

動物筋肉組織中の蛋白加水分解酵素について

渡辺, 敬
九州大学農学部

<https://doi.org/10.15017/21416>

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 16 (1), pp.81-84, 1957-03. 九州大学農学部
バージョン :
権利関係 :

動物筋肉組織中の蛋白加水分解酵素 について

渡 辺 敬

On the proteases being in animal muscle tissue.

Takashi Watanabe

動物組織中の蛋白加水分解酵素は組織の蛋白代謝に関係があるとして、多く研究されているが、筋肉組織中の蛋白加水分解酵素については兔の横紋筋について知られているが¹⁾、昆虫については殆んど検討されていない²⁾。ここでは蚕の筋肉組織の蛋白加水分解作用を兔のそれと比較しつつ検討した。

実 験

1) 蛋白加水分解活性測定. 主に Anson 法³⁾ を基本とした方法で行った. 基質としては、酸性側では N/10 クエン酸ソーダ-塩酸緩衝液 (pH 1.0~3.3) 及び N/10 醋酸塩緩衝液 (pH 3.2~6.2) のヘモグロビン 2.5% 溶液, アルカリ側は N/5 磷酸塩緩衝液 (pH 6.8~8.0) 及び N/10 磷酸カリ-硼砂緩衝液 (pH 8.0~9.2) のカゼイン 2.5% 溶液を用いた. 基質溶液 1 ml と酵素溶液 1 ml を混じ、一定温度にて 5 時間保温し、0.4 M トリクロル醋酸 2 ml を加え、その濾液 1 ml に 0.4 M Na_2CO_3 溶液 5 ml 及び Folin 試薬 (原液 5 倍希釈) 1 ml を加え、35°C にて 20 分温め、光電比色計にて 660 m μ のフィルターを用い、蒸留水に対して比色した. 呈色が阻害されて上記の方法が用いられぬ場合にはトリクロル醋酸による除蛋白後の濾液の 280 m μ における吸収を光電光度計で測るか、又は前記濾液の全窒素と基質の全窒素との比で活性を測った. いづれも試験値より盲検値を減じて活性値とした.

2) 酵素標品調製. 成熟した兔を放血致死せしめ、脊部及び前・後肢部の横紋筋を取り、脂肪組織を除いたもの、及び 5 令 7 乃至 8 日目の蚕の皮膚に附着している筋肉組織から種々の腺や消化管を除き、水洗して体液を除いたものを用いた. 抽出液としては、(1) N/10 硫酸溶液、(2) 0.2 M 塩化カリを含む N/5 磷酸塩緩衝液 (pH 6.9)、(3) 1 M 塩化カリを含む N/5 磷酸塩緩衝液 (pH 8.0) を用いて、図 1 の如き抽出法により得たアルブミン及びグロブリンについて、その蛋白加水分解活性を調べた. その結果、凡てのアルブミンは全く活性を有せず、酸抽出及びアルカリ性磷酸塩緩衝液抽出グロブリンは中性磷酸塩抽出グロブリンに比し、はるかに活性が低いので、以下 0.2 M 塩化カリを含む N/5 磷酸塩緩衝液 (pH 6.9) 抽出グロブリンを酵素標品として用いた.

結 果

1) 最適温度は 35°C であつた.

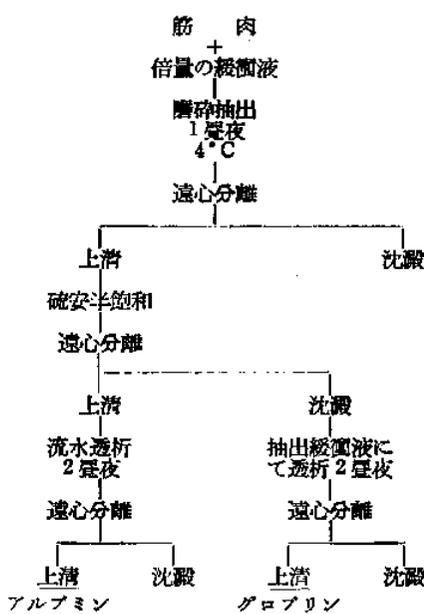


図 1.

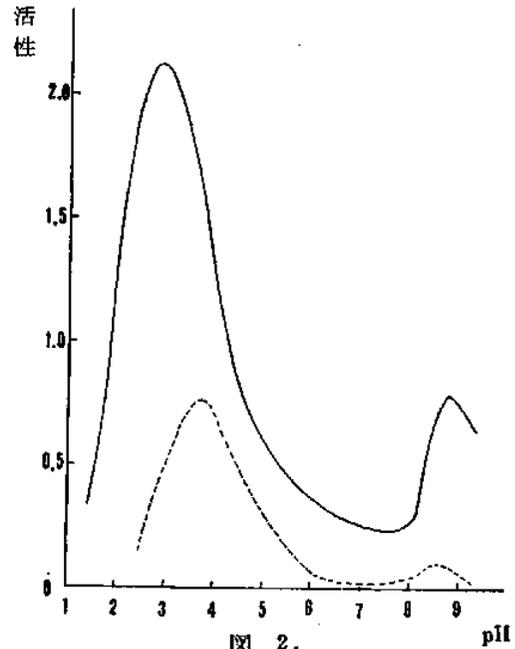


図 2.

2) pH による変化. 図2に上記酵素の蛋白加水分解活性に対する pH の影響を標示した. 用いた緩衝液は活性測定の項に述べたものである.

兎酵素標品についての活性曲線の酸性側最適域の部分は Snoke and Neurath の得た曲線¹⁾とよく一致する. 兎酵素標品は pH 3.8 及び 8.3 附近に, 蚕酵素標品は pH 3.0 及び 8.8 附近にそれぞれ活性の最適域を有している.

3) 阻害. 上記酵素の性質を知るため阻害剤として青酸カリ及びモノヨード醋酸を用いて活性に対する影響を調べた結果を表1に記した. 青酸イオンに対しては兎酵素標品の活性が減ずるに反して, 蚕酵素標品ではその活性が増大する. モノヨード醋酸イオンに対しては, 双方とも阻害をうける.

表 1.

CN⁻濃度 0.6×10^{-4} g 当量/ml

	兎標品 pH 3.8	蚕標品
添加活性	0.15	2.4
無添加活性	0.73	2.1
比 (無添加 = 100)	21	114

CH₃ICOO⁻濃度 0.6×10^{-3} g 当量/ml

	兎標品	蚕標品
添加活性	0.31	1.2
無添加活性	0.73	2.1
比 (無添加 = 100)	42	60

考 察

兎酵素標品の活性と蚕酵素標品のそれとを比較すると、同一処理後の単位蛋白態酵素当りの活性が蚕標品は兎標品の約3倍あり、このことは組織蛋白中の存在の濃度が大きいことか、又は抽出されやすいことを示していると思われる。

組織内蛋白加水分解酵素は普通、カタプシンと呼ばれ、多くの *proteinases* 及び *peptidases* を総括的に称しているものとされている。本報告の場合に2つの標品が共に2つの最適域を有していることはいづれの標品も数個の蛋白加水分解酵素の混合物であることを示しているものと思われる。Hedin⁵⁾は脾中に2つの酵素を認め、その1つは約 pH 4 に、他は pH 7-8 に最適域を有すると述べている。筋肉の場合にも酸性側、アルカリ側に各々1つの最適域を有していることは組織内蛋白加水分解酵素の類似性を表していると考えられる。兎及び蚕標品で各最適域 pH が異つているのは、種的差異によるか或いは種々の条件による綜合作用の結果のためであるかは単一酵素標品を分離していないので不明である。

シアンイオンに対する挙動から、蚕標品は SH 基を有する酵素と考えられるが、兎標品の場合の阻害についての説明は未だ行い得ない。

要 約

兎及び蚕筋肉組織を中性緩衝液で抽出し得たグロブリン区分に蛋白加水分解活性を認め、蚕標品の場合には pH 3.0 及び 8.8 附近に最適域を有し最適温度は 35°C であつた。シアン及びモノヨード醋酸による影響から、蚕標品は SH 基を有する蛋白加水分解酵素を含むことを認めた。

附記：本研究に対して御教示を戴いた渡辺忠雄、林勝哉氏に謹んで感謝致します。

文 献

- 1) J. E. Snoke and H. Neurath: *J. Biol. Chem.*, **187**, 127 (1950).
- 2) 吉原典子: 九大農学部学芸雑誌, **14**, 537 (1954).
- 3) M. L. Anson: *J. Gen. Physiol.*, **22**, 79 (1939).
- 4) 萩原: 標準生化学実験, p. 207 (1953).
- 5) S. G. Hedin: *J. Physiol.*, **30**, 155 (1904).

Summary

It was found that globulin fractions had extracted muscle tissues of rabbit and of silkworm by neutral buffer had proteolytic activity; there are optimum regions at pH 3.0 and 8.8 in the use of silkworm preparation and at pH 3.8 and 8.3 in the use of rabbit preparation. These optimum temperature are 35°C in either preparation.

It was concluded that silkworm preparation contained a protease with SH group from effects for cyanate and moniodoacetate.