

-116- セルロースアセテート膜電気泳動及び薄層
クロマトスキャナーの利用による Hypoxanthine-
Guanine 及び Adenine phosphoribosyl-transferase
活性測定

久大 医化学

○古賀英昭, 木下正教, 小倉良平

久大 RI 研究施設

梅崎典良

Hypoxanthine-Guanine phosphoribosyltransferase は生下時より高尿酸血症をきたし、特異な臨床症状で知られる Lesch Nyhan 症候群の際に、先天的に欠損した酵素として知られており、本疾患の診断上重要なポイントとなる。又痛風においても本酵素活性の検索が行われている。この様な臨床面での重要性の他に、核酸の Purine salvage 合成酵素として、核酸代謝の研究の上で Adenine phosphoribosyltransferase と共に注目されている酵素である。本酵素活性は低いのでアイソトープラベルの基質を用いる必要があるが、更に基質の nucleotide と生成物の nucleoside, base を分離する必要がある。従来の方法はこれらの分離が満足でなく、又特殊な装置と時間を必要とする難点があった。今回我々が発表する方法は、木崎らの方法を modify したもので、Hypoxanthine, Guanine, Adenine-8-¹⁴C をそれぞれ基質にして 45 μ l の反応液中で酵素を反応させ、反応後 10 μ l をセルロースアセテート膜上にスポットし、2種類の緩衝液で泳動を行った後、これを薄層クロマトグラフィー用スキャナー (Aloka, Model TLC-101) を使用して各ピークを検出測定するものである。この方法は生成物が基質に比べ非常に少ない場合や正確性にやや難点があるが、臨床におけるスクリーニングとしては簡便、迅速に行える点で非常にすぐれている。又 Biopsy などの微量な試料からも測定が可能であり、たとえば表皮については湿重量 10 mg で十分であった。