

[Mol. Cell. Biochem., 60, 183 (1984)]

Enzymatic Activity of Metal-binding Proteins in Epidermal Cells

YOSHIMASA ITO, KIMIE FUKUYAMA*, NOBORU HORIE*,
WILLIAM L. EPSTEIN*

表皮細胞中の金属結合性タンパク質の酵素活性

伊藤吉将, 服山公江*, 堀江 昇*, WILLIAM L. EPSTEIN*

ラット表皮中の金属結合性タンパク質の酵素活性について検索した。トリス-塩酸緩衝液可溶性および KSCN 可溶化タンパク質を生後 2 日目のラット表皮の顆粒および角質細胞画分より段階的に抽出した。両抽出画分は Cu^{2+} および Zn^{2+} キレート Sepharose 6B に添加, 吸着後, pH の異なる緩衝液にて溶出し, 最終的にカラムに吸着したタンパク質は EDTA 溶液にて溶出させた。金属結合性タンパク質は上記の 2 画分のいずれにも検出され, とくに後者の画分における含量の高いことが確認された。トリス-塩酸緩衝液抽出画分のヒスタダーゼは Cu^{2+} キレート結合性タンパク質に認められたが, Zn^{2+} キレート画分には存在しなかった。KSCN 可溶化金属キレート結合性タンパク質画分においてはプラスミノゲンアクチベーター, 酸性フォスファターゼ, ゲラチンおよびカゼイン加水分解酵素が検出されたが, ヒストン加水分解活性は認められなかった。これら金属結合性タンパク質は表皮細胞中のヒスチジンおよびシステイン高含有タンパク質と同じケラトヒアリン顆粒中に分布することから, これら酵素タンパクは金属や構造タンパク質と密接な関係をもち, 表皮細胞の機能を制御しているものと考えられる。

* カリフォルニア大学サンフランシスコ校

[Comp. Biochem. Physiol., 77B, 349 (1984)]

Detection and Characterization of Epidermal Proteinases by Polyacrylamide Gel Electrophoresis

NOBORU HORIE*, KIMIE FUKUYAMA*, YOSHIMASA ITO,
WILLIAM L. EPSTEIN*

ポリアクリルアミド電気泳動による表皮プロテイナーゼの検出とその諸性質

堀江 昇*, 服山公江*, 伊藤吉将, WILLIAM L. EPSTEIN*

プロテイナーゼ基質である α -カゼインまたはゲラチンと共重合させた SDS ポリアクリルアミドゲルを用いて生後 2 日目のラット角質細胞抽出液を電気泳動させた。本法は表皮抽出液を上記ゲルを用い直接電気泳動後, SDS をトリトン X-100 溶液で完全に置換させ, プロテイナーゼのタンパク構造を回復させる。さらに, このゲルを緩衝液中で反応後, トリクロル酢酸で固定し, プロテイナーゼによる加水分解を受けていないタンパク質の染色を行うものである。この方法でプロテイナーゼ活性を有する部位は無色透明なバンドとして検出された。表皮のトリス-塩酸緩衝液可溶性およびチオシアン酸カリウム可溶化タンパク質画分のいずれも上記 2 基質を加水分解した。プラスミノゲンアクチベーター活性はチオシアン酸カリウム画分のみ認められ, その分子量は 57K と 50K であった。また本法を用いて至適 pH, 基質特異性, DFP 感受性, プラスミノゲン依存性等の異なるプロテイナーゼの検出ができた。本法は非常に簡便であるため部分精製皮膚抽出液中の種々のプロテイナーゼの構成成分を一度に確認できる利点がある。

* カリフォルニア大学サンフランシスコ校