

7) 筋の分化発達に伴う筋特異的酵素 (アイソザイム) の発現とジストロフィー筋での異常の検索(II)

弘前大学医学部

佐藤清美 今井房子 佐藤公彦
北原明夫

1, ジストロフィー筋における筋特異的酵素の合成・分離速度について (予備実験)

< 目 的 >

DMP筋では筋特異的酵素: CK, ALD, PK, Phが一樣に低下するが、これが酵素合成の阻害によるか分解の促進によるものかを知る手段として、これら酵素の筋型アイソザイムを精製し、各々に対して特異抗体の調整を進めている。 ^{14}C -または ^3H -アミノ酸を動物に投与し、一定時間後ラベルされた上記の特定の酵素蛋白を特異抗体により回収して、ラベルの変化から各々の酵素の合成分解速度を求めたいと計画中である。

< 方法およびこれまでの結果 >

SDラットの骨格筋を用い、phはSevillaおよびFischerの方法により4回結晶化した筋型を、ALDはEndoらの方法により3回結晶化した筋型を、PKはTanakaらの方法により100倍精製した筋型(M₁型)を兎またはニワトリにFreundの完全アジュバントと注射して特異抗体を調製した。得られた抗体の特異性を活性阻害、Ouchterlony 二重拡散法で検討したところ、抗筋型Ph抗体は、肝型や胎児型Phと交叉性のない単一なものを得られ、マウス筋型phともよく交叉したので、上記目的に適するものとみなされる。抗筋型ALD抗体と抗M₁型PK抗体には少量の不純な抗体も含まれていたため吸収を試みている。CKはM型、B型の精製を進めている。

2, グリコゲンホスホリラーゼ (Ph) の組織化学的染色法の改善について

< 目 的 >

筋内のPh活性を組織化学的染色法でみると、死後急速に失活していくことが知られ、この方法により死後経過時間の推定が行なわれる程である。しかし、一方筋ホモジェネートについて死後の活性変化をみると、室温で10数時間にわたり安定で、保持されることが明らかになった。そこで組織化学的方法により染色されるPh活性の死後の急速な低下は、Martinらが指摘したように、死後筋内のグリコゲンが急速に失われ、しかも組織学的染色に用いる外部からのグリコゲンが殆んど筋内細胞内に入らないためにおこる見かけの活性低下によることが明らかとなったので、その染色法の改良を試みた。

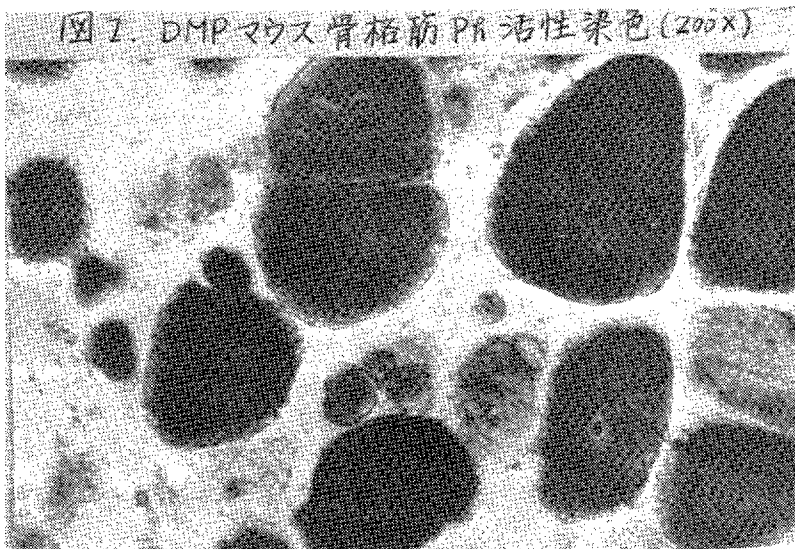
< 方法および結果 >

1) ラットの大腿筋を断頭死後切除し、室温(25°C)に放置し、時間の経過とともに、一部活性染色(武内法)し、一部ホモジェネートをつくり、筋内グリコゲンとph活性の定量を行なうと、グリコゲンは死後3時間で5%以下に急速に低下するが、Ph活性は死後20時間後でも70%位に保持さ

れることが判明し、死後数時間で失われる染色上の Ph 活性は、内蔵グリコゲン量と密接に関連していることが判明した。

2) そこで、低分子化したグリコゲンを外部から添加するなど検討した結果、トリス・マレイン酸緩衝液 (40 mM, pH 6.1), グルコース-1-リン酸 (40 mM), AMP (3 mM) に 0.5 ~ 0.7 M 硫酸ソーダを添加することにより、死後 4 ~ 5 時間後も ph 活性をよく染色可能なことが判明した。外部グリコゲンの添加は必要ではなかった。硫酸ソーダの添加効果は目下研究中である。この方法により 6 ヶ月の DMP マウス大腿筋の染色像を図 1 に示す。濃淡の差 (色調の差) のある大小不同の筋束が結合組織に囲まれて散在する。この組織像の多採性については詳しい検討が計画されている。

(同研究での Ph の組織化学的染色は、弘前大・医・脳卒研・高屋豪瑩教授、馬場狂之助手との協同研究である。)



8) 筋構造蛋白の SDS 電気泳動法による研究 (神経原性筋萎縮症において)

国立療養所再春荘

泉 純 治 岡 元 宏 植 川 和 利
上 野 洋 出 田 透 内 野 誠

< 目 的 >

神経原性筋萎縮過程における形態学的変化に対応する筋構造蛋白の変化を究明する目的で坐骨神経切断ラットを用いて SDS 電気泳動法により分析検討した。同時に 2 ~ 3 のヒトの神経原性筋萎縮症の成績を得たので報告する。

< 材料並びに方法 >

ウィスター系成熟雄性ラットの一側坐骨神経を切断 2, 3, 4 週後に各々の m. soleus, m. gastr.

↓
検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります
↓

1,ジストロフィー筋における筋特異的酵素の合成・分離速度について(予備実験)

<目的>

DMP筋では筋特異的酵素:CK, ALD, PK, Phが一様に低下するが、これが酵素合成の阻害によるか分解の促進によるものかを知る手段として、これら酵素の筋型アイソザイムを精製し、各々に対して特異抗体の調整を進めている。14C

または 3H-アミノ酸を動物に投与し、一定時間後ラベルされた上記の特定の酵素蛋白を特異抗体により回収して、ラベルの変化から各々の酵素の合成分解速度を求めたいと計画中である。