

資料5

霊長類の高脂血症

竹中晃子、天野茜、吉田愛（名古屋文理短大・食物栄養）、竹中修（京都大・霊長類研）

高 LDL 血症は動脈硬化を引き起こし、さらに虚血性心疾患や脳梗塞の原因となる。マカカ属サルの脂肪摂取量やエネルギー摂取量はヒトに比べ少なく、野生猿においてはたとえ高コレステロール血症を発現する遺伝的因子を保有していても生存している確率が高いと考えられる。飼育下マカカ属サルの内、血中コレステロール値が 220mg/dl 以上であった 34 頭中 20 頭について LDL レセプター遺伝子の変異を検討した。PCR 法で増幅後 DGGE 法により変異の検出を行った。これまでにエクソン 1、3、5、7 で 3 頭、3 頭、2 頭、3 頭の変異があった。塩基配列を決定しアミノ酸の変異があると推定されたものとしては血中コレステロール値 244.7mg/dl を示したニホンザルではエクソン 1 が Val から Ile へ、アカゲザル (258.8mg/dl) ではエクソン 3 の Ser が Pro に変異していた。エクソン 1 はシグナルペプチド部分でシグナル認識粒子と結合し、小胞体膜にある受容体と結合して小胞体膜を通過するときにする際に必要であるが、その後切断される。Val から Ile への変異はシグナル認識粒子との結合に影響を与えているのかもしれない。エクソン 3 は LDL と結合する部分である。Pro はイミノ酸であるので立体構造がゆがむ可能性がある。エクソン 4 と 9 は PCR のプライマーを設定したイントロンの配列がマカカ属サルとヒトとは異なるようで増幅できず現在検討中である。

資料6 第2級アルコールのケトン体への酸化に 関与するミクロソーム酵素 (MALDH) の精製

松永民秀、渡辺和人、山本郁男（北陸大・薬・衛生化学）

我々は、3-OH- β -ionone (第2級アルコール) の 3-oxo- β -ionone (ケトン体) への酸化に NAD あるいは NADP を補酵素とするミクロソーム局在性の脱水素酵素 (Microsomal Alcohol Dehydrogenase, MALDH) が関与することを見出した。そこで、雄ニホンザル肝ミクロソームより本反応を触媒する酵素の精製を行った。肝ミクロソームをコール酸ナトリウムで可溶化後、 ω -Aminoocetyl Sepharose 4B、DEAE-5PW、Hydroxylapatite、Red Sepharose CL-6B、Blue Sepharose CL-6B の各カラムクロマトにより分離した。そのうち最も活性の高かった分画は SDS-PAGE 上ほぼ単一なバンドとして得られ、主要バンドの分子量は 23.5 kDa であった。また、精製酵素のケトン体生成活性は 55.7 nmol/min/mg protein であり、ミクロソームの約 6 倍高い活性を有していた。しかし、安定化剤としてグリセロール及びジチオスレイトールを用いたが、精製の初期段階において活性の顕著な低下が認められたことから、本酵素は非常に不安定であると推定された。N-末端アミノ酸配列及び本酵素の本来の機能の解明を企図している。なお、本精製酵素は補酵素として NAD のみを要求することから、本化合物の脱水素反応による酸化的代謝においては補酵素要求性の異なる複数の酵素の寄与が示唆された。