

[Chem. Pharm. Bull., 29, 1361 (1981)]

A New Enzymic Method for the Determination of FAD

MAMORU SUGIURA, KENJI KATO, TETSUO ADACHI, YOSHIMASA ITO,
KAZUYUKI HIRANO

FAD の新酵素的定量法

杉浦 衛, 加藤憲二, 足立哲夫, 伊藤吉将, 平野和行

Deflavo xanthine oxidase (deflavo XOD) を用いた FAD の定量法について検討した。従来 FAD 定量法としては蛍光法および酵素法が報告されている。蛍光法の場合は FAD を他のフラビン類から分離する必要があり、操作が繁雑で測定に長時間を要するという欠点を有している。他方酵素法としては D-amino acid oxidase, glucose oxidase 等を用いる方法が知られているが感度的に必ずしも満足できる方法ではない。XOD は酵素タンパクに非共有的に結合している 2 モルの FAD を分子内に含有し、高濃度の塩処理により容易に酵素から遊離することが報告されている。そこでまず XOD を高濃度の塩化カルシウムで処理し deflavo XOD を調製し、その活性を XOD と比較した結果、 H_2O_2 を産生する活性は全く消失していたがこの deflavo XOD に FAD を作用させるとこの活性は回復した。この性質に着目し、まず deflavo XOD に FAD を反応させ XOD とした後、基質を加えて酵素反応を行い生成した H_2O_2 を測定する FAD の酵素的定量法を確立した。本定量法は従来の D-amino acid oxidase を用いる酵素法に比較して感度が高く、FAD 30 ng 以下でも測定可能であった。さらに再現性に優れ、従来法との間に高い相関性が認められた。したがって本測定法は正確かつ簡便であり、微量 FAD の測定に十分応用可能であることが判明した。

酵素剤の研究 第 171 報

[J. Pharm. Dyn., 4, 235 (1981)]

Purification and Properties of Two Superoxide Dismutases from Human Placenta

MAMORU SUGIURA, TETSUO ADACHI, HAYAO INOUE,
YOSHIMASA ITO, KAZUYUKI HIRANO

ヒト胎盤の 2 種の Superoxide Dismutase の精製とその諸性質

杉浦 衛, 足立哲夫, 井上逸男, 伊藤吉将, 平野和行

ヒト胎盤から銅、亜鉛を含有する superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) およびマンガン含有する superoxide dismutase (Mn-SOD) を disc 電気泳動的に均一にまで精製した。この Cu, Zn-SOD および Mn-SOD の分子量は Sephadex を用いたゲル濾過法により、それぞれ 32,000 および 81,000 と算出された。また SDS-polyacrylamide 電気泳動法により、Cu, Zn-SOD は分子量 16,000 の subunit 2 個から、Mn-SOD は分子量 21,000 の subunit 4 個から成り立っていることが明らかとなった。また Cu, Zn-SOD は subunit 当り 1 グラム原子の銅および亜鉛を含有し、Mn-SOD は subunit 当り 1 グラム原子のマンガン含有していた。両 SOD の免疫学的諸性質について検討したところ、いずれの SOD も臓器特異性は存在しないが、種特異性が認められた。また Cu, Zn-SOD と Mn-SOD は抗原性が異なり免疫化学的に区別されることが明らかとなった。さらに両 SOD の免疫学的差異を応用し、Laurell のロケット免疫電気泳動法によりヒトの種々臓器中の 2 種 SOD 含量を測定した結果、いずれの SOD も肝臓において最も高い含量を示した。

酵素剤の研究 第 172 報