

1B-2

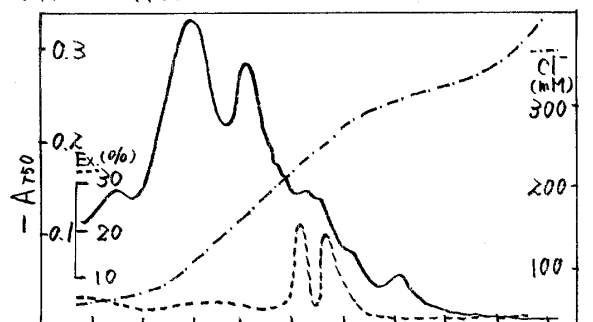
植物のリン脂質交換タンパク質 — 分離と精製

田中利典, 山田晃弘 (東大, 教養, 生物)

植物のミトコンドリアおよび葉緑体は、リン脂質合成酵素(ミトコンドリアのPG合成酵素を除く)を欠くので、これらの合成酵素をもつ小胞体からの供給が考えられる。我々は、発芽ヒマ胚乳のミクロソーム(MC)とミトコンドリア(MT)との間におけるリン脂質の交換を観察し、この反応を促進するリン脂質交換タンパク質(PLEP)と同じヒマ胚乳細胞のサイトゾルから単離した。このPLEPをSephadex G-100により精製したところ、リン脂質中のフォスファチジルコリン(PC)のみを特異的に交換する画分が得られた。今回の報告では、発芽ヒマ胚乳1.3 kgから単離したDEAE-Cellulose, Sephadex処理による、PLEPの精製およびその性質について報告する。

【材料と方法】 脂質- ^3H ラベルしたMC: 発芽3~4日目のヒマ胚乳組織から田中、山田らの方法により調製した。リポソーム(LS): 卵黄から精製したPCおよびコレステロールを用い、C. Huangらの方法により調製した。転移率: 3ml反応液に脂質- ^3H ラベルしたMC(タンパク質量、約1mg), LS(PC量、約800 μg)およびPLEP画分を加え、30°Cで15分間保温した後、2N HCl, 2滴を滴下して、MCを酸性沈澱させ遠心分離した。上澄および沈澱をそれぞれLSおよびMS画分として、Bligh-Dyer法により脂質分析を行った。転移率は(反応後のLS画分における脂質中の放射能/反応前のMC画分における脂質中の放射能) $\times 100$ で表し、反応後の遠心分離によるMC画分へのLSの混入および反応後のMC画分によるリン脂質の損失を補正した。

【結果】 前報と同様に、PLEPはヒマ胚乳細胞のサイトゾル(105000g)上澄をpH 5.1処理して得られた上澄、さらに、75%硫酸飽和の塩析画分を分離された(下表)。この硫酸画分(4.3gタンパク質量)をDEAE-Cellulose(27 $\times$ 20 cm)にかけNaCl 0Mから0.6Mの濃度勾配で溶出されたところ、下図に示すようにPLEPはI(0.23M Cl^-), II(0.27M Cl^-)に分離した。両画分より転移される脂質の種類をTLCで調べると、PLEP IIはPCのみを特異的に転移するが、PLEP IはPCばかりでなくフォスファチジルイノシトール(PI)をも転移することが解った。さらに、PLEP II画分をSephadex G-100により精製すると、比活性256 units($\mu\text{g PL}/\text{mg Pto. 15 min}$)の画分を得た。これはpH 5.1処理上澄の41.3倍の比活性をもつ(下表)。これより、植物組織から精製されたPLEPはジャガイモ塊茎(Kader 1973)からのPLEPで、比活性は5.2 unitsにしか達していない。



(1) Plant & Cell Physiol 19: 173-176 (1978)

	比活性	精製度	回収率(%)
pH 5.1 sup.	6.2	—	100
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ppt	22.1	5.2	36
(Sephadex G-100)	72.6	11.7	13
DEAE-Cellulose	42.2 (I) 70.6 (II)	6.8 (I) 11.3 (II)	7.9 (I) 4.1 (II)
Sephadex G-100	— 256	— 41.3	0.83

(2) Biochim Biophys. Acta, 220: 31-41 (1973)