

## 1Dp-9

## ヒマ種子発芽時におけるプロテインボディ膜タンパク質の変動の解析

深沢朝子・西村いくこ・西村幹夫・赤沢義

(名大・農・生化制御)

プロテインボディは単・双子葉植物種子の胚乳・子葉などの組織中に広く存在する一重膜でおおわれたオルガネラであり、貯蔵タンパク質の蓄積部位である。乾燥ヒマ種子中のプロテインボディは、長径約 $12\mu\text{m}$ の楕円体で、内部に2種類の封入体(グロボイドとクリスタロイド)を含んでいる。種子の吸水発芽に伴って、このプロテインボディ内の貯蔵タンパク質は分解され、アミノ酸源やエネルギー源として利用されてゆくが、その際プロテインボディ自身は相互に融合することによって最終的には細胞の大部分を占める液胞となることが、主として形態学的な研究から明らかにされている。また、発芽ヒマ種子においては、この変化に伴って膜の密度が大きく変化することも知られている。このようなプロテインボディから液胞への変換時における膜の変動現象、さらにオルガネラの融合機構の解明を目的として、プロテインボディ膜を構成する主要タンパク質の精製と characterization、および特異抗体の調製を行った。さらに、この特異抗体を用いて、種子発芽過程におけるプロテインボディ膜タンパク質の変動を解析し、形態学的に観察されるプロテインボディの融合現象との関係について調べた。

①プロテインボディ膜成分の調製; Mettler and Beevers [*Plant Physiol.* (1979) 64, 506]の方法に従って、ヒマ (*Ricinus communis* L. cv. Hale) の乾燥種子よりグリセロール中でプロテインボディを単離した後、その膜成分を分離した。この膜成分を、ショ糖密度勾配遠心によりさらに精製し、 $d=1.21\text{ g/cm}^3$ のプロテインボディ膜分画を得た。

②プロテインボディ膜の性質; プロテインボディ膜分画を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動にかけ、80kDa, 28kDa, 26kDa, 24kDa の4つの主要タンパク質成分を検出した。このうち、80kDa, 26kDa, 24kDa は PAS (Periodic Acid Schiff) で染色されることから、糖タンパク質であると考えられる。また、10 mM NaOH による抽出および Triton X-114 を用いる phase-separation の実験結果から、28kDa は膜内在性タンパク質と考えられた。

③発芽時におけるプロテインボディ膜の変動; ヒマ種子を一晩浸水した後、30°C、暗中で発芽生育させ、胚乳あたりの全タンパク質量および80kDaタンパク質量の変動を調べた。全タンパク質量は4日目以降急速に減少し始め、7日目でほとんど消失した。これに対し、80kDaタンパク質は2日目から3日目にかけて急激に減少した。

④発芽時における、プロテインボディ-液胞変換に関する形態学的観察; 発芽中のヒマ種子胚乳の組織切片の光学顕微鏡観察を行った。乾燥種子胚乳中には多数のプロテインボディが存在するが、発芽1~2日目からプロテインボディ周辺に構造的な変化が認められた。発芽3日目の胚乳細胞中においては、これらのプロテインボディの融合像が頻繁に観察され、4日目には内部構造をもたない液胞 (central vacuole) へと発達していった。