

cAMPの分解能はcGMPの存在下で最大32倍まで賦活化され、そのKaは $0.5\mu\text{M}$ であつた。

独創点：cGMP-stimulated Cyclic Nucleotide PhosphodiesteraseはcAMP, cGMPを分解するにあたり、Positive Cooperativityを有する特異的な酵素であるが、分離精製によつて本酵素を単一蛋白にまで純化し、世界で初めてその酵素学的性格の詳細を明らかにすることができた。

質問 (東邦大) 木下 佐  
この酵素は実際に卵巣に存在しているのか。

回答 (三重大) 山本 稔彦

現在までのところ卵巣におけるCyclic Nucleotide Phosphodiesteraseのisozymesに関する詳細な報告はない。今後同酵素の抗体を用いて局在の有無を検討したい。

#### 194. 胎盤性5'-Nucleotide PhosphodiesteraseによるADP分解

(浜松医療センター)

佐倉 東武, 藤井 俊朗, 鶴田 晋二

5'Nucleotide Phosphodiesterase (PDEase)(E.C. 3.1.4.1)はDNA, RNA等の3'OH末端より非特異的に5' Mononucleotideを遊離する酵素で、細胞のMicrosome系に存在することが知られている。胎盤での生理的役割を推察する為にPDEaseを精製し、その特徴について調べ以下の結果を得た。①PDEaseはp-nitrophenyl-5'TMPを基質として、胎盤より硫酸塩析, DE52カラム, Sephacryl S300カラムを用いて精製し、その比活性は $11.1\mu\text{mole/h/mg protein}$ であつた。②PDEaseはNAD Pyrophosphatase活性及無機燐定量法にてADPase活性を持つことが分つた。NAD及びADPに対する分解活性はそれぞれp-nitrophenyl-5'TMPの20%及び10%であつた。ADPase活性は分解産物であるAMPをTLC及びHPLCにて定量することからも確認できた。③ADPをPDEaseで前処置することにより、反応時間とともにADP誘発血小板凝集能は阻止された。終濃度 $5\mu\text{M}$ ADPの約30%を分解するPDEase量で、血小板凝集は完全に抑制された。又加熱処理で反応を停止していることから $\text{PGI}_2$ 等の凝集抑制物質による影響あるいはプロテアーゼによる血小板への直接作用はないと思われる。④PDEase活性はNAD, ADP, ATP, ADP-Ribose, UDP, TDP, CDPなどのPyrophosphate結合を持つものによつていずれも抑制された。又ADPはPDEaseの競合的阻害剤であり、 $K_i=1.52\times 10^{-5}\text{M}$ で

あつた。2'AMP, 3'AMP, 3'5'cAMP, Adenosinでは全く抑制されないが5' MononucleotidesではPDEase活性は抑制された。即ちPDEaseはfree3'OHを持ち5'-Phosphateを介したPhosphodiester結合乃至はPyrophosphate結合に親和性を示した。⑤PDEase活性はEDTA, EGTA, o-Phenanthrolineにより完全に抑制され、 $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ により回復した。又アミノ酸の中ではHistidineが抑制的に作用した。⑥胎児血清中のPDE活性は $2.09\mu\text{mole/h/ml}$ と妊婦血清のほぼ2倍の高値を示した。以上PDEaseはADPaseとして胎児胎盤の血流維持にとつて関係があるばかりでなく酸化還元反応, ADP-ribosyl化反応に関与するNAD量の調節因子でもあることが示唆された。

質問 (香川医大) 福岡 秀興

①ADPによる血小板2次凝集阻止物質としてApyraseが頻用されるが、先生の抽出精製された、ADP凝集阻止物質とのcharacterの差はどうか。

②Apyrase添加では血小板2次凝集を阻害するが、本物質は一次凝集も阻止している。この差は何に由来するのか。

#### 195. ヒト卵巣白膜に存在するAndrogen Binding Protein (ABP)

(東邦大) 平川 舜, 椎名 一雄

(東京薬大) 伊藤 晃

目的：卵巣白膜の組織構築の主体はコラーゲンである。生化学的にはI型コラーゲンが解析され、また、免疫組織化学的には、III, IV, V型コラーゲンの存在を併せ確認し既報した。今回は白膜構築コラーゲンの代謝を解明する目的の一端として、正常卵巣およびPCO白膜組織中ABPの存在とその性状を検討した。

材料：ヒト正常卵巣白膜, PCO白膜組織。

方法：①細胞質分画の調製, ②細胞質を $[^3\text{H}]$ DHTとインキュベーション後Sephadex G50カラムによりゲルろ過, ③ショ糖密度勾配遠心法, ④Scatchard Plot法, ⑤結合阻害実験(DHT, Testosterone (T), Estradiol ( $\text{E}_2$ ), DHA, R1881など), ⑥Concanavale A (Con-A) Affinity Chromatography。

成績：白膜細胞質のショ糖密度勾配遠心法により沈降定数9Sおよび4.6Sの $[^3\text{H}]$ DHT結合蛋白が解析された。しかしAndrogen Receptor (AR)の低分子化を防ぐモリブデン酸の存在下でも、細胞質中総 $[^3\text{H}]$ DHT結合の95%以上が4.6Sに相当する。この蛋白はDHTに強い親和性を持ち、T,  $\text{E}_2$ がこれにつぐ。ARと特異的に結合するR1881により阻害されないこと。そ