

琉球大学学術リポジトリ

[記事](研究発表会要旨)レクチンに関する研究

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 福田, 亘博, 影井, 雅夫, 脇田, 英美, 屋, 宏典, 知念, 功 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002017226

2. 第3回研究発表会要旨

① レクチンに関する研究

琉球大学農学部 福田亘博・*影井雅夫・脇門英美・屋宏典・知念功

目的 レクチンは“免疫反応の産物以外の糖結合蛋白質（または糖蛋白質）で細胞を凝集し、または複合糖質を沈降させるもの”と定義されており、通常の血液型判定から、リンパ球幼若化活性、ガン細胞凝集活性等の各々のレクチンの持つ特異性に応じ、きわめて多くの研究分野で利用されている。当研究室では、沖縄が熱帯および亜熱帯植物に富むことから、この地域における豆科植物種子を中心に赤血球凝集活性を指標としてレクチンを検索し、現在まで4種類の未報告種子レクチンを見出している。本研究は、デイゴ種子レクチンおよびアフリカタヌキマメ種子レクチンについてアフィニティカラムクロマトグラフィーに

より精製し、その性質について調べた。

方法 デイゴおよびアフリカタヌキマメ種子は凍結乾燥後粉碎し、0.15M NaCl-0.01M リン酸緩衝液 pH7.0 (PBS) で攪拌抽出し、遠心後上清について DEAE-cellulose カラムにより部分精製し、さらにデイゴ種子レクチンは Lactose-Sepharose6B, アフリカタヌキマメ種子レクチンは α -Galactopyranoside-Sepharose4B アフィニティークロマトグラフィーにより精製した。なお、両レクチンの精製は ConA-Sepharose4B についても検討した。蛋白質の均一性は Disk 電気泳動法および免疫電気泳動法により行い、分子量測定は Sephadex G-150 を用いたカラムクロマトグラフィーおよび SDS-PAGE により行った。

結果 デイゴ種子レクチンは Lactose-Sepharose6B, あるいは ConA-Sepharose4B に特異的に吸着された。吸着した活性蛋白質の溶出は 0.2M Lactose-PBS, あるいは ConA-Sepharose4B では 100mM α -Methyl-D-man-noside により行い精製した。精製レクチンは Disk および免疫電気泳動的に均一であった。Sephadex G-150 カラムクロマトグラフィーによる分子量は約 60,000 で、SDS-PAGE では 29,000 であることから二量体で構成されていた。アフリカタヌキマメ種子レクチンは α -Galactopyranoside-Sepharose4B, あるいは ConA-Sepharose4B に特異的に吸着された。吸着した活性蛋白質の溶出は 0.5M NaCl-0.05M Glycine HCl pH3.0, あるいは 100mM α -Methyl-D-man-noside により行い精製した。精製レクチンは Disk および免疫電気泳動法により均一であることが確認された。精製レクチンは Sephadex G-150 カラムクロマトグラフィーより分子量約 130,000 で、SDS-PAGE では 32,000 であった。このことから四量体で構成されていると推定された。さらに、両精製レクチンの糖特異性および血液型特異性についても調べた。その結果、両レクチンは、ともにガラクトース型に属するが、ガラクトース誘導体に対する特異性にはかなりの違いが観察された。一方、血液型特異性はデイゴレクチンはヒト赤血球を凝集させるが、アフリカタヌキマメレクチンは全く反応を示さなかった。