

〔Chem. Pharm. Bull., 30, 3796 (1982)〕

〔薬剤学教室〕

Microassay of Serum Bile Acids by an Enzymatic Cycling MethodYOUICHI KOMIYAMA, TETSUO ADACHI, YOSHIMASA ITO,
KAZUYUKI HIRANO, MAMORU SUGIURA, SHUNJI SAWAKI***血清中胆汁酸の酵素的サイクリング反応による微量定量法**

小見山洋一, 足立哲夫, 伊藤吉将, 平野和行, 杉浦 衛, 沢木俣二*

最近肝胆道系疾患の診断に血清中胆汁酸の分析が重要視されている。とくに 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase (3 α -HSD) の導入以来, Amberlite XAD-2 と組み合わせた酵素法および直接酵素ケイ光法が開発されたが, これらの方法においては多量の血清を必要とするうえ回収率も満足できるものではない。そこで酵素的サイクリング法による血清中胆汁酸の微量定量法について検討した。本法において 3 α -OH 胆汁酸は NAD⁺ の存在下 3 α -HSD により酸化され, 3-ケト胆汁酸に変化し同時に NADH が産生される。この NADH をサイクリング反応により定量した。本サイクリング反応系は alcohol dehydrogenase および diaphorase からなり diaphorase の基質としては 3-(p-iodophenyl)-2-(p-nitrophenyl)-5-phenyl-2H tetrazolium chloride を用い, 反応生成物である formazan を直接 rate assay にて定量した。この反応は NADH に特異的であり, glycocholic acid を用いた検量線は 2~100 μ M まで原点を通る直線が得られた。また添加回収率 (97~101%) 同時再現性 (変動係数 1.3%) 日差変動 (変動係数 4.7%) においても良好な結果が得られ, 血清成分の影響も認められなかった。さらに本測定法を用いて肝疾患患者血清中の胆汁酸濃度を測定した結果, ビリルビン値との間に良好な相関性が認められた。

* 愛知医科大学 酵素剤の研究第 184 報

〔Chem. Pharm. Bull., 30, 1387 (1982)〕

〔薬剤学教室〕

Characterization of Human Tissue-specific Alkaline PhosphataseKAZUYUKI HIRANO, YUICHI IIZUMI, MAMORU SUGIURA,
JUN MIYAZAKI*, KAZUMASA MIKI*, SHIRO IINO*,
HIROSHI SUZUKI*, TOSHITSUGU ODA***ヒト臓器アルカリフォスファターゼの構造に関する検討**平野和行, 飯泉祐一, 杉浦 衛, 宮崎 純*, 三木一正*, 飯野四郎*,
鈴木 宏*, 織田敏次*

ヒト臓器アルカリフォスファターゼ (Alp) の酵素学的検討は, 多数報告されている。しかしながら, それらの構造については, 未だ検討されていない。そこで, ヒト肝臓, 胎盤, 小腸, 胎児便 Alp の構造的差異について検討した。その結果, いずれの酵素も酸性アミノ酸を多く含有し, とくに, 胎盤および小腸 Alp のアミノ酸組成は類似していた。また, それぞれの酵素 1 分子当たり, 4,4,4,2g 原子の Zn を含み, シアル酸は, 肝臓, 胎盤, 胎児便 Alp に検出されたが, 小腸 Alp では検出されなかった。小腸および胎児便 Alp の N 末端アミノ酸残基は phenylalanine であり, 胎盤 Alp は, isoleucine, 肝臓 Alp は leucine であった。また, peptide map pattern において, 胎盤, 小腸, 胎児便 Alp は類似しており, ³²P でラベルされた活性中心 peptide は, いずれの酵素においても同局動度を示した。免疫学的には, 胎盤, 小腸, 胎児便 Alp に一部共通抗原を有することが明確となり, ヒト Alp は, 肝臓, 胎盤, 小腸様 Alp の 3 つの isoenzyme に分類され, 3 種の遺伝子によってその生成がなされているものと考えられた。

* 東京大学医学部 酵素剤の研究第 186 報