

〔J. Biochem., 96, 1 (1984)〕

A Fluorometric Method for Dipeptidase Activity Measurement in Urine, Using L-Alanyl-L-Alanine as Substrate

YOSHIMASA ITO, YOSHIHITO WATANABE, KAZUYUKI HIRANO,
MAMORU SUGIURA, SHUNJI SAWAKI*, TARO OGISO**

L-アラニル-L-アラニンを基質とした尿中ジペプチダーゼ活性の蛍光測定法

伊藤吉将, 渡辺義人, 平野和行, 杉浦 衛, 沢木俣二*, 小木曾太郎**

尿中ジペプチダーゼの新活性測定法を確立し, 腎疾患診断への応用を試みた。本法の原理は, L-アラニル-L-アラニンを基質とし, ジペプチダーゼの作用により産生させたL-アラニンをL-アラニンデヒドロゲナーゼ-ジアゾフォラーゼ系と共役させてレサズリンを還元し, 最終的に産生されるレゾルフィンに蛍光測定するものである。本法は尿中に存在する多くの還元物質およびその他の物質による影響を受けにくいので, 透析尿を用いなくてもジペプチダーゼ活性の測定が可能であった。本法によるヒト尿中ジペプチダーゼ活性測定の結果, 腎疾患患者, とくに慢性腎炎, 急性腎炎, ネフローゼ症候群において高値を示した。尿中のL-アラニル-L-アラニンを基質とした酵素活性はL-ロイシル-L-ロイシンを基質とした場合の酵素活性と高い相関性 ($r=0.969$) を示した。ディスク電気泳動において慢性腎炎患者尿中ジペプチダーゼの活性バンドは, ヒト腎臓ジペプチダーゼと同じ易動度を示した。さらに同じ患者尿は, 抗ヒト腎臓ジペプチダーゼ抗体を用いたゲル内沈降反応を行ったところ, ジペプチダーゼFおよびSの両者とも完全に融合する沈降線を示したことから, 尿中に遊出するジペプチダーゼは腎臓由来であることが判明した。

* 愛知医科大学第1内科 ** 近畿大学薬学部

〔J. Invest. Dermatol., 83, 265 (1984)〕

Purification and Properties of Aminoendopeptidase from Rat Epidermis

YOSHIMASA ITO, KIMIE FUKUYAMA*, KAZUO YABE*,
WILLIAM L. EPSTEIN*

ラット表皮のアミノエンドペプチダーゼの精製と諸性質

伊藤吉将, 服山公江*, 矢部和夫*, WILLIAM L. EPSTEIN*

生後2日目のラット表皮から硫酸分画, DE-52, Sephadex G-200, CM-52, DEAE-Sephadex 6B カラムクロマトグラフィーによりアミノエンドペプチダーゼを精製した。本酵素は還元SH化合物の存在時のみ活性を発現し, さらに5mM EDTAにて最大に活性化された。SH修飾試薬および0-フェナンスロリンは本酵素の強力な阻害剤であった。このペプチダーゼの分子量は約40万, サブユニット分子量約5.2万から成る8量体で, 等電点はpH 5.25に有していた。合成基質のうちでL-ロイシナムイドに対する加水分解活性が最大であり, エンドペプチダーゼ基質のN- α -benzoyl-DL-arginine-2-naphthylamide およびエキソペプチダーゼ基質のL-amino acid 2-naphthylamide類を良く加水分解した。エンドペプチダーゼ基質が本酵素のエキソペプチダーゼ活性を競合的に阻害したことより, 本酵素の両ペプチダーゼ活性は同一活性中心において行われていることが示唆された。

* カリフォルニア大学サンフランシスコ校