

第 102 回関西実験動物研究会
シリーズ「われらが評議員の研究から学ぶ」第 2 回

2. 退役動物：生化学研究における有用性

山本 好男（三重大大学社会連携研究センター伊賀研究拠点）

退役動物は、その役目を終えた後その一部はさらに微生物モニタリングや加齢に関する研究等に使用され、大部分は安楽死されている。生化学領域の研究領域は多岐にわたるが、タンパク質等の研究において退役動物が生化学的研究に利用できる大きな資源になることがある。特に、生体内での酵素などの構造や機能の解析における基礎的な研究において、研究初期の試料として大量の臓器を必要とすることがあり、このとき動物生産ラインから大量に出される繁殖用の親動物（退役動物）が有用である。

退役ラットを利用した研究の一端を紹介する。動物生産施設における種動物の更新時にあわせ、実験計画を立案し、施設内で、用途に応じて麻酔下あるいは安楽死後の動物から目的臓器を採取、保存した（冷蔵・冷凍）。これらの採取された臓器を用いて以下の実験を行った。

ピューロマイシン感受性アラニルアミノペプチダーゼの単離と精製：1 回の実験に、500g の肝臓を用いた。細切後、生理食塩水で洗浄後、破碎、遠心分離し、さらに超遠心により細胞質画分を得た。この画分を透析後、吸着から無クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィーなどの一連のクロマトグラフィーを行い、さらに、低圧あるいは高速液体クロマトグラフィーにより、目的とするタンパク質画分を得た。これらの画分の電気泳動により精製度合いを検討し、電気泳動上単一のバンドを示すまで精製を行った。これにより得られたタンパク量は 0.6～1.0mg であった。この操作を繰り返し、構造解析、抗血清の作成に必要な量を確保した。大量（約 30kg）の肝臓から数 mg のタンパク質を得、アミノ酸分析など一構造の解析からピューロマイシン感受性アラニルアミノペプチダーゼとして単離・精製した。このタンパク質の物理化学的諸性質を検討、ウサギに免疫してポリクローナル血清を得た。この血清を用いて、諸臓器における局在やその生体における機能の解析を行った。

この例以外に、アミノペプチダーゼ N、ジペプチジルペプチダーゼ、トリペプチジルペプチダーゼなどの単離と精製、生理機能の解析などを行った。

このような大量の退役動物を用いる研究を展開したので、それらの有用性やその取り扱いの問題などについて考察したい。