

1Bp-8

サツマイモミトコンドリアF₁ATPaseサブユニットの生合成部位

岩崎行玄, 畑 正 (名大・農・生化)

〈はじめに〉 高等植物細胞には、2種類のH⁺輸送性ATPaseが存在する。一つはミトコンドリア(Mt)内膜に局在するMtF₁ATPase, もう一方はクロロプラストチラコイド膜に局在するC₁F₁ATPaseである。両ATPaseは、H⁺濃度勾配を用いてATPを産生する機能を持ち、著しく類似したサブユニット構造を有する。これら酵素複合体の形成は、核DNAとオルガネラDNAの両者の複雑な支配下にある。C₁F₁ATPaseのF₁部位は5種類の分子量の異ったサブユニット(α, β, γ, δ と ε)より構成され、α, β と ε サブユニットはオルガネラ内で、γ と δ サブユニットは細胞質で合成されることが示されている。我々はすでにサツマイモMtF₁ATPaseを精製し、この酵素複合体が6種類の分子量の異ったサブユニット(α, β, γ, δ, δ' と ε)より構成されていることを明らかにしている。本研究では、このサツマイモMtF₁ATPaseのサブユニットが細胞質とMtのいずれで合成されるのかを検討した。

- 〈方法および結果〉 (1) 免疫競合実験を行うために、MtF₁ATPaseの各サブユニット(α, β, γ, δ と δ')を電気泳動法を用いて精製した。δ と δ' サブユニットは、¹²⁵Iで標識したサブユニットのペプチドマップを調べることによって、異なる分子種であることが明らかになった。
- (2) サツマイモ塊根組織より調製したpoly(A)⁺RNAを³⁵Sメチオニンを加えた小麦胚無細胞系で翻訳させた。翻訳産物を、抗MtF₁ATPase抗体を用いて間接免疫沈降し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動後フルオログラフィーによって解析した。複数の翻訳産物が検出されたので、精製したサブユニットを抗MtF₁ATPase抗体に競合させることにより、これらをさらに詳細に検討した。抗MtF₁ATPase抗体と反応する翻訳産物の分子量(MW)は約60,000, 58,000, 27,500, 27,000, 26,500 と 23,000 であった。このうち、MWが60,000 と 58,000 の2種はβサブユニット(MW:52,500)と、27,500, 27,000, 26,500 と 23,500 の4種はδサブユニット(MW:26,000)又はδ'サブユニット(MW:23,000)と競合した。δ と δ' サブユニットは異なる分子種にもかかわらず、免疫学的に類似していた。以上の結果より、MtF₁ATPaseのβ, δ と δ' サブユニットはpoly(A)⁺RNAをmRNAとして分子量の大きい前駆体で合成されることが示され、細胞質リボゾーム上で合成されることがわかった。
- (3) 単離したサツマイモミトコンドリアに、³⁵Sメチオニンを加えてタンパク質合成を行なわせた。この翻訳産物を、抗MtF₁ATPase抗体を用いて(2)で記した方法に従って解析した。この結果、αサブユニットがミトコンドリア内で合成されることが明らかになった。

〈考察〉 以上の結果より、サツマイモMtF₁ATPaseの場合には、6種類のサブユニットのうち、αサブユニットはMtDNA, β, δ と δ' サブユニットは核DNAによってコードされていることが示唆された。他の生物種のMtF₁ATPaseのサブユニットは全て核DNA支配であるのに対し、高等植物MtF₁ATPaseでは、少なくともαサブユニットがMtDNAにコードされている点に特徴があった。