

P21 乾 隆<sup>1,2</sup>、丸山敏彦<sup>1,2</sup>、久田美貴<sup>3</sup>、間瀬光人<sup>4</sup>、清木興介<sup>5</sup>、織田浩司<sup>5</sup>、直木秀夫<sup>3</sup>、山田和雄<sup>4</sup>、裏出良博<sup>1,2</sup> (1 CREST・JST、2 大阪バイオサイエンス研究所・分子行動生物、3 サントリー・生有研、4 名市大・医・脳神経外科、5 マルハ中央研究所・生化)

くも膜下出血後の脳脊髄液中プロスタグランジンD合成酵素に結合する内因性リガンドはピリベルジンとその類縁体である。

我々は、前回、くも膜下出血患者の脳脊髄液から精製したりポカリン型プロスタグランジンD合成酵素(L-PGDS)が、ピリベルジンと酷似したUVおよびCDスペクトルを示す色素を結合していることを報告した。今回は、L-PGDSをリシルエンドプロテアーゼ処理によりペプチド断片化後、逆相HPLCにより分離し、MALDI-TOF-MS法を用いたMS/MS測定により、L-PGDSから遊離してきた内因性リガンドがピリベルジン及びその類縁体であることを同定した。

P22 熊ノ郷晴子<sup>1,2</sup>、黄志力<sup>2</sup>、藤森功<sup>1,2</sup>、裏出良博<sup>1,2</sup> (1 CREST・JST、2 大阪バイオサイエンス研究所・分子行動生物)

In vivo実験系を用いた脳膜におけるリポカリン型プロスタグランジンD合成酵素の産生制御系の解明

リポカリン型プロスタグランジンD合成酵素(L-PGDS)の遺伝子発現は、中枢神経系においては脳膜および脈絡叢に局在し、その発現レベルは非常に高い。脳膜におけるL-PGDS遺伝子の発現調節機構を明らかにするために、L-PGDS遺伝子プロモータ領域とGFP遺伝子との融合遺伝子を含むプラスミドを作成してin vivoのDNAエレクトロポレーション法により脳膜細胞に導入した。現在、GFPの蛍光強度を指標としたプロモータアッセイにより、脳膜特異的発現に関与するプロモータ領域を同定している。

P23 角山圭一<sup>1,2</sup>、乾 隆<sup>1,2</sup>、柏木雄次郎<sup>3</sup>、裏出良博<sup>1,2</sup> (1 CREST・JST、2 大阪バイオサイエンス研究所・分子行動生物、3 関西労災病院・心療内科・精神科)

ラット脳神経細胞へのリポカリン型プロスタグランジンD合成酵素の取り込み機構の解析

ラット脳におけるリポカリン型プロスタグランジンD合成酵素(L-PGDS)の分布を免疫組織化学的に調べた結果、本酵素蛋白質は幼弱動物のくも膜細胞や大脳皮質の錐体細胞とその樹状突起に局在していた。そして、神経細胞内のL-PGDS蛋白質は、動物の成長と共に減少した。しかし、L-PGDS mRNAは、くも膜では発現していたが神経細胞には検出されなかった。従って、L-PGDSは何らかの機構を介して神経細胞内に移行すると考えられる。現在、その取り込み機構を調べている。

P24 入倉大祐、裏出良博(CREST・JST、大阪バイオサイエンス研究所・分子行動生物)

リポカリン型プロスタグランジンD合成酵素の反応機構

マウス・リポカリン型プロスタグランジンD合成酵素(L-PGDS)の結晶構造に基き、ヒキガエルのL-PGDS類似蛋白質に部位特異的変異法を導入し、PGDS活性に及ぼす影響を検討した。L-PGDSの活性中心と考えられるCys39や、そのSH基の脱プロトン化を促すと考えられるThr41をAlaに置換するとPGDS活性が失われた。逆に、SH基の脱プロトン化を促すOH残基を導入すると、PGDS活性が約1.6倍に増加し至適pHが9から8.5に移動した。従って、L-PGDSの活性中心Cys39のSH基は、近傍のOH残基をもつアミノ酸によりSマイナス化し反応を触媒すると考えられる。