

3C-15

ジベレリンによるコムギ種子の酸性フォスファターゼ特異アイソザイムの合成促進について

秋山 高、内宮 博文、鈴木 恕（筑波大・生物）

ジベレリン (GA_3) 処理によるコムギ糊粉層酸性フォスファターゼの活性増大に關しては、既に報告した通りであり、またオオムギ、イネなどにおいても類似の活性増大が知られている。今回は、この活性増大の機序について、ゲル等電点電気泳動法によつて分離されるアイソザイムのレベルで検討した。

コムギ無胚種子の酸性フォスファターゼは、pH 勾配 3.5 ~ 10 の電気泳動によつて最低 9 種類のアイソザイムに分離されるが、 10^{-5} M GA_3 は、等電点を pH 4 に持つアイソザイム (pI 4 アイソザイム) の活性をほぼ特異的に増大する。したがつて、 GA_3 で誘起される酸性フォスファターゼの活性増大には、主にこの pI 4 アイソザイムが寄与するものと考えられる。このアイソザイムの活性増大はシクロヘキシミド (CHI) によつて完全に抑制される。なお、同様な pI 4 アイソザイムの増大は正常な発芽過程にある種子の糊粉層においても認められる。

次に、 GA_3 誘起の pI 4 アイソザイムの活性増大が、このアイソザイムの *de novo* 合成によるのか、あるいは既存の酵素の活性化によるのかを検討した。まず、コムギ糊粉層磨碎物の遠心上清から、75% 飽和硫酸塩析によつて得た粗標品を出発として、酸性フォスファターゼをリン酸三カルシウム処理により吸着分離し、それを等電点電気泳動にかけて pI 4 アイソザイムの部分を切り出し、これを SDS 電気泳動で分離したところ、タンパク質としてほぼ単一であることが確認された。pI 4 アイソザイム単離の前段階として、ここに用いた硫酸塩析に続くリン酸三カルシウム処理は、CM-セルロースカラムクロマトグラフィーに続く Sephadex G-100 ゲル層過より有効である。

上記の方法を用い、 GA_3 処理による pI 4 アイソザイムの活性増大と ^{35}S -メチオニンの取り込みとの關係を検討した。 GA_3 は pI 4 アイソザイムの活性増大およびラベルの取り込みを明らかに促進する。この GA_3 効果は、10 $\mu g/ml$ のシクロヘキシミドによりほぼ完全に阻害されるが、100 $\mu g/ml$ のコルジセピオンによつては、ほとんど抑制されない。しかし、これらの阻害剤は、 GA_3 による ^{35}S -メチオニンおよび 3H -ウリジンの総タンパク質および RNA への取り込み増大を明らかに抑制する。

以上の結果は、 GA_3 が pI 4 アイソザイムの合成の翻訳段階に影響を及ぼしていることを示唆する。言い換えると、pI 4 アイソザイムの合成に必要な mRNA は既に存在し、 GA_3 はその mRNA による pI 4 アイソザイムの合成を促進する可能性が強いと考えられる。未発芽の種子に寿命の長い mRNA が存在することは幾つか報告されている。現在、コムギ乾燥種子からの全 mRNA の単離と *in vitro* での pI 4 アイソザイムの確認を試みている。