

1C-23

ミタ原系体細胞周期の進行に伴うタンパク合成の変化

長谷あきる 鈴木秀穂 古谷雅樹 (東大・理・植物)

本研究の目的は、細胞周期進行、特にG₁期の進行に関係するタンパク合成の変化を解析することにある。本研究に用いたホウライミタ原系体は、連続赤色光下で培養を続けると、細胞周期のG₁初期に留り先端生長を続けるが、暗所に移ると細胞周期は同調的に進行を始める。また、暗所に移す直前に短時間青色光を照射すると、その光量に応じてG₁期の長さが短かくなる(Miyata et al, 1979)ので、上記の目的に適した材料である。この細胞周期進行誘導後の総タンパク合成量には、誘導前後で大きな変化はみとめられなかった(長谷, 鈴木, 古谷, 日本植物学会45回大会, 1980)。そこで本研究では、O'Farrell(1975)の高分解能2次元電気泳動により細胞周期進行誘導後の種々の時期に合成されるタンパク質の種類を調べた。

理学部付属植物園で採集したホウライミタ胞子を滅菌し、0.1%の寒天を含む10倍希釈Murashige & Skoog無機塩溶液(1962)に接種し、1日間暗所で吸水後4日間連続赤色光下25°Cで培養した。この時点で寒天を含む培地を洗い流し、液体培地とすると2日間赤色光下で培養し、得た原系体を実験に用いた。

暗所に移し細胞周期進行を誘導した原系体を、G₁初期(誘導後0~2時間目)、G₁中期(同10~12時間目)、G₁後期(同20~22時間目)、S期(同24~26時間目)と推定される時期に40 μ Ci/ μ lの³⁵S-Metオニオンで標識し、細胞を超音波処理により破砕後、2次元電気泳動を行い、スポットをフルオログラフィーにより検出した。また2.0W/cmの青色光照射後暗所に移した原系体についても、G₁中期(誘導後5~7時間目)、G₁後期~S期(同12~14時間目)と推定される時期に標識を行い分析した。また対照として、連続赤色光下で培養7日目と8日目の原系体を2時間標識し泳動を行った。その結果、少なくとも198個のスポットが検出されたが、そのうち81個のスポットについては光条件や、細胞周期の時期にかかわらず認められた。また残りのスポットの多くは強度が弱いため、細胞周期の進行に伴う消長については現在検討中である。またこれらのスポットのうち3個については、細胞周期進行に伴う確実な変化が認められた。連続赤色光下でG₁初期に留っている原系体および暗所に移し細胞周期進行を誘導した原系体ではG₁中期と推定される時期まではスポット51aの合成のみが認められたが、G₁後期と推定される時期以後では、スポット51aが消え、かわりに等電点付近しくおむかに分子量が減少した位置にスポット51bが新たに認められた。この変化は、青色光照射によりG₁期を短縮する処理をした原系体においてもG₁中期と推定される時期以後に認められたので細胞周期の進行に関係している可能性が高い。またスポット196は、暗所に移した場合、G₁後期と推定される時期以後はじめに合成が認められたが、青色光照射を行った原系体では細胞周期の対応する時期においても認められなかった。

合成に変化が認められたアミノ酸の細胞内分布を明らかにしよりく目的、および分解能を上げる目的で、100,000 \times 上清分離についても現在同様の研究を進めている。