

3Da-5

吸水発芽時のヒマ種子胚乳におけるコハク酸脱水素酵素 (SDH) の生合成

江幡みどり、服部東穂、前島正義、中村研三、旭正
(名大・農・生化)

ヒマ種子の吸水発芽に伴い、胚乳組織ではミトコンドリアやグリオキシゾームなどのオルガネラが急速に発達することが知られている。吸水発芽時の胚乳組織は細胞分裂を行わない一方、ミトコンドリアタンパク質およびDNA量は増加することから、このミトコンドリアの発達は *de novo* の合成によるものであると考えられる。従って、ヒマ種子胚乳は、高等植物ミトコンドリアの生合成ならびにミトコンドリアタンパク質の遺伝情報発現や、それらの制御機構を解析する上で格好の材料となりうるものと考えられる。本研究ではミトコンドリア酵素のうち、電子伝達系の一成分であり、かつ、トリカルボン酸サイクルの一員でもあり、さらにグリオキシリル酸サイクルとの接点でもある SDH に着目して、そのサブユニットの特異抗体を用いることにより、その遺伝子支配を明らかにした上で、その生合成に関する知見を得ることを試みた。

ヒマ胚乳 SDH サブユニットの単離・同定と特異抗体の調製；SDH はすでに動物組織や酵母のミトコンドリアから単離精製され、分子量 70,000 前後のフラボタンパク質サブユニット (FP) と分子量 30,000 前後の非ヘム鉄タンパク質サブユニット (IP) を含むことが知られている。さらに高等植物のものについてもサツマイモやアラスカエンドウで同等のサブユニットから成ることが明らかにされている。本研究ではヒマ胚乳のミトコンドリア粗粒子から Emulgen 810 による可溶化および DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィーにより SDH を部分精製し、さらに 2 次元ゲル電気泳動により FP と IP に相当すると思われる分子量 66,000 と 31,000 のサブユニットを同定した。次にこれらサブユニットを SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により精製し、IP については Bulb C マウスに免疫することにより特異抗体を得た。また FP についてはすでに得られているサツマイモ SDH の抗 FP 抗体が、ヒマ FP と交差することを確認し、以下の実験に用いた。

吸水発芽時における胚乳ミトコンドリア SDH の生合成；ヒマ胚乳から調製した poly(A)⁺ RNA をコムギ胚無細胞系で翻訳させ抗 FP および抗 IP 抗体を用いて免疫沈降を行くと、それぞれ分子量 66,000 および 31,000 のポリペプチドが特異的に沈降した。この結果より、ヒマ SDH の FP および IP はともに核遺伝子によってコードされ、細胞質で分子量の大きい前駆体として合成された後ミトコンドリアへ輸送されるタンパク質であることが明らかとなった。次にヒマ種子吸水後胚乳の SDH 活性を経時的に測定すると、吸水後 2 日目以後から SDH 活性は増加しはじめ、5 日目でピークに達しその後急速に減少した。一方免疫ブロッティングにより定量したサブユニットタンパク質量も活性と平行して変動したことから、SDH の活性増加はこのサブユニットの *de novo* の合成によるものであることが明らかになった。さらに吸水発芽中の胚乳から経時的に poly(A)⁺ RNA を調製し、SDH サブユニットの mRNA 量の変化や、*in vivo* での ³⁵S-メチオニンの SDH サブユニットへの取り込みの変化について検討した結果についてもあわせて報告する予定である。