

2Ba-5

ラン藻細胞質膜の主要タンパク質に関する研究

小俣達男・小川晃男 (理研・太陽光科学)・

John Pierce (CR&D, Du Pont)

ラン藻 *Anacystis nidulans* の細胞質膜を室温で SDS によって可溶化してポリアクリルアミドゲル電気泳動で分析すると、見かけの分子量 37,000 と 42,000 の位置に主なタンパク質バンドが見られる⁽¹⁾。このうち、42 kD タンパク質は CO₂ 欠乏条件下で合成され、⁽²⁾⁽³⁾これにともなって無機炭素 (CO₂ または HCO₃⁻、以下 Ci) の細胞内への輸送活性が高まるので⁽²⁾、我々はこれを Ci 能動輸送に関与するタンパク質と考えている。本研究では 42 kD タンパク質に対する抗体を調製し、これを用いて他種のラン藻 *Synechocystis* 6803 の細胞質膜のポリペプチド組成を分析して 42 kD タンパク質と Ci 輸送の関係を検討した。また、42 kD タンパク質の構造、CO₂ 欠乏条件下での誘導機構、細胞質膜への局在化機構の解明には分子遺伝学的アプローチが不可欠であると考えて、上述の抗体を用いて 42 kD タンパク質遺伝子のクローニングを行った。

1. *Synechocystis* 6803 の細胞質膜ポリペプチド組成の分析⁽⁴⁾

Synechocystis の Ci 輸送活性は 3% CO₂ 濃度下で培養した細胞 (H 細胞) で 70 μmol/mg Chl・h、0.03% CO₂ 濃度条件に適応した細胞 (L 細胞) で 220 μmol/mg Chl・h であり、*Anacystis* の場合 (H 細胞 30、L 細胞 240 μmol/mg Chl・h) に比べて H 細胞の活性が高かった。H 細胞、L 細胞の細胞質膜のポリペプチド組成には顕著な差異は認められなかったが、抗 42 kD タンパク質 IgG を用いた immunoblotting により、*Synechocystis* の L 細胞の細胞質膜にも *Anacystis* の 42 kD タンパク質と相同のタンパク質 (見かけの分子量 45,000) が存在することが明らかとなった。

一方、*Anacystis*, *Synechocystis* のいずれの場合にも、H 細胞の細胞質膜には抗体と反応するタンパク質は検出されなかった。H 細胞もある程度の Ci 輸送活性を示すことを考慮すると、Ci 輸送系における 42 kD タンパク質の機能については以下の 2 つの可能性が考えられる。i) Ci 輸送機構は H 細胞に備わっており、42 kD タンパク質はその最大活性を引き出すための補助因子である。ii) 低 CO₂ 条件下では H 細胞に存在する Ci 輸送系とは別の Ci 輸送系が誘導される。42 kD タンパク質は後者の本質的成分 (輸送タンパク質) である。

2. 42 kD タンパク質遺伝子のクローニング

λgt11 ファージをベクターとする *A. nidulans* R2 および *Synechocystis* 6803 の genomic library を抗 42 kD タンパク質 IgG を使って検索したところ、いずれの library から抗体と結合するペプチド鎖を産生するファージ株が得られた。このうち、*Synechocystis* の library から得られた株は増殖力が極めて弱いために分析できなかったが、*Anacystis* の library から正常に増殖する株が 1 つ得られた。この株は *Anacystis* 由来の約 1 kb の大きさの DNA 断片をもっていた。現在、この断片をプラスミドベクター pUC 119 にサブクローニングして分析中である。

【文献】

- (1) Omata, T. and Ogawa, T. (1985) Plant Cell Physiol. 26, 1075-1081.
- (2) Omata, T. and Ogawa, T. (1986) Plant Physiol. 80, 525-530.
- (3) Omata, T. et al. (1987) Plant Physiol., in press.
- (4) Omata, T. and Ogawa, T. (1987) In Proceedings of VII International Congress on Photosynthesis, in press.