

1 Ma-2 Italian millet(アワ)とmaize(コーン)貯蔵蛋白質の免疫化学的相同性
愛媛大 0宅見賢二 宇高順子

目的: 雑穀類(アワ、キビ、ヒエ)の貯蔵蛋白質は抗原相同性を有すること、大麦、小麦、ライ麦のそれらとは異質である事、しかしコーン(とうもろこし)の貯蔵蛋白質とは相同であることを明らかにする。ここではアワとコーンの貯蔵蛋白質 60 kDの単離とその免疫化学的相同性について報告する。

方法: 各試料の脱脂粉末から1M食塩不溶残渣を分画し、これからプロラミンを70%エタノール(アワ)または50%プロパノール(コーン)で抽出除去し、その不溶残渣の5M尿素可溶画分を分画し、それより上記記録の60kD蛋白を分離した。60kDの精製はDEAEセファロースCL-6Bカラム(1.6X50cm; 5M尿素-20mMトリス/塩酸, pH8.8:D液)とCMセファロースCl-6Bカラム(2X30cm; 5M尿素-20mMリン酸, pH6.5:C液))で行った。

試料はD液に攪拌溶解した後DEAEカラムで分画し、非吸着画分は水とC液に透析した後CMカラムにかけ食塩濃度勾配(0-0.5M)で溶出した。得られた60kDは再クロマト後HPLC(SLC-85F, TOSOH)で精製し、精製度はSDS-PAGEと2次原電気泳動で確認した。抗原の相同性はモノクロナール抗体(BALBマウス)またはうさぎ抗血清によりイムノプロット法またはゲル内沈降法で確かめた。アミノ酸とN-末アミノ酸配列順序の分析はそれぞれ自動分析器を用いた。

結果と考察: アワとコーンのプロラミン抽出残渣をD液で攪拌溶解(5時間)し、その遠沈上清を上記のカラムにかけ再クロマトで見かけの分子量が約6万のサブユニット蛋白質, 60 kD, の精製標品を得た。これらの60 kDは, pI=7-8, 付近の塩基性蛋白質で雑穀類, とコーンに共通する抗原蛋白であった。