

3Bp-7

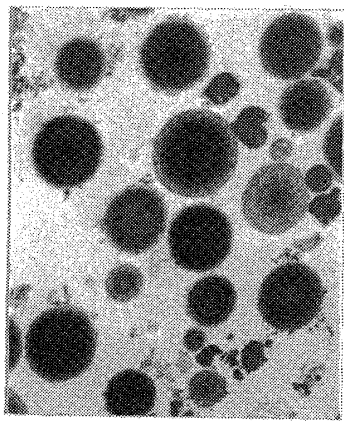
イネ胚乳中に存在するプロテインボディ I の構成ポリペプチド

田中国介^{*}、小川雅広^{*}、熊丸敏博^{**}、佐藤 光^{**}、大村 武^{**}
(京府大・農化、^{*}京大・食研、^{**}九大・育種)

コメ胚乳貯蔵タンパク質はプロテインボディ (PB) に集積している。近年、田中⁽¹⁾によって PB には 2 種類 (PB I と PB II) 存在し、コメ主要タンパク質のグルテリンは PB II に、アロラミンは PB I にそれぞれ特異的に集積されていることが明らかにされた。また山形らと田中^(2,3)によってグルテリン及びアロラミンの生合成ならびに PB への集積の機構が互いに異なること、すなわち前者はマメ類のグロブリンタイプであり、後者はトウモロコシのゼインタイプであることが示された。コメ胚乳に存在する各 PB の含有するポリペプチドの生合成及び各ポリペプチドの遺伝子の発現機構の解明はコメタンパク質の改良という育種学的見地からも重要である。田中⁽¹⁾によって単離された PB I の画分にも PB II 由来のポリペプチドが存在していたために PB I の正確なタンパク質組成の詳細については不明であった。そこで演者らは PB I を純粋に分離し、その構成ポリペプチドを明確にすることを目的として本研究を行った。

材料はイネ登熟及び完熟種子 (品種金南風) を用いた。PB の単離はシヨ糖密度勾配遠心法 (SDG)、水性二層分配法 (AOTP)、及び酵素処理法を組み合わせで行った。PB 画分をシヨ糖 50 - 60 % の SDG により PB I と PB II を分離し、PB I 画分を 5 % ポリエチレングリコールと 8 % デキストラン T500 を用いる AOTP により PB I と PB II の破砕片を分離した。更に各 PB I 画分を田中⁽⁴⁾の方法に従って 0.01 % ペプシン、pH 1.7、37℃、1 時間の条件で処理した。各画分のタンパク質の同定は SDS-PAGE で行った。

AOTP を用いて PB II の破砕片を除去する試みをしたところ AOTP の回数を重ねることにより PB II に特異的なポリペプチド群 (37-39 kDa, 26 kDa, 20-22 kDa) が次第に減少し、一方 16 kDa, 13 kDa, 10 kDa のポリペプチド群が増加してゆくことが判明した。さらにこの PB I 画分を酵素処理すると PB II に由来するポリペプチド群が消失し、16 ~ 10 kDa のポリペプチド群のみとなった。こうして得られた画分を電子顕微鏡で観察したところ、1~2 μ m の球状で内部に同心円状のリング構造を有した PB I のみが存在しており、破砕片はほとんど存在していなかった。こうして得られた PB I のタンパク質の性質を調べたところ、アルブミン、グロブリンはほとんど存在せず、そのほとんどがアルコール可溶性のアロラミンであることが明らかとなった。また等電点電気泳動法を組み合わせた 2 次元電気泳動により主要なポリペプチドを調査したところ、pI の異なるポリペプチドが 16 kDa には 2 種、13 kDa には 3 種、10 kDa には 2 種存在することが明らかとなった。



〈単離した PB I の電子顕微鏡像〉

のほとんどがアルコール可溶性のアロラミンであることが明らかとなった。また等電点電気泳動法を組み合わせた 2 次元電気泳動により主要なポリペプチドを調査したところ、pI の異なるポリペプチドが 16 kDa には 2 種、13 kDa には 3 種、10 kDa には 2 種存在することが明らかとなった。

(1) Tanaka, K. et al., Agric. Biol. Chem., 44, 1633-1639 (1980).

(2) Yamagata, H. et al., Plant Physiol., 70, 1094-1100 (1982).

(3) Yamagata, H. et al., Plant Cell Physiol., in press (1985).

(4) Tanaka, K., 遺伝, 39, 57-62 (1985).

(5) Tanaka, Y. et al., 農化, 49, 425-429 (1975).