

1Fp17

クラミドモナスのユビキチン化蛋白質の免疫生化学的解析

°下河原浩介、武藤尚志、宮地重遠（東大・応微研）

ユビキチンは、おそらくすべての真核生物に存在すると考えられている。分子量 8.5kDa、アミノ酸 76個よりなる進化的に非常によく保存された蛋白質である。我々は、簡単な体制を持ち生理条件の制御が容易な緑藻クラミドモナスを用いて植物においてユビキチンがどのような生理的意義を持っているかを明らかにすることを目的とした研究を行っている。クラミドモナスにもユビキチン (8.5kDa) 及びいくつかのユビキチン化蛋白質 (>60, 31, 28, 18kDa) が存在しており、その存在状態は Heat stress や代謝阻害剤 (L-canavanine) で、著しく変化する (1987年度植物学会大会)。またこれらのユビキチン化蛋白質のうち 31kDa, 28kDa は、強い塩基性の等電点を持つ、ヒストン様蛋白質である (同大会)。今回、これらのユビキチン化蛋白質の存在状態が、細胞分裂や栄養体から配偶体への分化誘導、および接合の過程でどのように変化するかを検討したので報告する。

<方法> *Chlamydomonas reinhardtii* 137c の同調的な分裂は、12時間おきに明暗を切り替えることにより誘導した。配偶体の誘導は 137c の mt- および mt+ 株で培地の窒素含量を制限することにより行った。配偶体は 8-24 時間でほぼ完全に誘導された。接合は、雌雄の配偶体を混合することにより 15 分以内に完了した。ユビキチン化蛋白質の検出は、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分離した蛋白質をウェスタンブロットして 抗ユビキチン抗体および ^{125}I 標識-プロテイン A によりおこなった。

<結果> (1) 細胞周期の進行する過程において、culture 当りでユビキチン化蛋白質のうち分子量 31kDa のもの (pI=10.2) は、明期で次第に増加するが暗期に入って分裂が起こるとやや減少した。

一方、28kDa (pI=9.0) は、明期ではほとんど増加せず、核 DNA の複製が起こっていると考えられる暗期に入って 4 時間以内の間に急激に増加した (図)。このことは、28kDa のユビキチン化されたヒストン様蛋白質が核 DNA 複製調節と密接に関連している可能性を示している。

(2) 配偶体誘導の際には、mating type にかかわらず 28kDa の増加が観察され、栄養体と配偶体を比較した場合に、28kDa と 31kDa の量比の逆転がおこった。

(3) 配偶体のユビキチン化蛋白質の存在状態は、雌雄配偶体を混合して接合体 (4 倍体) を形成させた後少なくとも 8 時間までは特に変化はみられなかった。

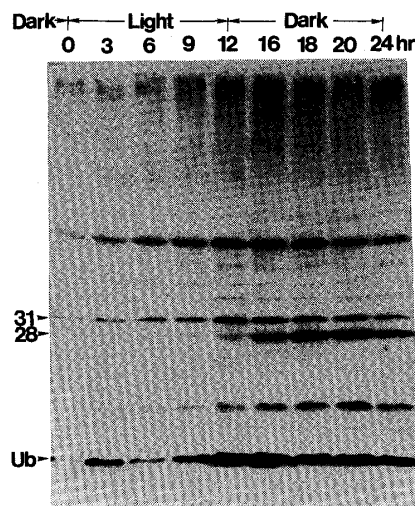


図 細胞周期の進行とユビキチン化蛋白質の変動。核 DNA の複製は Dark に入ってから 4 時間目までに完了している。Ub; 遊離のユビキチン。左の数字は分子量 (kDa)。