

雑穀類貯蔵蛋白質の主要ポリペプチド抗原の相同性と異質性 愛媛大教育 〇宅見 賢二 宇高 順子

「目的」アワ、キビ、ヒエの貯蔵蛋白質、プロラミンとグルテリン、のポリペプチド組成と抗原性について SDS-PAGE, 二次元電気泳動およびイムノロットにより比較検討する。

「方法」プロラミン: 脱脂粉末 の1 M NaCl 抽出(室温2時間)残渣からエタノール(70%), プロパノール(50%) およびイソプロパノール (55%)可溶画分を抽出(室温1時間)し、上清に等量の4%食塩水(アワ)または濃縮後2倍量アセトン添加(キビ、ヒエ)で沈殿する画分。

グルテリン: プロラミン抽出残渣を水洗後 TMS(50mM トリス塩酸緩衝液 pH 8.3-5M 尿素-2%SDS)で抽出、その上清の2倍量アセトン添加沈殿物。二次元電気泳動: ;初め等電点電気泳動、次いでSDS-PAGE。ウサギ抗血清: 試料蛋白質をTMSに溶解しゲル濾過(Sephacryl-CL4B, 6B) 後、調製用SDS-PAGEにより23 kDと60 kDのバンドを分画しフロインドアジュバントを加えて免疫して得た。

結果と考察: 各プロラミンのアルコール溶解性は異なっていたが 唯一主要ポリペプチドは分子量が21-23 kD バンドで、これは三者に共通し、抗原性も一致した。しかし、アワの23kDは二次元電気泳動で10-15個のペプチドスポットが酸性域から中性域に分かれたが キビとヒエでは 5-8個のスポットが主に酸性域に現れた。アワのグルテリンは5-6個のポリペプチドが20-80 kDの広い範囲に分布したが、キビとヒエではプロラミンと同じ23kDに加えて60 kDが主なペプチドバンドであった。このことから、上記アルコール溶媒では23kDの抽出は不相当と判断し、現在検討中である。60 kD はアワ・グルテリンにも共通なポリペプチドであった。