

アカタラセミア，ヒポカタラセミアマウスの赤血球カタラーゼの均一性およびSDS，LIS に対する安定性について

岡山大学医学部公衆衛生学教室（指導：公衆衛生学教室，緒方正名教授）

水 垣 順 子

（昭和53年2月25日受稿）

I 緒 言

先天性代謝異常症の中で，直接酵素欠損が証明されている疾患では異型接合体の発見に，その酵素活性を測定することが行われている。

例えば，アカタラセミア¹⁾の異型接合体であるヒポカタラセミアは，赤血球カタラーゼの活性が正常人のその約半分である。またガラクトセミア²⁾でも異型接合体は赤血球のガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼの活性が，正常人とガラクトセミアとの中間値を示すことが知られている。先天性非球状赤血球性溶血性貧血のグルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G-6-PD) 欠損症³⁾では，異型接合体の女性に正常値の約半分の G-6-PD 活性が認められている。このようにして，異型接合体の発見は人類遺伝学的に gene flaw を知るための手がかりとなっている。

Feinsteinら⁴⁾はマウスにX線を照射し，アカタラセミア同型接合体とヒポカタラセミア同型接合体を見出している。次いで彼らはこれらのマウスと正常マウスとのかけあわせによって得られたアカタラセミア異型接合体，ヒポカタラセミア異型接合体の血液カタラーゼの活性が，その両親である正常とそれぞれの同型接合体の約2分の1であることを見出している⁵⁾。同時に異型接合体の血液カタラーゼの尿素および熱安定性を調べ，そのカタラーゼ分子のサブユニットの組合せについても検討している。

筆者は現在までに，アカタラセミアマウスの肝カタラーゼの生合成および分解速度に関する研究を行ってきた⁶⁾⁷⁾そして前報⁸⁾でアカタラセミアマウスの肝カタラーゼの sodium dodecyl sulfate (SDS)

による変性を検討した。

本報では，アカタラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^b$) およびヒポカタラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^c$) マウスの血液カタラーゼの性質を調べるために，赤血球中のカタラーゼの均一性を調べた。次いで，カタラーゼ分子のSDSおよびLIS (3, 5-diiodosalicylic acid lithium salt) に対する安定性と，正常 ($C_s^a C_s^a$)，アカタラセミア同型接合体 ($C_s^b C_s^b$)，およびヒポカタラセミア同型接合体 ($C_s^c C_s^c$) マウス相互について比較検討した。その成績をここに報告する。

II 実験材料および方法

1. 材料

本実験に用いたマウスのstrainは正常（野性型）の同型接合体である $C_s^a C_s^a$ ，アカタラセミアの同型接合体である $C_s^b C_s^b$ ，ヒポカタラセミアの同型接合体の一種類である $C_s^c C_s^c$ ，アカタラセミアの異型接合体である $C_s^a C_s^b$ ，ヒポカタラセミアの異型接合体である $C_s^a C_s^c$ であった。実験には各々の strain について，生後1～3ヶ月齢のマウスを数個体用いた。マウスの血液はヘパリン添加の毛細管で，眼窩静脈叢より採った。

実験には陰イオン系界面活性剤の一種である SDS (sodium dodecyl sulfate) および LIS (3, 5-diiodosalicylic acid lithium salt) を用いた。

2. 赤血球浮遊液への過酸化水素の添加

マウス赤血球を生理的食塩水で3回洗浄し，元の血液量になるように生理的食塩水を加えて赤血球浮遊液とし，0℃に保った。この赤血球浮遊液0.2 ml に，調製直後の過酸化水素含有生理的食塩水 (0, 1

%H₂O₂, pH5.5, 0℃) 5mlを加えた。そして, 4℃で25時間放置した後, 変化を観察した。次に, 赤血球浮遊液に0.3%H₂O₂含有生理的食塩水を加え, 37℃で30分間反応させた。次いで反応液の8倍量の純水を加えて溶血させ, 自記分光光度計(Beckman DK-2A)を用いて, 吸光度曲線(400nm-700nm)を描いた。

3. 血液のSDS およびLIS 処理

マウスの血液は氷冷純水で50倍希釈した。

そして以下に述べるSDS およびLIS 処理に用いて, 終濃度は100倍希釈とした。

SDS は終濃度2, 4, 6, 8, 10, 12mMの2倍濃度の溶液(対照は純水)を調製し, 液温をあらかじめ25℃に調節した後, 各々に50倍希釈の溶血液をSDS 溶液と等量加えて混和し, 25℃で30分間放置した。反応終了後の試験管は氷水に取り, 直ちに前報⁹⁾と同じ方法でカタラーゼ活性を測定した。

LIS 処理は終濃度5, 10, 15, 20, 25, 30mMの2倍濃度のLIS 溶液を用意し, SDS 処理と同様に行ない, 前報⁹⁾と同じ方報でカタラーゼ活性を測定した。

III 実験結果

1. アカタラセミア異型接合体(C_s^aC_s^b) マウスの赤血球カタラーゼの細胞単位での均一性

a. 試験管内変色試験

Fig 1. に示す如く, 正常(C_s^aC_s^a)赤血球浮

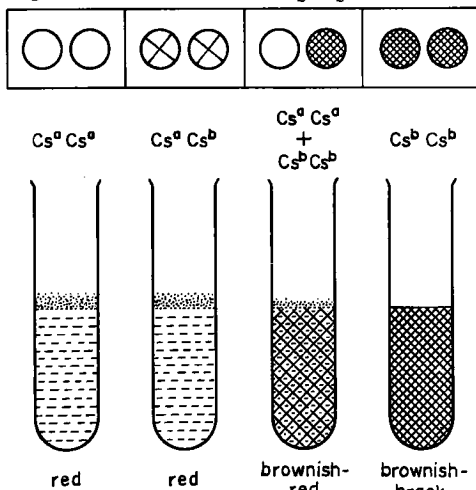


Fig. 1. Schema of the changed color in the erythrocyte suspension after addition of saline containing H₂O₂ to the above cell suspension.

C_s^aC_s^a: normal, C_s^aC_s^b: acatalasemic heterozygote, C_s^bC_s^b: acatalasemia and C_s^aC_s^a + C_s^bC_s^b: mixed erythrocyte with C_s^aC_s^a and C_s^bC_s^b.

遊液(カタラーゼ活性: 141PU/ml)およびアカタラセミア異型接合体(C_s^aC_s^b)の赤血球浮遊液(68PU/ml)に, 0.1%H₂O₂含有生理的食塩水を加えると, H₂O₂の分解で生じたO₂による発泡が認められたが, 浮遊液は赤色のまま残存した。正常(C_s^aC_s^a)赤血球浮遊液とアカタラセミア(C_s^bC_s^b)赤血球浮遊液の等量混合液(74PU/ml)ではH₂O₂の添加により, O₂による発泡が認められ, 混合浮遊液の色が赤色から赤褐色に変わった。アカタラセミア(C_s^bC_s^b)赤血球浮遊液(7PU/ml)では, O₂による発泡はほとんど認められず, 浮遊液は黒褐色に変色した。そしてこの事実, C_s^aC_s^b赤血球浮遊液が, 混合赤血球浮遊液(C_s^aC_s^a + C_s^bC_s^b)の細胞構成とは異なることを示している。

b. 分光光度計による分析

実験aで用いた4種類の赤血球浮遊液に, 0.3%H₂O₂含有生理的食塩水を加えて30分間反応させた後, 反応液を希釈, 溶血させて, 分光光度計による吸光度の変化を測定した。Fig. 2に示されるように, H₂O₂添加後のC_s^aC_s^a溶血液(1)とC_s^bC_s^b溶血液(2)では, 吸収帯の差異は認められず, いずれも, H₂O₂添加前と比較して, 添加後の吸収帯の変化は認められなかった。しかし, 吸収曲線3に示されるC_s^aC_s^a + C_s^bC_s^bの混合溶血液では, ヘモグロビンに相当する540nmと578nmの2つの最大吸収帯の吸光度の減少を示したが, 500nmと630nmに吸収をもつ小峯は少量の酸性メトヘモグロビンの形成を示すと思われる。すなわち, C_s^aC_s^a + C_s^bC_s^b混合赤血球浮遊液(モザイク)では, その中のC_s^bC_s^b赤血球のヘモグロビンがH₂O₂によって変化し, メトヘモグロビンが生じたと考えられる。吸収曲線4に示すC_s^bC_s^b溶血液では, 一定時間後にヘモグロビンが分解されたことを示すが, 410nmに吸収帯があり, その性質は不明であった。以上の結果から, C_s^aC_s^b赤血球の構成がC_s^aC_s^aとC_s^bC_s^bのモザイクではないことが証明された。

2. マウスの血液カタラーゼのSDS およびLISに対する安定性

a. 正常(C_s^aC_s^a), アカタラセミア(C_s^bC_s^b), アカタラセミア異型接合体(C_s^aC_s^b)の残余カタ

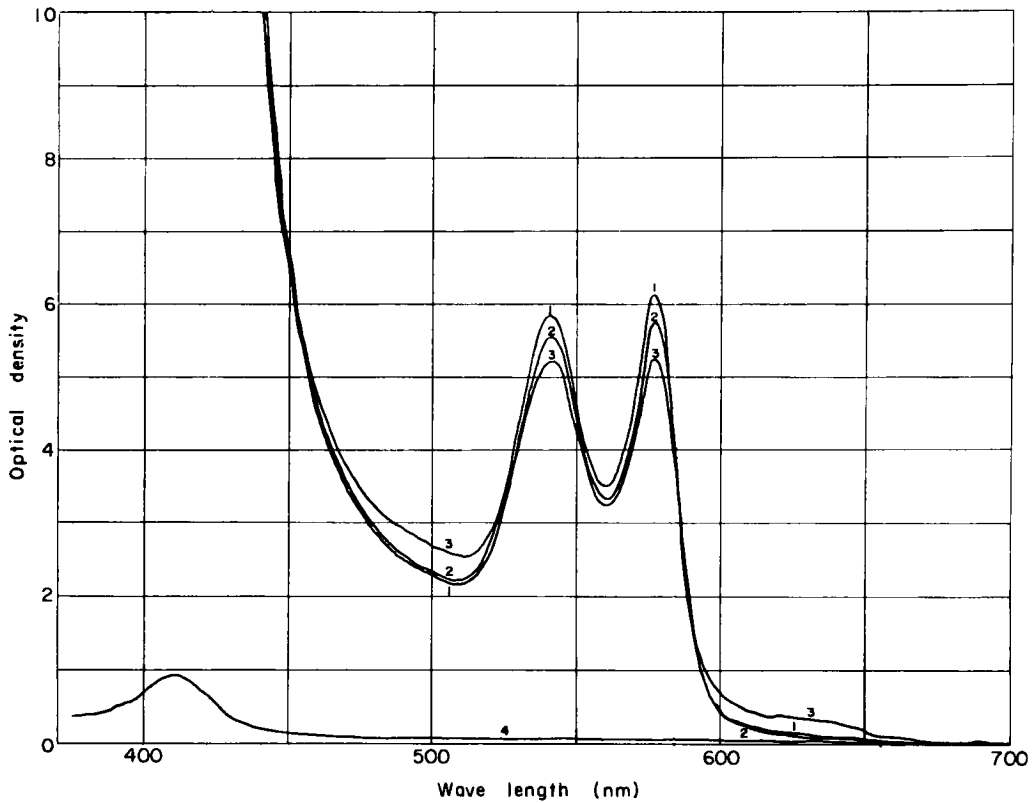


Fig. 2 Absorption spectrum of hemolysate obtained from erythrocyte after addition of hydrogen peroxide to erythrocyte suspension in saline. Erythrocyte was taken from normal (Cs^aCs^a), acatalasemic heterozygote (Cs^aCs^b) and acatalasemia (Cs^bCs^b)

1. Cs^aCs^a , 2. Cs^aCs^b , 3. $Cs^aCs^a + Cs^bCs^b$, 4. Cs^bCs^b

Table 1. Blood catalase activity remaining by SDS and LIS treatment with normal (Cs^aCs^a), acatalasemia (Cs^bCs^b) and acatalasemic heterozygote (Cs^aCs^b).

Surfactant concentration	Cs^aCs^a	Cs^bCs^b	Cs^aCs^b
0	100 %	100 %	100 %
SDS	2 mM	82.7 ± 2.2	77.6 ± 4.2
	4	82.8 ± 2.8	18.2 ± 13.8
	6	45.7 ± 3.8	43.0 ± 26.0
	8	8.0 ± 1.1	51.7 ± 7.1
	10	1.6 ± 0.9	14.4 ± 10.1
	12	1.2 ± 0.8 (n = 5)	19.6 ± 15.4 (n = 3)
LIS	0	100 %	100 %
	5 mM	86.4 ± 2.8	3.0 ± 4.3
	10	72.2 ± 1.8	5.6 ± 7.9
	15	68.1 ± 2.6	7.4 ± 10.5
	20	53.0 ± 1.2	9.3 ± 13.1
	25	16.2 ± 2.4	6.1 ± 8.6
	30	0.5 ± 0.5 (n = 3)	0 (n = 3)

Data shown are mean ± standard deviation.

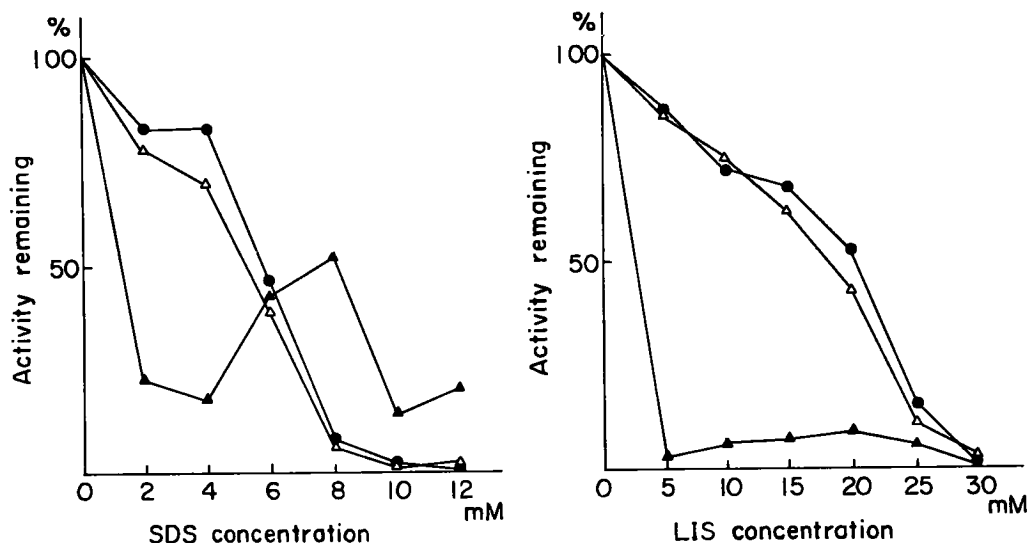


Fig. 3 SDS and LIS stability of mouse blood catalase. ●—● normal ($C_s^a C_s^a$); \triangle — \triangle acatalasemic heterozygote ($C_s^a C_s^b$); \blacktriangle — \blacktriangle acatalasemia ($C_s^b C_s^b$)

ラーゼ活性の比較

実験結果はTable 1, Fig. 3 に示す通りである。

SDS に対する安定性は $C_s^a C_s^a$ が最も高く、 $C_s^a C_s^b$ はやや不安定であり、 $C_s^b C_s^b$ が最も不安定であった。 $C_s^b C_s^b$ の 8 mM 付近での活性上昇については、そのカタラーゼの特性であるのか、または溶血液中の他の物質によるものかは不明であ

った。

LIS に対する安定性は SDS の場合と同様に $C_s^a C_s^a > C_s^a C_s^b > C_s^b C_s^b$ の順序であった。この場合にも $C_s^b C_s^b$ では 20 mM を中心に活性の上昇が認められるが、その原因は不明であった。

b. 正常 ($C_s^a C_s^a$)、ヒポカタラセミア ($C_s^a C_s^c$)、ヒポカタラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^c$) のカタラー

Table 2. Blood catalase activity remaining by SDS and LIS treatment with normal ($C_s^a C_s^a$), hypocatalasemia ($C_s^a C_s^c$) and hypocatalasemic heterozygote ($C_s^a C_s^c$).

Surfactant concentration	$C_s^a C_s^a$	$C_s^a C_s^c$	$C_s^a C_s^c$	
0	100 %	100 %	100 %	
SDS	2 m M	82.7 ± 2.2	67.8 ± 4.9	52.5 ± 2.5
	4	82.8 ± 2.8	42.5 ± 9.9	51.2 ± 4.8
	6	45.7 ± 3.8	9.0 ± 2.6	18.1 ± 2.9
	8	8.0 ± 1.1	6.6 ± 2.2	5.0 ± 0.6
	10	1.6 ± 0.9	2.9 ± 3.3	2.9 ± 2.6
	12	1.2 ± 0.8 (n = 5)	2.2 ± 2.4 (n = 5)	4.9 ± 1.4 (n = 5)
0	100 %	100 %	100 %	
LIS	5 m M	86.4 ± 2.8	71.6 ± 12.3	69.2 ± 2.0
	10	72.2 ± 1.8	51.8 ± 3.9	67.1 ± 5.5
	15	68.1 ± 2.6	28.5 ± 9.1	49.2 ± 2.9
	20	53.0 ± 1.2	16.8 ± 1.0	26.4 ± 2.5
	25	16.2 ± 2.4	20.2 ± 2.9	7.6 ± 1.7
	30	0.5 ± 0.5 (n = 3)	14.1 ± 8.4 (n = 3)	2.2 ± 1.3 (n = 5)

Data shown are mean ± standard deviation.

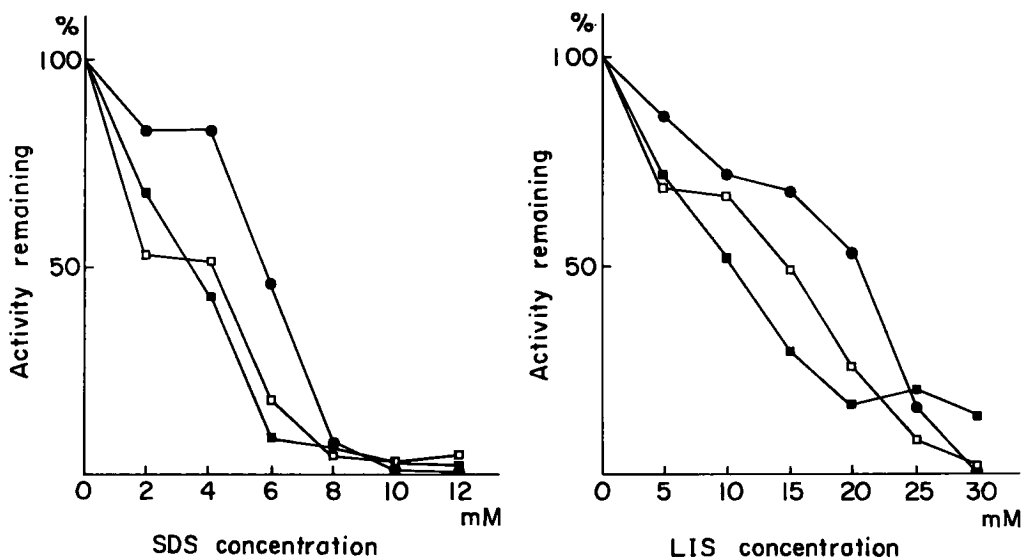


Fig. 4. SDS and LIS stability of mouse blood catalase. ●—● normal (Cs^aCs^a); □—□ hypocatalasemic heterozygote (Cs^aCs^c); ■—■ hypocatalatalasemia (Cs^cCs^c)

ーゼ活性の比較

実験結果は Table 2, Fig. 4 に示す通りである。

SDS に対する安定性は 4 mM 以上では Cs^aCs^c は Cs^aCs^a より低く, Cs^cCs^c は更に低かった。なお, 2 mM では $Cs^aCs^a > Cs^cCs^c > Cs^aCs^c$ の順で低かった。

LIS に対する安定性は 10~20mM の範囲では $Cs^aCs^a > Cs^aCs^c > Cs^cCs^c$ の順で低く, 5 mM では $Cs^aCs^a > Cs^cCs^c > Cs^aCs^c$ の順で低かった。

実験 a および b の成績を比較すると, $Cs^aCs^a - Cs^cCs^c$ の差より, $Cs^aCs^a - Cs^aCs^c$ の差の方が大きくあらわれた。

SDS および LIS に対する安定性を総合的に評価するために, SDS および LIS 処理によるカタラーゼ活性 50% 失活濃度 (SDS_{50} および LIS_{50}) を求め, 未処理のカタラーゼ活性と共に, Table 3 に示した。 Cs^aCs^c は Cs^aCs^b に比べてカタラーゼ活性が高いにもかかわらず, SDS および LIS に対

Table 3. Comparison of catalase activities with SDS and LIS stabilities

Mouse strain		Catalase activity	SDS_{50}	LIS_{50}
		(PU/ml blood)	(mM)	(mM)
Normal	Cs^aCs^a	140.5 ± 9.0	5.76 ± 0.19	20.33 ± 0.24
Hypocatalasemic heterozygote	Cs^aCs^c	97.5 ± 7.5	4.12 ± 0.56	14.66 ± 0.81
Acatalasemic heterozygote	Cs^aCs^b	68.0 ± 5.5	5.57 ± 0.41	18.08 ± 0.49
Hypocatalasemia	Cs^cCs^c	22.5 ± 5.0	3.24 ± 0.61	10.23 ± 0.49
Acatalasemia	Cs^bCs^b	6.5 ± 2.0	1.33 ± 0.12	2.53 ± 0.19

SDS_{50} and LIS_{50} are those SDS and LIS concentration at which 50% of the catalase activities are lost under the conditions of the experiment.

Data shown are mean ± standard deviation.

Table 4. Differentiation of stability of catalase activity against SDS and LIS treatment

A. Normal ($C_s^a C_s^a$), acatalasemic heterozygote ($C_s^a C_s^b$) and acatalasemia ($C_s^b C_s^b$)

	$C_s^a C_s^a - C_s^b C_s^b$	$C_s^a C_s^a - C_s^a C_s^b$	$C_s^a C_s^b - C_s^b C_s^b$
SDS ₅₀	P < 0.001	N. S.	P < 0.001
LIS ₅₀	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001

B. Normal ($C_s^a C_s^a$), hypocatalasemic heterozygote ($C_s^a C_s^c$) and hypocatalasemia ($C_s^c C_s^c$)

	$C_s^a C_s^a - C_s^c C_s^c$	$C_s^a C_s^a - C_s^a C_s^c$	$C_s^a C_s^c - C_s^c C_s^c$
SDS ₅₀	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.95
LIS ₅₀	P < 0.001	P < 0.001	P < 0.001

p indicates probability value, calculated from the data of Table 3.

N. S. indicates the two means to be not significantly different.

する安定性は低かった。次いで、SDS₅₀ と LIS₅₀ の平均値の差の検定を行ない、Table 4 に示した。この成績から明らかなように、SDS₅₀ の $C_s^a C_s^a$ と $C_s^a C_s^b$ の組合せを除いたすべての組合せで、SDS₅₀ および LIS₅₀ に有意の差が認められた。従って、正常 ($C_s^a C_s^a$)、アカタラセミア ($C_s^a C_s^b$)、ヒポカタラセミア ($C_s^c C_s^c$)、アカタラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^b$)、ヒポカタラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^c$) の安定性に差異が有ることから、それぞれのカタラーゼ分子の構造にも差異があると考えられる。

IV 考 察

性染色体に伴う遺伝様式を示す G-6-PD 欠損症³⁾ では異型接合体の女性の酵素活性は正常人の約半分であるが、赤血球のモザイク現象が推定されている。一方、ヒト¹⁾ およびマウス⁴⁾ のアカタラセミアは常染色体性劣性遺伝を示すことが、認められている。

アカタラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^b$) マウスの血液カタラーゼの活性は、正常 ($C_s^a C_s^a$) の約半分であったが、赤血球単位のカタラーゼの均一性が

問題になる。この問題を解決するために、 $C_s^a C_s^b$ が1個の赤血球中に $C_s^a C_s^a$ の2分の1のカタラーゼ活性をもつと考えると、この赤血球に intact な状態で H_2O_2 を添加すると $C_s^a C_s^a$ の赤血球とほぼ同じ態度をとると思われる。一方、アカタラセミア ($C_s^b C_s^b$) 赤血球に H_2O_2 を添加するとメトヘモグロビンが形成される。 $C_s^a C_s^a$ の赤血球と $C_s^b C_s^b$ の赤血球を等量混合し、これに H_2O_2 を添加すると、 $C_s^a C_s^b$ に H_2O_2 を添加した場合よりもメトヘモグロビン形成が多いはずである。実際、分光光電比色計による吸光度の変化から、 $C_s^a C_s^a$ と $C_s^b C_s^b$ の混合赤血球では、 $C_s^b C_s^b$ 赤血球に由来する酸性メトヘモグロビン形成が認められたが、 $C_s^a C_s^b$ ではほとんど認められなかった。この事実は日本人ヒポカタラセミアの赤血球カタラーゼの活性が正常の約2分の1であって、正常とアカタラセミアの赤血球細胞のモザイクではないという緒方ら⁹⁾の報告と一致している。

異常ヘモグロビン症¹⁰⁾の研究から、グロビン分子が α および β という2種類のポリペプチド鎖からなり、 α および β 鎖はそれぞれ別々の遺伝子支配をうけていると言われている。アカタラセミアに関しては、Aebi ら¹¹⁾によってカタラーゼ分子の遺伝子支配についても明らかになりつつある。

本報では、アカタラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^b$) とヒポカタラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^c$) マウスの血液カタラーゼの界面活性剤 (SDS, LIS) に対する安定性は、その両親である正常 ($C_s^a C_s^a$)、アカタラセミア同型接合体 ($C_s^b C_s^b$) あるいはヒポカタラセミア同型接合体 ($C_s^c C_s^c$) マウスの安定性とも異なることが証明された。異型接合体である $C_s^a C_s^b$ 、 $C_s^a C_s^c$ のカタラーゼ分子の性質が同型接合体である $C_s^a C_s^a$ 、 $C_s^b C_s^b$ 、 $C_s^c C_s^c$ のいずれのカタラーゼ分子の性質とも違っているように思われる。もし違っているとすれば、カタラーゼが4つのサブユニットから成ることを考えると、異型接合体のカタラーゼ分子のサブユニットの組合せが、同型接合体の組合せと等しいとは考えられない。このことは、Feinstein ら⁵⁾が尿素と熱に対する安定性を調べた結果と一致するが、更に蛋白分子の解裂が明確である界面活性剤によって、カタラーゼ分子の性質が明確になったと思われる。また、アカタラセミア同型接合体 ($C_s^b C_s^b$) の界面活性剤に対する安定性は、正常 ($C_s^a C_s^a$) と比べて著しく低かった。このことは、 $C_s^b C_s^b$ のカタラーゼ分子の構造に變

異があり, サブユニットに解離し易いと考えられる
そこでサブユニットの組合せ, サブユニットの結合
部にも問題があるのではないかと考えられる.

V 結 論

アカタラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^b$) とヒポカ
タラセミア異型接合体 ($C_s^a C_s^c$) マウスの血液カ
タラーゼの性質を調べるために, 赤血球中のカタ
ラーゼの均一性と, 血液カタラーゼの界面活性剤(SDS
および LIS) に対する安定性について調べ, 同型接合
体である正常 ($C_s^a C_s^a$), アカタラセミア ($C_s^b C_s^b$),
ヒポカタラセミア ($C_s^c C_s^c$) マウスとの比較検討を
行った. その成績は以下の如くである.

1. $C_s^a C_s^a$ と $C_s^b C_s^b$ の赤血球の等量混合浮遊
液 (モザイク) と, $C_s^a C_s^b$ の赤血球浮遊液に, そ
れぞれ $H_2 O_2$ 含有生理的食塩水を加えると, $C_s^a C_s^a$
と $C_s^b C_s^b$ の混合赤血球ではメトヘモグロビンの
形成が認められたが, $C_s^a C_s^b$ 赤血球では認められ
なかった. 従って, $C_s^a C_s^b$ の血液カタラーゼの活
性が $C_s^a C_s^a$ の約 2 分の 1 であるのは, $C_s^a C_s^b$ の 1

個の赤血球中のカタラーゼ活性が 2 分の 1 であって,
 $C_s^a C_s^a$ と $C_s^b C_s^b$ の赤血球のモザイク的混合では
ないと考えられる.

2. SDS および LIS に対する血液カタラーゼの
安定性はいずれに対しても, $C_s^a C_s^a > C_s^b C_s^b >$
 $C_s^b C_s^b$, $C_s^a C_s^a > C_s^a C_s^c > C_s^c C_s^c$ の順序で高
かった. この成績から, 同型接合体 ($C_s^b C_s^b$ と
 $C_s^c C_s^c$) はもちろん, 異型接合体 ($C_s^a C_s^b$ と
 $C_s^a C_s^c$) の血液カタラーゼの性質は, 正常 ($C_s^a C_s^a$)
とは異っており, それぞれのカタラーゼ分子のサブ
ユニットの組合せが異っていると推定される.

稿を終るに臨み懇切丁寧な御指導をいただきま
した緒方正名教授ならびにアカタラセミアマウスに
関して御援助をいただきました川崎医科大学, 高原
滋夫教授に深く感謝いたします. また技術的援助を
いただきました耳鼻咽喉科学教室の黒田泰生先生に
厚く御礼申し上げます.

文 献

- 1) Takahara, S. Progressive oral gangrenes probably due to lack of catalase in the blood (Acatalasemia). *Lancet*, **2**, 1101~1104, 1952.
- 2) Beutler, E. and Mathai, C. K. Hereditary disorder of erythrocyte metabolism (ed. by Beutler, E.), Grune and Stratton, New York and London, p. 66~83, 1967.
- 3) Tönz, O. and Rossi, E. Morphological demonstration of two red cell populations in human females heterozygous for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Nature*, **202**, 606~607, 1964.
- 4) Feinstein, R. N., Howard, J. B., Braun, J. T. and Seaholm, J. E. Acatalasemic and hypocatalasemic mouse mutants. *Genetics*, **53**, 923~933, 1966.
- 5) Feinstein, R. N., Howard, J. B. and Savol, R. Heat and urea stability of blood catalase of catalase-mutant mouse strains. *Experientia*, **27**, 1152~1153, 1971.
- 6) Ogata, M., Takagi, M., Ogata, K., Tomokuni, K., Mizugaki, J. and Takahara, S. Changes of specific activity and synthesizing activity of catalase in acatalasemia mouse liver. *Tohoku J. exp. Med.*, **114**, 349~354, 1974.
- 7) Ogata, M., Mizugaki, J. and Takahara, S. Recovery of catalase activity after inhibition with aminotriazole in acatalasemia mice. *Tohoku J. exp. Med.*, **116**, 39~43, 1975.
- 8) 水垣順子, 肝カタラーゼの SDS による変性について, 岡山医学会雑誌, **87**, 543~548, 1975.
- 9) 緒方正名, 高原滋夫, 低カタラーゼ血液症の赤血球中に存在するカタラーゼ活性度, 医学と生物学, **72**, 287~291, 1966.
- 10) Pauling, L., Itano, H. A., Singer, S. J. and Wells, I. C. Sick cell anemia, a molecular disease. *Science*, **110**, 543~548, 1949.

- 11) Aebi, H., Wyss, S. R., Scherz, B. and Gross, J. Properties of erythrocyte catalase from homozygotes and heterozygotes for Swiss-type acatalasemia. *Biochem. Genetics.* **14**, 791~807, 1976.

Homogeneity of erythrocyte catalase and its stability to SDS and to LIS in acatalasemia and hypocatalasemia mice

by

Junko MIZUGAKI

Department of Public Health, Okayama University Medical School

(Director : Prof. Masana Ogata)

Behavior of hemoglobin in the erythrocytes to the addition of H_2O_2 in saline was examined to be confirmed the equal distribution of catalase in erythrocyte population from acatalasemic heterozygote mouse (Cs^aCs^b) which showed the half of normal (Cs^aCs^a) catalase activity. When H_2O_2 was added in the suspension mixed erythrocytes with Cs^aCs^a and acatalasemia (Cs^bCs^b), the color changed immediately from red to brownish red with emitting a little bubble of O_2 . One population of erythrocyte lacking catalase activity should be caused the methemoglobin formation. In fact, rapid spectrophotometric scanning proved that the wavelength of maximum absorbance were 500nm and 630nm. When H_2O_2 was added in the erythrocyte suspension from Cs^aCs^b , the color unchanged, remained red, with emitting bubbles of O_2 . This result was the same as in the erythrocyte suspension from Cs^aCs^a . Data indicated that erythrocyte from heterozygote (Cs^aCs^b) is consist of one population and is not two populations of Cs^aCs^a and Cs^bCs^b .

The nature of blood catalase by stability to the surfactant (SDS and LIS) was compared among normal (Cs^aCs^a), acatalasemic homozygote and heterozygote (Cs^bCs^b and Cs^aCs^b), and hypocatalasemic homozygote and heterozygote (Cs^cCs^c and Cs^aCs^c) mice. In both respects of SDS and LIS stability, Cs^aCs^a was most stable and two heterozygotes (Cs^aCs^b and Cs^aCs^c) were less stable than Cs^aCs^a . Cs^cCs^c and Cs^bCs^b , namely Cs^bCs^b were of least stability to SDS and to LIS. It was demonstrated that blood catalase molecule of acatalasemic and hypocatalasemic heterozygote (Cs^aCs^b and Cs^aCs^c) differs from that of both parents (Cs^aCs^a , Cs^bCs^b and Cs^cCs^c). It was concluded that 5 sorts of blood catalase were different each other and consist of a single molecular species and suggested that since catalase was a tetramer, the combination of subunits was different each other.