれぞれ陽極側に1本のバンドが検出され、バンドの移動度に差が見られた。

しかし、PGI, Malic Enzyme, MDH, FDH, ADH, 6-PDHではそれぞれ1本ずつのバンドが検出されたが、その移動度に差は見られなかった。

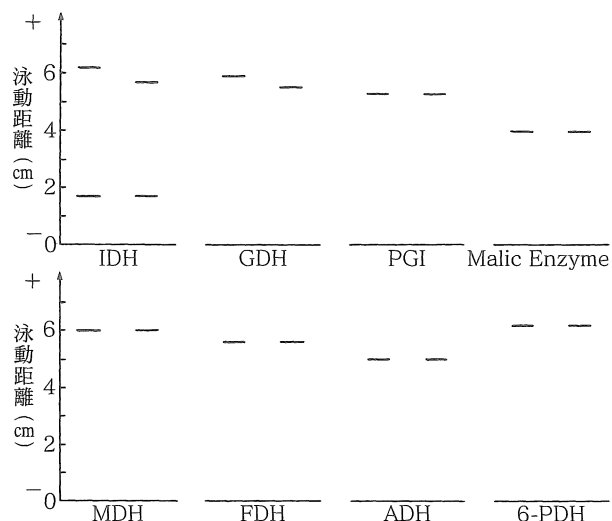


図2 泳動模式図

## 考 察

今回の結果は、外観から判別できる既知の2品種から得られたもので、外観上品種判別ができない養殖ノリでアイソザイムの変異が見られたわけではない。したがって、今回用いたアイソザイムが養殖ノリの品種判別に使用可能であるとは必ずしも言い難い。

しかし、色素が異なる品種でIDHとGDHに変異が見られ、品種間差が認められたことから、今後更に分析する酵素の検索や対象品種を増やすことで、アイソザイムにおける品種間変異を明らかにすることが可能であると考えられる。また、DNA解析と組み合わせることにより養殖ノリの品種整理が進み、遺伝育種研究にも利用できると思われる。

## 要 約

- 1) ノリ葉状体のアイソザイム検出にはポリアクリルアミドゲルを用いて、染色液の基質、補酵素、PMS、NBTの量を増やすことで明確なバンドを得ることができた。
- 2) スサビノリの2品種間でIDH, GDHのバンドに移動度の差が見られた。

## 文 献

- 1) 三浦和歌子, 藤尾芳久, 須藤俊造: ノリ葉体のアイソザイムについて. 藻類26:139-143. (1978)
- 2) J.F.WENDEL: Electrophoretic analysis of genetic variation in wild and cultivated *Camellia japonica* L. CAMELLIA ELECTROPHORESIS PROCEDURE (1983)