

## 1Da-6

ヒヤクニチソウ単離葉肉細胞の tracheary element 分化  
に先立つ核 DNA 合成の解析

○杉山宗隆, 駒嶺 穆 (東北大・理・生物)

ヒヤクニチソウ (*Zinnia elegans*) 単離葉肉細胞からの tracheary element (木部管状要素) の分化は、細胞周期に依存せず、S 期 DNA 合成を必要としない<sup>1)</sup>。これにもかかわらず、この分化は、aphidicolin をはじめとする各種の DNA 合成阻害剤によつて阻止される<sup>2)</sup>。これらの現象から、演者らは、tracheary element 分化には何らかの特殊な DNA 合成が必要であると考へ、分化過程における DNA 合成について研究を続けている。

前回の植物生理学会年会では、葉肉細胞の培養初期には aphidicolin 非感受性の DNA 合成がきわめて盛んであり、これが葉緑体 DNA 合成であること、aphidicolin によつて阻害されるのは核 DNA 合成のみであることを報告した。今回、オートラジオグラフィを行なつて、分化に先行する核 DNA 合成について検討したところ、核あたりの銀粒子数において明らかに S 期 DNA 合成と区別される "extra DNA synthesis" を見出だしたので、報告する。

オートラジオグラフィは、プロトプラスト・ホモジエネートの塗沫標本を用いて行なつた。ホモジエネートは、精製したプロトプラストを細胞分画用緩衝液の中で緩やかに破壊して得た。このホモジエネートをスライドグラスに塗沫し、風乾後、5% trichloroacetic acid と 95% エタノールに浸し、再び風乾して乳剤を塗布した。露光・現像の後、Hoechst 33258 染色により核を確認し、葉緑体等との重なりがない核について、銀粒子を計数した。

1  $\mu\text{Ci}/\text{ml}$  medium, 40~60 Ci/mmol の  $[^3\text{H}]$ thymidine で細胞をパルス処理し、オートラジオグラフィを行なつた場合、露光を10日間とすれば、S 期核は夥しい銀粒子で真黒になるが、この条件下で数個~10数個の疎らな銀粒子を伴う核の存在が認められた ("extra DNA synthesis")。このような核の出現頻度は、培養24時間目に最も高く、48時間目にはかなり低くなり、60時間目以降では殆どの核に銀粒子が見られなくなった。Aphidicolin の tracheary element 分化に対する効果からは、分化に必要な DNA 合成は培養20時間目前後から始まっていると推定され、オートラジオグラフィで見出だされた "extra DNA synthesis" が分化に必要な DNA 合成であるという考へと矛盾しない。しかし、この "extra DNA synthesis" は、50  $\mu\text{M}$  の aphidicolin の連続投与 (分化を完全に阻害する条件) によつても、完全に阻害されず、分化との関連についてはさらに検討しなくてはならない。なお、銀粒子の核内での局在 (核小体への集中など) はとくに観察されなかった。

1) Fukuda, H. and A. Komamine (1981) *Physiol. Plant.* 52: 423-430.2) Fukuda, H. and A. Komamine (1981) *Plant Cell Physiol.* 22: 41-49.