

TRANSPORT BIAŁEK Z CYTOPLAZMY DO PLASTYDÓW
W KOMÓRKACH TRAKTOWANYCH CHLORAMFENIKOLEM*

Kazimierz Strzałka, Maria Kwiatkowska

Zakład Biochemii Roślin, Instytut Biologii Molekularnej,
Uniwersytet Jagielloński, 31-001 Kraków ul. Grodzka 53

Zakład Cytologii i Cytochemii Roślin, Instytut Fizjologii
i Cytologii, Uniwersytet Łódzki, 90-237 Łódź ul. Banacha 12/16

Plastydy są organelami posiadającymi własny materiał genetyczny (DNA) oraz aparat biosyntezy białka, posiadają zatem pewien stopień autonomii. Autonomia ta jest jednak niepełna, gdyż plastydy są uzależnione metabolicznie od otaczającej komórki. Badania genetyczne, doświadczenia na izolowanych plastydach oraz zastosowanie antybiotyków hamujących wybiórczo translację na rybosomach 70 S lub 80 S wykazały, że wiele białek chloroplastowych powstaje w cytoplazmie podstawowej na rybosomach 80 S. Dane te wskazują pośrednio na istnienie intensywnego transportu białek do plastydów. Celem przedstawionych badań było bezpośrednie wykazanie transportu białek z cytoplazmy do plastydów przy jednoczesnym zahamowaniu syntezy białka w plastydach za pomocą chloramfenikolu. Badania przeprowadzono stosując pulsowe znakowanie białek ^3H lizyną oraz technikę autoradiografii.

Etiolowane, 10-dniowe siewki fasoli ścinano i inkubowano w ciemności przez 2 godziny w pożywce Hoaglanda zawierającej chloramfenikol w stężeniu 100 mg/l. Następnie z młodocianych liści wycinano krążki i inkubowano je na świetle z ^3H lizyną (36 $\mu\text{g/ml}$, 250 mCi/mmol) i chloramfenikolem (100 mg/l) przez 7 min. po czym przenoszono je do medium postinkubacyjnego zawierającego nieradioaktywną lizynę i chloramfenikol. W różnych czasach po inkubacji z krążków liściowych pobierano małe fragmenty tkanki, utrwalano al-

*Pełny tekst pracy został wysłany do czasopisma Planta.

dehydrem glutarowym i zatapiano w żywicy Epon. Półcienkie skrawki pokryto emulsją Ilford L4 i eksponowano przez 7 miesięcy po czym wywołano i wybarwiono. Rozmieszczenie ziarn srebra w komórkach miękkiszu palisadowego w różnych czasach po inkubacji określano za pomocą mikroskopu świetlnego. Równocześnie badano zmiany w ultrastrukturze plastydów w czasie po inkubacji przy użyciu mikroskopu elektronowego.

Zahamowanie syntezy białka w plastydach przez chloramfenikol powodowało zmiany w systemie lamellarnym rozwijających się plastydów na świetle. Zaobserwowano jedynie dyspersję ciał prolamellarnych oraz wykształcenie pojedynczych lamelli. W krążkach liściowych inkubowanych w medium nie zawierającym chloramfenikolu obserwowano natomiast typowy rozwój systemu lamellarnego. W początkowej fazie po inkubacji stwierdzono kilkakrotnie większe nagromadzenie się ziarn srebra nad cytoplazmą podstawową niż nad plastydami. W okresie po inkubacji zaobserwowano zmniejszenie się liczby ziarn srebra nad cytoplazmą, a zwiększenie nad plastydami. W 24 godziny po inkubacji liczba ziarn srebra nad plastydami przewyższała liczbę ziarn nad cytoplazmą (tab. 1). Określono także zmiany w procentowej zawartości ziarn srebra zlokalizowanych nad cytoplazmą i nad plastydami.

Z otrzymanych danych wynika, że można wyróżnić 2 fazy transportu białek do plastydów. W pierwszej fazie (do 6 godz. po inkubacji) zaobserwowano intensywne włączanie piętna w białka tworzone na terenie cytoplazmy, a jedynie niewielki wzrost radioaktywności w plastydach. W drugiej fazie po inkubacji nastąpił szybki spadek ilości ziarn srebra nad cytoplazmą, czemu towarzyszył znaczny wzrost zawartości piętna w plastydach. Liczba ziarn srebra zlokalizowanych na granicy między cytoplazmą a plastydami zachowywała przez cały okres po inkubacji podobny poziom.

Analiza zdjęć z mikroskopu elektronowego plastydów poddanych działaniu chloramfenikolu wykazała, że antybiotyk ten jest skutecznym inhibitorem syntezy białka w plastydach i rozwoju systemu lamellarnego. Ten sam typ zahamowania rozwoju struktur lamellarnych zaobserwowano w siewkach żyta, których plastydów pozbawione były rybosomów 70 S [5]. Zatem narastanie ilości ziarn srebra nad plastydami w okresie po inkubacji wskazuje na istnienie transportu białek z cytoplazmy. Zaobserwowane dwie fazy transportu białek wykazują korelację ze zmianami w składzie polipeptydowym i z

T a b e l a 1

Liczba ziarn srebra w różnych przedziałach komórki w czasie po inkubacji

Czas po inkubacji	Liczba ziarn srebra		
	w cytoplazmie	w kontakcie z osłonką plastydów	w plastydach
0	5,20 ± 0,25	4,00 ± 0,25	1,06 ± 0,12
45 min	5,05 ± 0,26	3,81 ± 0,23	1,33 ± 0,13
6 godz	4,73 ± 0,26	2,51 ± 0,21	1,08 ± 0,12
12 godz	5,55 ± 0,23	5,40 ± 0,32	2,08 ± 0,20
24 godz	3,06 ± 0,20	3,85 ± 0,25	3,45 ± 0,20

różną przepuszczalnością osłonki plastydów w czasie oświetlenia etiolowanych roślin [1-4].

Uzyskane dane wykazują, że synteza białek plastydowych w cytoplazmie i ich transport do plastydów może przebiegać przy zahamowaniu syntezy białka w tych organellach. Świadczy to o braku ścisłej korelacji syntezy białek w obu tych przedziałach komórki. Obraz migracji radioaktywnego piętna w okresie po inkubacji popiera pogląd, że większość białek plastydowych importowanych z cytoplazmy powstaje na rybosomach cytoplazmatycznych nie zasocjowanych z osłonką plastydów.

LITERATURA

1. Cobb A.H., Wellburn A.R.: *Planta*, 114, 131-142, 1973
2. Cobb A.H., Wellburn A.R.: *Planta*, 121, 273-282, 1974
3. Cobb A.H., Wellburn A.R.: *Planta*, 129, 127-132, 1976
4. Cockburn B.J., Wellburn A.R.: *J. Exp. Botany*, 25, 36-49, 1974
5. Schafers H.A., Feierabend J.: *Cytobiologie* 14, 75-90, 1976

К. Стшалка, М. Квятковска

ТРАНСПОРТ БЕЛКОВ ИЗ ЦИТОПЛАЗМЫ В ПЛАСТИДЫ В КЛЕТКАХ
ОБРАБОТАННЫХ ХЛОРАМФЕНИКОЛОМ

Р е з ю м е

При помощи техники автордиографии было установлено, что во время торможения трансляции на рибосомах 70 S пластидов, как синтез пластидовых белков на цитоплазматических рибосомах 80 S, так и транспорт этих белков в пластиды продолжается.

K. Strzałka, M. Kwiatkowska

TRANSPORT OF PROTEINS FROM CYTOPLASM INTO PLASTIDS
IN CHLORAMPHENICOL-TREATED CELLS

S u m m a r y

It was shown by autoradiographic method that during the inhibition of translation on 70S plastid ribosomes, the synthesis of plastid derived proteins on 80S cytoplasmic ribosomes and their subsequent transport into plastids still proceeds.