

1Cp-8

高等植物亜硝酸レダクターゼの免疫学的比較

井田正二 (京大 食研)

フェレドキシン-亜硝酸レダクターゼ (Fd-NiR) [EC 1.7.7.1] は亜硝酸塩 (NO_2^-) のアンモニアへの6電子還元を触媒する同化型の酵素であり, 高等植物, 藻類, 藍藻など光合成独立栄養生物に広く存在する。高等植物と藻類の酵素は, その分子的, 酵素学的特性において, さわめて類似している。ホウレンソウの酵素は (4Fe-4S) 1分子とシロヘム1分子をもつ分子量63,000の一本のポリペプチド酵素蛋白質である。¹⁾ Fd-NiRに関してはEPRによる物理化学的研究や酵素学的研究によって多くの知見が得られている。しかしながら本酵素の構造や系統学的研究は殆んど行われていない。そこでこのような側面を解明する目的で, 各種高等植物のFd-NiRに対する抗ホウレンソウFd-NiR抗体 (NiR抗体) の免疫反応を調べた。²⁾

NiR抗体はウサギ抗血清から調製した。沈降反応はロケット法により, また交叉阻害反応はNiR抗体による酵素反応 (メチルビオロゲン依存活性) の阻害作用を測定した。免疫反応には各種植物の成熟葉の抽出液のアセトン画分 (55-70%) を酵素標品として使用した。

NiR抗血清は糸糸糸において明確な一本の沈降線を示し, 精製酵素に対しては monospecific であった。NiR抗体は用いた全ての植物の酵素とロケットを形成した。ロケットの形態と交叉阻害反応 (表1) には相関関係がある。即ちNiR抗体と双子葉植物の酵素のロケットの高さは, 単子葉植物の酵素のそれよりも低く, また強く染色された。双子葉植物, 単子葉植物, およびゼニゴケの酵素は全て, NiR抗体によって阻害された (表1)。酵素活性の50%阻害を指標として比較すると, 双子葉植物では1-2.5倍, 単子葉植物では3-5倍量のNiR抗体を必要とした。両植物群の間に認められた免疫反応の差異は系統学的距離と反映しているものと思われる。

Table I. Comparisons of amounts of spinach Fd-NiR antisera required for 50% inactivation of NiRs from various plant species

Species	Antisera required for 50% inactivation	
	(ul)	(%)
Dicotyledon		
Spinach	21	100
Soybean	32	152
Potato	35	166
Marrow	38	181
Pea	40	190
French bean	45	214
Tomato	50	238
Monocotyledon		
Barley	69	329
Wheat	90	429
Maize	95	452
Rice	100	476
Bryophyta		
Liverwort	91	433

またゼニゴケ (コケ植物門) の酵素との免疫反応は, より広範な植物起源のFd-NiRに共通の抗原決定基が存在することを示唆している。Fd-NiRで得られた結果はNADH-硝酸レダクターゼの免疫学的比較のそれ³⁾と高い類似性がある。したがって NO_2^- 還元同化系の両酵素は, それぞれの免疫反応性に関して, 高度に保存されているものと思われる。

1) S. Ida and B. Mikami (1986) *Biochim. Biophys. Acta* 871, 167-176.

2) S. Ida (1987) *Plant Sci.* in press.

3) S. Snapp et al. (1984) *Plant Sci. Lett.* 36, 13-18.