

2 Saposin Bはヒト細胞中で コエンザイムQ10と複合体を形成している

○佐川智史¹, 鈴木優¹, 金光植^{1,2}, 加柴美里¹, 久保博司², 藤沢章雄¹, 吉村眞一³, 山本順寛¹

¹東京工科大学大学院バイオニクス専攻, ²東京大学大学院工学系研究科, ³東海大学医学部

【緒言】

コエンザイムQ10 (CoQ10) は, ミトコンドリア電子伝達系でATP産生に関与し, CoQ10の還元型は抗酸化物質として生体内に必要不可欠な物質であるが, その細胞内での輸送システムについてはほとんど明らかにされていない. 我々はヒト尿からCoQ10結合蛋白質の単離に成功し, そのアミノ酸配列からSaposin Bと同定した (G. Jin *et al.* *J. Clin. Biochem. Nutr.*, *in press*). Saposin Bはスフィンゴ脂質の加水分解に不可欠な蛋白質であり, ヒト体内にユビキタスに存在する. Saposin Bのポリクローナル抗体を用いて, ヒト精子やヒト肝がん由来細胞HepG2でSaposin B-CoQ10複合体が存在することを昨年の研究会で報告した. Saposin B-CoQ10複合体の存在をより確かなものとするためにヒトSaposin Bモノクローナル抗体を作成し, 各種生体試料の免疫沈降実験を行った.

【方法】

カラムクロマトグラフィーによりヒト尿中からSaposin Bを精製した. 精製したヒトSaposin Bをマウスに皮下投与し, 3週間後に血清の抗体力価を解析した. 抗体力価上昇の認められたマウス脾臓を用いてハイブリドーマを作成した. スクリーニングの結果, Saposin B抗体を作成する細胞株を樹立した. 解析に用いたSaposin Bモノクローナル抗体はマウス腹水より精製した. Saposin Bモノクローナル抗体を用いて, ヒト精子, HepG2細胞サンプルを免疫沈降し, 沈降物中のSaposin B量とCoQ10量を解析した. 沈降物中のCoQ10は高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した. Saposin Bは, Saposin Bモノクローナル抗体を用いたウェスタンブロット法で解析した.

【結果と考察】

精製したSaposin Bモノクローナル抗体は, Saposin Bを強く認識し, 抗体のサブクラスはIgG1であった. Saposin Bモノクローナル抗体を用いて, ヒト精子, HepG2細胞, HepG2細胞Cytosol (図1)を免疫沈降したところ, 沈降物中にCoQ10とSaposin Bが共存することを確認した. 以上の結果から, ヒト細胞中でSaposin BがCoQ10と複合体を形成していることが確認された.

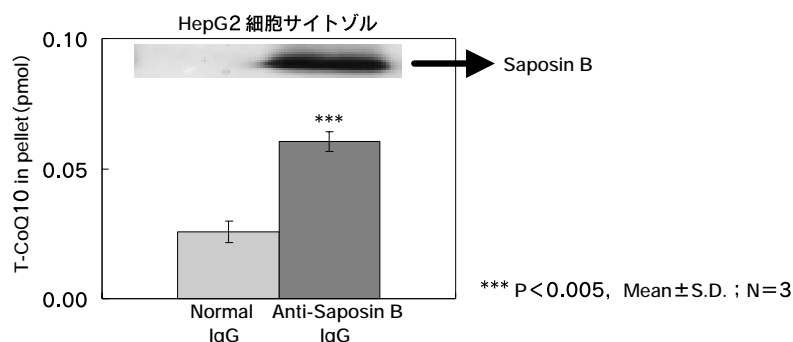


図1 HepG2細胞Cytosol免疫沈降物中のCoQ10とSaposin B