

169

組換え体ヒト腎臓由来Man₉-マンノシダーゼの性質と生産物
 ○櫻谷 修司、藤山 和仁、Daniel G. Moran、関 達治、
 吉田 敏臣（阪大・生物工学国際交流センター）

【目的】 Man₉-マンノシダーゼはN結合型糖鎖プロセッシングに關与する酵素で、Man₉-GlcNAc₂ (Man₉) に作用し α 1,2-マンノース結合を切断する。当研究室では、Man₉-マンノシダーゼを大腸菌で発現させ、種々の高マンノース型糖鎖に対する特異性を調べたり。ところが、このMan₉-マンノシダーゼについて酵素学的諸性質はまだ解明されていないため、大腸菌を用いて組換えタンパク質を精製し、その性質を調べることを目的とした。

【方法と結果】 ヒト腎臓由来のMan₉-マンノシダーゼcDNAを大腸菌発現ベクターpET23bに導入し、これを用いて形質転換した大腸菌を培養し、得られた菌体から組換え体Man₉-マンノシダーゼを精製した。ピリジルアミノ (PA) 化したオリゴ糖を基質として、この組換えタンパク質の活性に及ぼす温度やpHの影響についてHPLCで測定した。さらに、Man₉を基質としたときの反応産物の経時変化を調べ、それら反応産物をもとにMan₉からMan₅までの分解経路を推測した。

1) 藤山ら；1997年度日本農芸化学大会講演要旨集, p.344(1997)

Enzyme properties of recombinant human kidney Man₉-mannosidase.

○Shuji Sakuradani, Kazuhito Fujiyama, Daniel G. Moran, Tatsuji Seki, Toshiomi Yoshida, (ICBiotech, Osaka univ.)

【Key Words】 Man₉-mannosidase, human kidney, PA-sugar chain

170

ウシ歯プレセメント質由来歯肉線維芽細胞走化性因子の精製と性質

○鷹野アユム、坂内厚一、富樫亮、小野寺雄一郎、西村和晃*、
 柴肇一、棟方正信
 （北大院・工・分子化学、*大歯大・歯周病）

【目的】 近年、歯周病に罹患し、炎症を起こし傷んだ歯肉を手術で切除し、歯根膜や歯槽骨、セメント質といった、歯周組織の再生をねらった組織誘導再生療法が試みられるようになったが、根面に近接する未分化間葉細胞がセメント芽細胞に分化しないため、歯根膜、歯槽骨が完全に再生することができない。そこで、本研究では、歯根表面のプレセメント質から、ヒト歯肉線維芽細胞を走化させ、歯周組織の再生を誘導する物質を精製し、諸性質を検討した。

【方法及び結果】 歯科用キュレットでウシ歯のプレセメント質を搔爬し、PBS(-)にて抽出、HPLCゲルろ過にて分子量分画を行い、各分画のヒト歯肉線維芽細胞に対する走化活性、TGF- β 活性、BSP活性を検討した。走化活性はVo領域（分子量63万以上）分子量約57万、27万、16.5万、4.4万、3.4万の分画に認められた。TGF- β 活性は18万に、BSP活性は16.5～4.4万に認められた。プレセメント質のPBS(-)抽出物中には、TGF- β 、BSPといった従来骨再生作用が認められているサイトカインが含まれていたが、それら以外に細胞走化性の高い物質が存在し、他のサイトカインなどのネットワークで細胞の走化、分化に關与していることが示唆された。そこで、Vo領域、分子量約57万、27万の分画について、更に、HPLC陰イオン交換、HPLCハイドロキシアパタイトで精製した。これらは、Western blotにより、既知の骨再生誘導因子であるBMP、BSPとは異なる物質であることが確認された。

Purification and partial characterization of human gingival fibroblast chemotactic factor derived from bovine teeth precementum

○Ayumu Takano, Kouichi Sakauchi, Akira Togashi, Yuichiro Onodera, Kazuaki Nishimura*, Toshikazu Shiba, Masanobu Munekata
 (Div.Mole.Chem., Hokkaido Univ., *Dept.Periodont., Osaka Dent.Univ.)

【Key Words】 chemotactic factor, cementum components, periodontal flap surgery, new attachment