

1Da-4

Nicotiana 属植物の花粉培養Ⅶ. 未成熟花粉の脱分化過程において特異的に見られる蛋白質リン酸化パターン。
京 正晴, 原田 宏 (筑波大・生物)

演者らは、Nicotiana rustica および Nicotiana tabacum の発生段階のもつた比較的均一な未成熟花粉集団を用いた培養系を開発し、以下の様な知見を得、既に報告してきた。(Plant Physiol. 1985, Planta 1986) i 特定の発生段階(Stage III)にある花粉のみが不定胚の起源となる。ii 未成熟花粉が細胞分裂能力を獲得(以下脱分化とよぶ)するためには数日間の飢餓処理が必要である。iii N. tabacum においては、基本培地中の glutamine の有無によって Stage III 花粉を *in vitro* で成熟(正常発生)あるいは脱分化させることができる。この比較的均一な細胞で構成された培養系を用いて未成熟花粉が脱分化する過程で特徴的に生じる物質的变化を見出すことを目的として、蛋白質について検討してきた。既に報告した様に蓄積蛋白質および $[^{35}\text{S}]\text{-methionine}$ によってラベルされた蛋白質を二次元電気泳動法で展開し、銀染色およびフルオログラフィによって調査した限りでは花粉の培養経過に伴って脱分化過程に特徴的に表われるスポットは見出せなかった。(1985年度植物組織培養シンポジウム) しかし N. rustica において $[^{32}\text{P}]\text{-orthophosphate}$ を培地に添加し、*in vivo* ラベルしたリン酸化蛋白質の二次元展開パターンをオートラジオグラフィによって調査したところ Stage III 花粉では見られるがその前後の発生段階の花粉ではわずかに見られないスポットが飢餓処理過程で出現してきた。(1986年度植物生理学会) 今回 N. tabacum において同様の実験を行ったところ N. rustica の場合と同様に Stage III 花粉の飢餓処理過程で時間経過にともなって一群のリン酸化蛋白質(a~d)が比較的酸性側の低分子領域に現われた。glutamine 存在下で Stage III 花粉が成熟する過程では a~d はほとんど見られずそれとは別に比較的塩基性側の低分子領域に一群のリン酸化蛋白質(g~i)が顕著に現われた。スポット a~d は培地中の glutamine 濃度が低い程顕著になり、スポット e~i は glutamine 濃度が高い程顕著になった。ところで演者らはこれまで様々な物質の培地への添加が脱分化に与える効果を検討してきたが、その中でサイトカニン(BA)は強い阻害効果をも、EDTA は促進効果をも各々有することを見出した。それらの物質の添加が蛋白質リン酸化パターンに与える影響をしらべたところ、BA 添加によってスポット a~d および e, f はかなり選択的に退色し、EDTA 添加によってスポット a~d 以外の大部分のスポットがほぼ消失した。また EDTA の添加によって本来ならば脱分化を誘導し得ない Stage IV 花粉の多くを脱分化させることができたがこのときスポット a~d は極めて顕著に出現した。以上のことは蛋白質 a~d のリン酸化が花粉の脱分化の必要条件であることを示唆している。