

Title	発芽時における種子貯蔵蛋白質の変動
Author(s)	原, いくこ
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/24604">https://hdl.handle.net/11094/24604</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【20】

氏名・(本籍)	原 いくこ
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 5 4 2 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 3 月 24 日
学位授与の要件	理学研究科 生理学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	発芽時における種子貯蔵蛋白質の変動
論文審査委員	(主査) 教授 松原 央 教授 殿村 雄治 助教授 山中 健生

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 第1章 序論

### 第2章 発芽時における子葉細胞中の蛋白質顆粒の形能変化および貯蔵蛋白質(種子グロブリン)の局在性

カボチャ種子、子葉細胞には卵形の蛋白質顆粒が多数存在していた。蛋白質顆粒の大部分を占めているのが蛋白質結晶体(クリスタロイド)である。種子の吸水が始まると蛋白質顆粒は融合する。発芽3日目になると蛋白質結晶体は小さくなり、周辺のマトリックスが内容物の密度の低下と同時に大きくなっていった。さらに吸水融合、分解をくりかえして、やがて細胞の大部分を占める液胞へ変化していった。この過程の蛋白質の分解の特徴は蛋白質結晶体は周辺から、マトリックスは内部から消化されたことである。種子グロブリンのケイ光抗体法によると、蛋白質結晶体は全くケイ光を示さず、発芽子葉のマトリックスのみがケイ光を示した。蛋白質結晶体は種子グロブリンから成ると考えられるので、マトリックスのケイ光は、グロブリンの分解産物によるものであろうと推定される。

### 第3章 カボチャ種子グロブリン

本グロブリンは分子量56,000と63,000の2種のサブユニットをもち、各々のサブユニットは $\gamma$ 鎖(分子量35,000)と $\delta$ 鎖(22,000)の2本のポリペプチド鎖がS-S結合したものであることがわかった。各ペプチド鎖を分離し、その蛋白質化学的性質を調べた。グロブリンは発芽時に分解されるが、その分解過程の特徴は、一度にアミノ酸や小ペプチドへ分解されるのではなく、一旦限定分解を受け、グロブリンより溶解度の高い $F_{\alpha\beta}$ (分子量45,000)を生じ、それが次の分解で小分子に消化されるという2段階から成っていたことである。 $F_{\alpha\beta}$ は $\gamma$ 鎖の分解物(分子量約20,000)と $\delta$ 鎖がS-S結合したもので、

第1段階の分解では $\delta$ 鎖は分解されず $\gamma$ 鎖が優先的に限定分解されることがわかった。

#### 第4章 蛋白質分解酵素と貯蔵蛋白質の分解

シクロヘキシイミド存在下で吸水させた種子中にはグロブリンを限定分解し $F_{\alpha\beta}$ を生じる活性が存在した。これは分離した $\gamma$ 鎖を分子量23,000と13,000の2種のペプチド鎖に分解したが、 $\delta$ 鎖を限定分解する作用はなかった。また $F_{\alpha\beta}$ と $\delta$ 鎖に特異的に働き小ペプチドを生じる活性も見つかった。一方正常発芽子葉よりの分解酵素はグロブリンに対する活性が弱かった。その一つであるBAPA分解酵素(Argの後を切る)を精製したがグロブリンを分解する作用はなかった。グロブリンはArgを多量に含んでいるので、恐らく第1段階(グロブリン $\rightarrow F_{\alpha\beta}$ )と第2段階( $F_{\alpha\beta} \rightarrow$ 小ペプチド)で生じた小ペプチドの分解即ち第3段階に働いて、アミノ酸を生成していると考えられる。

### 論文の審査結果の要旨

種子の休眠打破に伴う活潑な代謝の動きの中で重要なものの一つにいわゆる貯蔵蛋白質の分解がある。この機構の解明は発芽現象の理解に必須と考えられるが、そのくわしい研究は少なく、多くの問題を残している。原は貯蔵蛋白質をもっとも単純な形でグロブリンとして包含するウリ科とくにカボチャ種子グロブリンの発芽に伴う変動を研究し新しい知見をえた。先ず発芽に伴う種子の細胞が幼植物へと変換してゆく様子を電顕、高顕でつぶさに観察し、蛋白質結晶体が吸水後まもなく周辺より消失し、逆にマトリックスは膨張と融合をくり返して広がり、やがて液泡水となり蛋白質加水分解の重要な場所へと転換することを突き止めた。これらの変動を分子の変動と移動に関連づけるためグロブリン及びその限定分解物の蛍光抗体を作り、電顕観察をくり返したところ、吸水により結晶体が周辺からくずれマトリックス部へ移動することが確かめられた。従って限定分解により生じたフラグメント $F_{\alpha\beta}$ が水可溶性を増大していることと考え合わせ、マトリックス部への移動に伴う蛋白分解過程を容易なものとしていることが示唆された。これらの現象を分子レベルで解明するためグロブリンと $F_{\alpha\beta}$ のペプチド構成をくわしく検討し、 $\alpha$ (MW63,000)と $\beta$ (MW56,000)2種のサブユニットが一分子を形成し、それぞれが酸性、塩基性を示す大小2つのペプチドから成り、それらが1つのS-Sによって結合していることを示し、発芽に伴って大きいペプチドの1部が切断され、可溶性に変換することをつきとめた。最後にこの限定分解を起こす酵素が新しく合成されるものではなく、すでに種子に内在しており、これが何らかの形で不活性な状態で存在し、吸水に伴って活性化される事実をつきとめた。

以上種子が発芽する過程を解析することによって今まで何の特別な考慮も与えられなかった現象を新しい解釈にむすびつけ、今後の発展への重要な足掛りを与えたことは高く評価できる。従って理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。