

発芽および春化処理過程におけるコムギ 胚の窒素代謝について

そのⅥ ヒストンの分画

寺 岡 宏

高等植物における発育現象の解明を目的として、著者は秋まきコムギ春化処理の生理的機構についての研究をおこなってきた。その結果、春化処理胚の代謝系に正常の発芽過程ではみられない、特有の変化が低温の影響によって生ずることがみとめられた。特に前報(1, 2)においては、胚の可溶性蛋白質をイオン交換セルロースによって分画し、その構成パターンを比較した結果、春化処理によって、胚に新しい蛋白質が生成すること、そしてこれが核蛋白質と推察されるものであることを報告した。このような新しい蛋白質の生成に関連する要因の一つとして、ヒストンの変化が考えられる。即ち最近の報告によれば生体内における情報伝達機構にヒストンが何らかの役割りを果たしているのではないかとの知見が提出されている。以上のような観点から、著者は、発芽過程および春化処理過程における胚のヒストンを分画し、その構成のパターンを比較した。その結果、秋まきコムギと春まきコムギの間にはその構成のパターンに変化のあること、および、春化処理によって、秋まきコムギ胚のヒストン構成パターンが特徴的な変化をしめすことがみとめられた。以上の諸点についての結果を本論文において報告する。

材 料 と 方 法

実験に用いられた材料は、秋まきコムギ赤銹不知1号 (*Triticum vulgare* L.) および春まきコムギ農林75号 (*Triticum vulgare* L.) である。

赤銹不知1号は秋まき性の強い品種で開花の

ために約 65~70 日の低温処理を必要とするものである。これらの品種は北海道北見農業試験場において、1965年に収穫されたもので、1966年1月以降6月までの期間に実験に用いた。

発芽および春化処理の方法は前報(3)と同様であるが、発芽には電気低温度恒温器を用いて $27.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、春化処理には電気冷蔵庫に発振形温度調節計をくみ合はせて $1.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の条件下で実験を行った。

ヒストンの preparation

発芽および春化処理胚を胚乳から分離し、水で洗った後、約18時間、真空中で乾燥させる。実験に用いた胚の個数は、発芽1日目 秋まきコムギでは640ケ、春まきコムギでは600ケ、発芽3日目 秋まきコムギでは320ケ、春まきコムギでは310ケであった。また春化処理15日目の材料では525ケ、30日目の材料では575ケ、48日目の材料では520ケを用いた。乾燥した胚を粉碎機によって粉末状にし、岩井の核蛋白質から分離する方法(4)に従ってヒストンを抽出した。

ヒストンの chromatography

上の方法によって得られたヒストン溶液のpHをNaOHによって4.2に調整し、CARBOXYMETHYL-CELLULOSE COLUMN (2.2 cm × 12.0 cm) にとおした。その後 JOHNS et al (5) の方法にしたがって、次の溶出液を用いて、溶出を行った。溶出の速度は1分間約 1 ml にした。

溶 出 液

1. 0.1 M 酢酸—0.03 M NaOH 液, pH 4.2
2. 0.17 M 酢酸—0.05 M NaOH—0.42 M NaCl 液

pH 4.2

3. 0.01 N HCl

4. 0.02 N HCl

5. 0.1 N HCl

溶出液を連続的に *light path 5mm* 容量 0.3 ml の石英セルにとおし、2537 Å の吸収を 20 秒毎に測定し、自動的に記録させた。記録用紙は 1 時間 20 mm の速度で移動させた。紫外線の吸収および記録には UVICORD UV-ABSORPTIOMETER を用いた。上記機械を安定化させるため実験は 20~25°C の室温のもとでおこなわれた。

結 果

1. 発芽の胚のヒストン

秋まきコムギおよび春まきコムギの発芽期間中における胚のヒストンパターンを比較した(図1)。

その結果、秋まきコムギでは、発芽の進行にともない、発芽 2~3 日を境として、その前期と後期とでは、ピーク P_1 , P_3 , P_4 に変化がみとめられたが、春まきコムギの場合には発芽 1 日から 5 日にいたるまで、ピークの形にほとんど変化のないことがみられた。また春まきコムギと秋まきコムギの間ではピーク P_1 , P_3 , P_4 の形に相違がみとめられ、いずれも秋まきコムギの場合ピークが複数的な内容を示すことがみとめられた。

2. 春化処理胚のヒストン

秋まきコムギ春化処理 15 日、30 日、48 日の胚のヒストンパターンを比較した(図2)。

その結果、春化処理の進行にともない、胚のヒストンパターンに変化が生ずることがみとめられた。すなわち、春化処理 30 日位までの胚では、秋まきコムギ発芽胚でみられたピーク P_1 , P_3 , P_4 の特徴が消失し、春まきコムギのピ

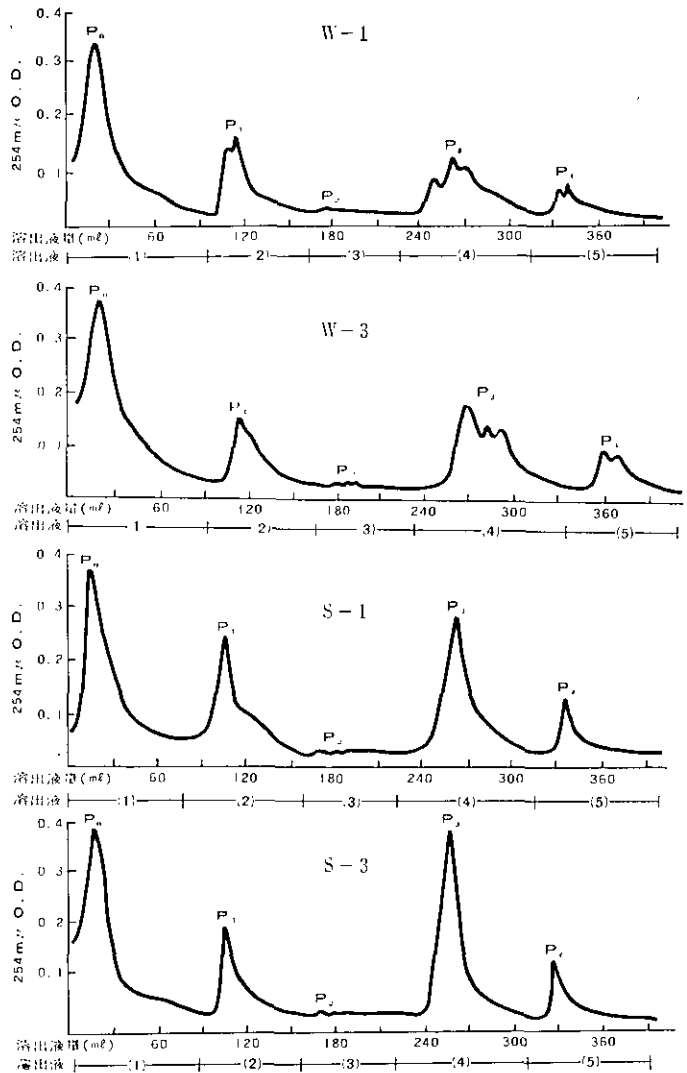


図1 秋まきコムギ(W)および春まきコムギ(S)発芽胚のヒストンの分画: 数字は発芽日数を示す。

ーク P_1 , P_3 , P_4 と類似した形に変化した。更に春化処理が進行すると、再びピーク P_1 , P_3 , P_4 は秋まきコムギ発芽 1 日目のものと類似した形に変化することがみとめられた。

考 察

以上の実験の結果から秋まきコムギと春まきコムギの発芽胚においては P_1 , P_3 , P_4 のピークを示すヒストンの構成に明白な相違のあることがみとめられたが、このような相違が秋まき性

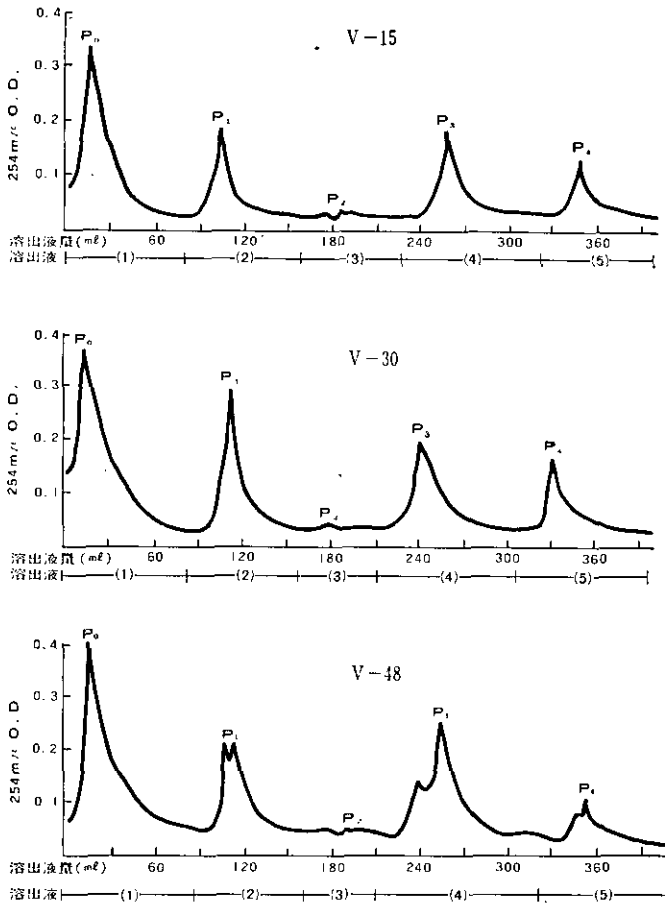


図2 春化処理秋まきコムギ (V) 胚の分画：
数字は春化処理日数を示す。

と春まき性のもつ生理的な発育の特性にどのような関係をもつかは今後の研究課題である。春化処理胚においてヒストンパターンが春まきコムギのパターンに類似したものえと一時的に変化することは、春まきコムギに特徴的な蛋白質がほぼ同時期の春化処理胚で生成されること (1, 2) と何らかの関連性をもつものではないかと推察させられる。そしてこのような現象は高等植物における発育現象がヒストンによる *gene suppression* と関連をもつとする考え方一つの可能性をあたえるものとみることができる。植物体におけるヒストンについてはアオミドロ (6)、クロレラ (7)、コメ (4) などについての報告がなされている。特にコメの胚のヒストンパターンは本実験で春まきコムギ胚からえられ

たパターンと非常に類似した形を示している。なお岩井 (4) によればピーク P_1 は P_3, P_4 と比較して、リジン、アラニン含量が特に多く、またピーク P_3, P_4 は P_1 に比較してアルギニン、グルタミン酸含量が特に多いヒストンをふくむことが報告されている。これらの各ピークを構成するヒストンの生理的機能については今後の研究課題である。

結 論

1. 秋まきおよび春まき発芽胚からヒストンを抽出、分画し、両品種間のヒストンパターンの相違および、発芽過程の進行にともなうパターンの変化の様式を明らかにした。

2. 春化処理の進行にともなう胚のヒストンパターンの変化の様式を明らかにした。その結果、春化処理によって秋まきコムギに特徴的なヒストンパターンが一時的に消失し、春まきコムギに特徴的なパターンへと変化することがみ

とめられた。

本実験を行うにあたって、秋まきコムギおよび春まきコムギを提供して下さった、北海道北見農業試験場に対して、あつく御礼申し上げます。

文 献

1. 寺岡：北星短大紀要, 10, (1964) 3.
2. 寺岡：北星短大紀要, 11, (1965) 1.
3. 寺岡：北星論集, 1, (1962) 123.
4. K. IWAI: 1964. Histones of rice embryos and of *Chlorella*. In *The nucleohistones*. Edited by J. BONNER and P. T'SO. p59-65. HOLDEN-DAY, INC. SAN FRANCISCO.
5. E. W. JOHNS, D. M. P. PHILLIPS, P. SIMSON

- and J. A. V. BUTLER, *Biochem. J.* **77**, 1960 631.
6. 佐々木喜美子, 山下慎子: 日本植物学会第30回大会研究発表記録 (1965) 81.
7. Y. KOBAYASHI, K. IWAI and T. ANDO: *Seikagaku*, **35** (1963) 81.