

## 10・5 単一細胞を用いたライソゾーム酵素活性の新しい測定法

大阪大学医学部

藪内 百治  
岡田 伸太郎  
加藤 伴親  
豊 徹

### ま え が き

遺伝性代謝異常症の診断にあたっての正確な酵素活性測定の必要性については今さら言うまでもない。とくに、材料として用いられる酵素源が純粹の単一組織ないし単一細胞であるほうが望ましい。

### 研 究 目 的

診断の精度を向上させ、出生前診断をより容易にする目的で、単一細胞を用いた酵素活性の測定法を開発する。

### 研 究 方 法

健常人および種々のライソゾーム酵素異常症患者からえられた培養皮膚せんい芽細胞を材料として用いた。

酵素測定法としては、基質に4-メチルウンベリフェロンの糖質化合物を用い、クエン酸・リン酸緩衝液中で反応を起させ、遊離される4-メチルウンベリフェロンをLDC製の蛍光モニターで読みとった。

反応をマイクロ化するために、細胞を数少なく附着させたファルコン・ディッシュの上に、注射針を切り離して作ったプラスチック筒を立て、その中で反応を進行させた。(図1) A→B→C

### 研 究 成 果

図2に、主なライソゾーム酵素の単一培養細胞中の活性を示した。この方法が、安定した活性値がえられる、信頼できるものであることを示している。た

だし、 $\beta$ -グルコシダーゼについては、活性が低いために信頼度はやや低くなると考えられる。

## 考 察

すでに Hosli や Galjaard などが、単一細胞の酵素活性測定法を発表しているが、いずれも特殊な器具が必要である点が不便である。われわれの方法は通常用いられている器具を利用して簡単に施行できる点が特長といえる。この方法は前記のように羊水細胞を用いた出生前診断のほか、融合細胞の研究や、伴性遺伝の保因者における研究にも応用することが可能である。ただ、分裂増殖する細胞の時期のずれの問題や、長時間の反応のあいだの反応液の蒸発乾燥の問題、あるいは細菌の混入などの点が今後解決されねばならない。

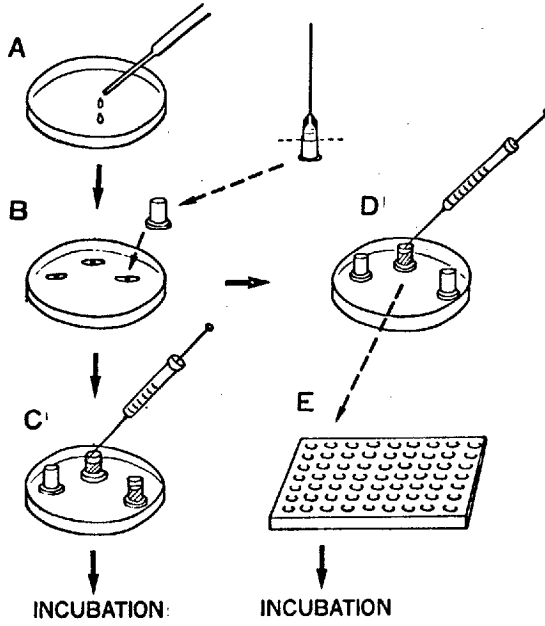
## 要 約

ファルコンディッシュ上に注射針から作ったウエルをおき、密閉して 4 MU-化合物を基質として反応させて、単一の培養皮膚線維芽細胞のライソゾーム酵素活性を測定する方法を開発した。蛍光モニターで 4 MU を測定すれば活性の測定が可能であり、この方法によれば単一細胞の  $\beta$ -hexosaminidase,  $\beta$ -galactosidase, および  $\beta$ -glucuronidase 活性の測定が可能である。

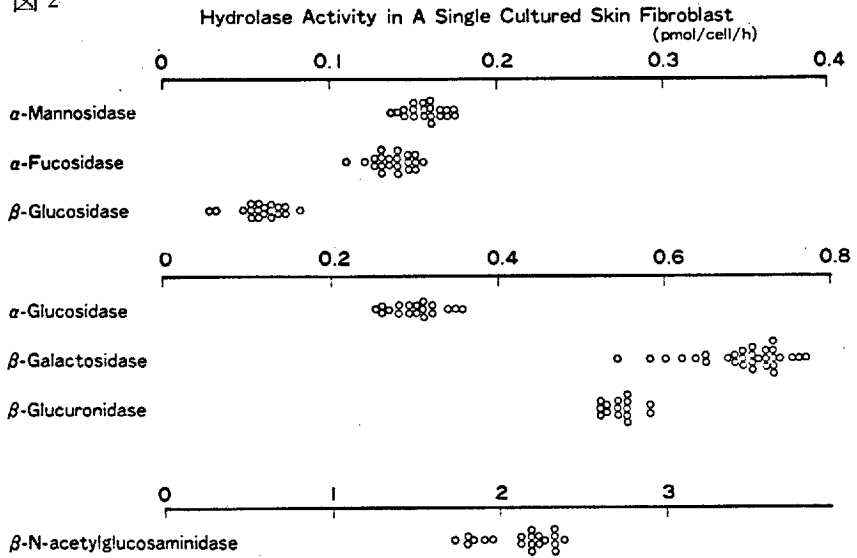
## 文 献

Okada S, Kato T, Yutaka T, Yabuuchi H : A Simple Method of Lysosomal Hydrolase Assay in a Single Somatic Cell and Its Application. Submitted to Clin Chim Acta, 1979.

☒ 1



☒ 2



↓ **検索用テキスト** OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓  
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

まえがき

遺伝性代謝異常症の診断にあたっての正確な酵素活性測定の実必要性については今さら言うまでもない。とくに、材料として用いられる酵素源が純粋の単一組織ないし単一細胞であるほうが望ましい。