

2Bp-13

クラミドモナスの細胞壁溶解酵素の栄養細胞および配偶子における存在形態

松田吉弘, 斎藤達昭 (神戸大・理・生物)

単細胞緑藻, *Chlamydomonas reinhardtii* のプラス型とマイナス型の両配偶子を混合すると, 細胞融合に先立って, 鞭毛凝集, 細胞壁遊離, 対形成などの一連の反応がおこる。細胞壁の遊離は、細胞壁溶解酵素によっておこる。この酵素は、鞭毛凝集反応が引き金となって分泌が誘導され、配偶子は細胞壁を離脱すると同時に、酵素を培養液中に放出する。放出された酵素は、遊離細胞壁をさらに細かく分解する。私達はこれまで、培養液中の酵素を単離・精製し、分子量約 62,000 の糖タンパク質(1)で、亜鉛を含む金属プロテアーゼの1種であることなど(2)を明らかにした。さらに、本酵素は、細胞壁の内層部のコアペプチドを切断することによって、構造を破壊することも見出した(2)。今回は、酵素の細胞内存在部位、および、栄養細胞と配偶子における存在形態について調べた結果を報告する。

栄養細胞と配偶子をそれぞれフレンチプレスで破碎した。ホモジェネートに含まれる酵素活性を定量すると、配偶子のみに活性が認められた。しかし、細胞をいったん凍結融解すると、栄養細胞のホモジェネートにも、配偶子と同程度の活性が検出された。凍結処理しない栄養細胞のホモジェネートを用いて、これを超音波処理すると、活性が現われた。またこのホモジェネートを遠心分離したのちに超音波処理すると、15,000 ~ 30,000 ×g の沈澱部に、多くの活性が認められた。いっぽう、凍結融解した栄養細胞や配偶子のホモジェネートの場合は、ほとんどの活性が100,000 ×g の上清部にあった。細胞内部に見出された酵素活性は、培養液中に放出される酵素と同様に、コンカナバリニンAに特異的に吸着し、SH基修飾剤(ヨード酢酸, HgCl_2)や金属キレート剤(EDTA, 1,10-フェナンスロリン)に対して感受性であった。

栄養細胞をN源のない培養液に移し、配偶子誘導過程の各時期の細胞を集め、凍結しないでそのままホモジェネートを調製し、酵素活性を測定した。活性は、誘導開始後約4時間目から検出されはじめ、約8時間目に配偶子の活性レベルに達した。このカイネティックスは、細胞の鞭毛凝集能の獲得のそれと、平行関係にあった。逆に、配偶子培養液にN源を加え、配偶子を脱分化させると、細胞が接合能を完全に失った時点で、ホモジェネート中の酵素活性も検出されなくなった。しかし、その細胞を凍結融解するとホモジェネートに活性が現われた。栄養細胞や配偶子を酵素処理によってプロトプラストにすると、細胞内部には酵素活性がまったく検出されなくなった。細胞壁をもたない種々のCW変異株の細胞内にも、酵素活性はなかった。

以上の結果から、細胞壁溶解酵素は、栄養細胞にも、配偶子にも、おそらくペリプラスミックな部位に存在するが、その存在形態は、両者で明確に異なることが示唆された。

(1) Matsuda, Y., A. Yamasaki, T. Saito and T. Yamaguchi (1984) FEBS Lett. 166: 293-297.

(2) Matsuda, Y., T. Saito, T. Yamaguchi and H. Kawase (1985) J. Biol. Chem. 260: 6373-6377.