

30Y-am02

ウサギ水晶体水溶性画分の、アスコルビン酸フリーラジカル還元酵素の構造解析
○三枝 隆太¹,岡 美佳子¹,中澤 洋介¹,坂東 正康¹,竹鼻 眞¹(¹慶應大薬)

【目的】水晶体での紫外線等の酸化ストレスは、白内障の原因となる。そのため、水晶体にはアスコルビン酸(AsA)などの抗酸化物質が豊富に存在し、自らがフリーラジカルになる事で活性酸素等を除去している。本研究では、他の動物ではほとんどみられない、ウサギ水晶体水溶性画分中の、アスコルビン酸フリーラジカル還元酵素(AFRR)の構造について検討した。

【方法】ウサギ水晶体水溶性画分を、ゲルろ過クロマトグラフィーによって分画し、陽イオン交換クロマトグラフィーによりAFRR 活性画分を得た。等電点電気泳動とジアフォラーゼ活性染色によりAFRR の等電点を決定した後、二次元展開を行なった。また、AFRR 活性画分の Native-PAGE を行ない、ポリアクリルアミドゲル上で酵素活性部のスポットを得た後、SDS-PAGE によって展開し分子量の決定を行なった。決定した分子量のスポットをプロテインシーケンサーおよびMALDI/TOF-MS で解析した。

【結果および考察】AFRR は、pH8.4 付近に等電点を持つ、分子量約 30 kDa のタンパク質である事が分かった。MALDI/TOF-MS による解析では、ウサギの Carbonic anhydrase (CA) 2 と高い類似性が示唆された。またプロテインシーケンサーにより得られたアミノ酸配列の一部が、ウマの CA3 およびウサギの CA3(predicted)と一致した。以上の事から、AFRR は CA ファミリーと類似した配列を持つタンパク質である事が示唆された。

