2Da-6

光合成生物の光化学系の免疫化学的解析

井手口隆司, 青木邦夫, 上田哲也, 角野富三郎, 山下仁平
堀尾武一 (阪大・蛋白研、阪大・RIセンター)

近年、植物および光合成細菌の光化学系を構成する蛋白質の構造解析が進展し、異種の光合成生物の間のホモロジーが注目されている。抗体は特定の蛋白質と高度に特異的に結合することを利用して、特定の蛋白質を高感度で検出する目的などで広く利用されている。光化学系のように複雑な蛋白質複合体を解析する場合にも、このような免疫化学的方法は有効と考えられる。

光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* の光化学系を構成する5種のサブユニット (H-, M-, L-, α -, β -サブユニット) に対する抗体、および、ホウレンソウの光化学系 II を構成する9種のサブユニット (47k-, 43k-, 33k-, 32k-, 30k-, 27k-, 24k-, 17k-, 9k-蛋白質) に対する抗体を用いて、異なる種間の各サブユニットに対する結合性を調べた。また、光合成細菌 *R. rubrum*、シアノバクテリア *Synechococcus vulgans*、単細胞緑藻 *Dunaliella tertiolecta* およびホウレンソウ *Spinacia oleracea* の光合成膜および光化学系複合体について SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った後に、ウエスタンブロッティングによって各々の抗体の結合性を調べた。総体的に、ほとんどの抗体は異なる種のサブユニットに結合しなかった。しかし、ホウレンソウの抗33k抗体は *Dunaliella* の31k蛋白質に対して比較的強く結合した。

抗体をビオチン化することによって、膜に比較的埋もれていると考えられるサブユニット (たとえば、ホウレンソウの47k-蛋白質) に対する抗体の結合量は大きく減少したけれども、表面に対する露出度の大きいサブユニット (たとえば、ホウレンソウの33k-蛋白質) には大きな影響を与えなかった。これは、抗体にビオチンが結合することによって、抗原へ接近するときの立体障害が増すことに起因すると考えられ、これを利用してサブユニットの露出状態を推測することもできる。また、光化学系複合体全体に対する抗血清を調製し、含まれている抗体種からサブユニットの結合状態を調べた結果についても報告したい。

文献

- Aoki, K. *et al.* (1986) *J. Biochem.* 100, 875-882
Aoki, K. *et al.* (1986) *J. Biochem.* 100, 1223-1230