

27V-am02

ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 ABCD1 はアシル CoA チオエステラーゼ活性をもつ

○川口 甲介¹, 田原 光¹, 木村 このみ¹, 守田 雅志¹, 今中 常雄¹ (¹富山大院薬)

【目的】ABC タンパク質 ABCD1 はペルオキシソーム膜に局在し、極長鎖脂肪酸 CoA のペルオキシソーム内への輸送に関与している。その機能障害は重篤な神経変性疾患である副腎白質ジストロフィーを引き起こすが、ABCD1 の基質輸送機構の詳細は不明である。最近、植物の ABCD1 ホモログである CTS が脂肪酸 CoA を加水分解する acyl-CoA チオエステラーゼ活性を有し、遊離脂肪酸を輸送することが報告された。本研究では、ヒト ABCD1 の acyl-CoA チオエステラーゼ活性について検討した。

【方法】ABCD1 は N 末端に His タグを付加し、メタノール資化性酵母 *Pichia pastoris* を用いて発現させた。His-ABCD1 を含むペルオキシソームはナイコデント密度勾配遠心による細胞分画法で分離後、さらに His タグアフィニティレジンを用いて精製した。acyl-CoA チオエステラーゼ活性は NBD-palmitoyl-CoA を基質に用い、遊離した NBD-palmitic acid を TLC で検出することで測定した。

【結果と考察】細胞分画とウエスタン解析、ATPase 活性測定により、*P. pastoris* においてヒト ABCD1 が活性型酵素として発現し、ペルオキシソームに局在することを確認した。得られたペルオキシソーム画分を用いて His タグアフィニティ精製を行うことで、ABCD1 特異的な acyl-CoA チオエステラーゼ活性の測定が可能となった。一般的なチオエステラーゼの活性中心がセリンであること、活性部位は膜貫通領域にあると想定し、セリンをアラニンに置換した変異型 ABCD1 を計 10 種類作製した。これらの変異型 ABCD1 の acyl-CoA チオエステラーゼ活性を評価し、活性中心の探索を行った。現在は、ABCD1 の acyl-CoA チオエステラーゼ活性と基質輸送との関連について検討中である。