3Da-4

ニケニケソウ同調培養系の細胞周期における
ミトコンドリアDNA合成

○赤田 咲子・駒嶺 楊 (東北大・理・生物)

植物細胞の細胞周期の進行に関連して、細胞小器官の複製・分裂、あるいは構造変化・消長を追跡することは、細胞周期におけるそれらの小器官の役わり、ひいては細胞周期の進行機構そのものを知るうえで重要である。

われわれは網野ら(1983)によって開発された¹⁾2度のリン酸飢餓処理によって得られたニケニケソウ同調培養系を用い、さきに植物組織培養シンポジウム(昭和60年・神戸)において細胞周期中でのゴルジ体の変動について報告したが、今回は、細胞周期におけるミトコンドリアの分裂増殖周期の解析を試みたので報告する。

同調培養細胞を³H-チミジンで経時的に90分間パルスラベルし、1000g分画(主に核)とミトコンドリア分画への取り込みを調べた。ラベルした細胞はプロトプラスト化した後、テフロンホモジェナイザーでおだやかに破砕し、1000gで10分間遠心した沈殿を1000g(核)分画とし、その上清をさらに12000gで20分間遠心し、得られた沈殿を粗ミトコンドリア分画とした。これを再懸濁しさらに1000gで10分間遠心して洗った後、核断片DNA及び壊れたプラスチドのDNAをDNase処理により除き、12000g、20分間の遠心で再び集めてミトコンドリアの分画を得た。²⁾

1000g(核)分画への取り込みは細胞周期開始後、18時間めにピークとなり、21~26時間めのあいだに細胞数の増加がおこった。一方、ミトコンドリア分画への取り込みは、S期直後または細胞分裂期にやや先立って、24時間めごろにピークが見られた。

さらに核DNA合成とミトコンドリアDNA合成とのあいだに相関があるかどうかを調べるために、DNAポリメラーゼαの阻害剤であるアフィディコリンの処理によって核DNA合成を阻害し、³H-チミジンの1000g(核)及びミトコンドリア分画への取り込みを調べた。S期開始時(10時間め)に培地には50μMとなるようにアフィディコリンを添加し、その後³H-チミジンで経時的に90分間のパルスラベルをし、細胞を破砕して同様の分画を行った後、1000g(核)およびミトコンドリア分画の放射能を測定した。その結果、アフィディコリン処理により1000g(核)分画への取り込みは完全に抑えられたが、ミトコンドリア分画への取り込みはアフィディコリンによる阻害がほとんど見られなかった。

以上の結果から、細胞周期に関連して、ミトコンドリアDNA合成には核DNA合成とは異なる何らかの周期が予想され、それが核DNA合成とは独立しておこる可能性が示唆された。

〈文献〉

- 1) Amino, S., T. Fujimura and A. Komamine (1983) *Physiol. Plant.* 59: 393-396
- 2) Jackson, J. F. *In Modern methods of plant analysis; New series vol. 1* p. 296-303