

〔Chem. Pharm. Bull., 26, 3103 (1978)〕

### Some Properties of Leucine Aminopeptidase from *Aspergillus japonica* as a Metalloenzyme

MAMORU SUGIURA, MASAO ISHIKAWA\*, MASANORI SASAKI\*\*

#### *Aspergillus japonica* の産生するロイシンアミノペプチダーゼの金属酵素としての諸性質

杉浦 衛, 石川正夫\*, 佐々木正憲\*\*

*Aspergillus japonica* の産生するロイシンアミノペプチダーゼ〔E. C. 3.4.1.1〕の金属酵素としての諸性質について検討した。ロイシンアミノペプチダーゼは種々のキレーターにより阻害され、EDTAにより活性の消失した酵素は、 $Zn^{2+}$  の添加により Native 酵素と同程度の活性を示したが、 $Co^{2+}$  によってはその効果は小さかった。また、Native 酵素、および  $Zn^{2+}$ 、 $Co^{2+}$  によって再活性化した酵素の速度論的な検討を L-Leucyl- $\beta$ -naphthylamide を用いて行なった。Native 酵素のミハエリス定数 (Km) ならびに活性化エネルギー (Eact) は  $Zn^{2+}$  によって再活性化した酵素の値と非常によく一致していた。(Native ロイシンアミノペプチダーゼ : Km =  $2.5 \times 10^{-4} M$ , Eact :  $9.2 \times 10^3 cal/mol$ ,  $Zn^{2+}$  再活性化アミノペプチダーゼ : Km =  $2.5 \times 10^{-4} M$ , Eact :  $9.8 \times 10^3 cal/mol$ ) 基質 L-Leucyl- $\beta$ -naphthylamide の存在によってキレーターによる阻害も若干阻止されることが判明した。金属分析の結果、本ロイシンアミノペプチダーゼ中には、1個の Zn が含まれ、キレーター処理することにより活性が低下しその活性の低下は Zn 含量とよく一致した。

Table I Metal Analyses of Native- and Chelating Agent-treated Leucine Aminopeptidase (LAP) from *Aspergillus Japonica*

Sample	Zinc content (g-atom/mol LAP)	Specific activity <sup>a)</sup> (units/mg protein)
Native LAP	1.0	97.0
EDTA-treated LAP	0.1	0
<i>o</i> -Phenanthroline-treated LAP	0.1	11.6

a) One unit of the enzyme activity was defined as the amount of enzyme which hydrolyzed 1  $\mu$ mol of L-leucyl-*p*-nitroanilide per min at 37°, pH 8.0.

\* 東京薬科大学

\*\* 新潟薬科大学