

Title	ダイズBowman-Birkプロティナーゼインヒビターの構造と阻害活性に関する研究
Author(s)	小谷, 昌司
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1029
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

[23]

氏名・(本籍)	お	たに	しょう	じ	
	小	谷	昌	司	
学位の種類	理	学	博	士	
学位記番号	第	2916	号		
学位授与の日付	昭和48年9月20日				
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当				
学位論文題目	ダイズBowman-Birkプロテイナーゼインヒビターの構造と阻害活性に関する研究				
論文審査委員	(主査)				
	教授	成田	耕造		
	(副査)				
	教授	松島	祥夫	教授	鈴木 友二
	教授	松原	央		

論文内容の要旨

蛋白質分解酵素の活性を阻害する蛋白質が広く植物の組織、特にマメ科植物の種子に、見出されている。ダイズのBowman-Birkインヒビターはこの様な蛋白質の一種であるが、トリプシンとキモトリプシンとを同時に阻害する点、また、20%にも及ぶシスチン含量をもち、グリシンを全く含まない点で、極めて特異なものと云える。この蛋白質の構造と機能を明らかにする為、まず還元アルキル化したものをトリプシン消化し、得られたペプチドの一次構造を決めた。これらのペプチドは、もとの蛋白の限定酵素分解と化学的手法による断片化により、その分子中での配列を決め、インヒビターの全一次構造を決定した。

更に、二つのプロテイナーゼに対する阻害活性部位を、これらの酵素による、活性部位ペプチド結合の特異的切断の現象を応用して同定した。

また分子中7箇所存在するS-S結合を、もとの蛋白を種々のプロテイナーゼで消化したり、硫酸で分解し、得られたシスチンペプチドの構造を決定することにより、同定した。

以上の結果、このインヒビター分子中には2つの活性部位周辺に著しいアミノ酸配列の繰返しが存在すること、更に、この分子が、殆んど同一の構造をもつ2つの阻害活性部位を含む部分が互いに2本のポリペプチド鎖で結び合された構造をもつことが明らかになり、その構造と特異な機能とが密接に対応していることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

ダイズ中には、Knitzにより分離されたトリプシン活性を阻害するタンパク質の他に、Bowmanによって各種のトリプシン活性阻害タンパク質が分離され、Birkはこのものはキモトリプシンも同時に阻害することを報告した。小谷君はこのいわゆるBowman-Birkプロテイナーゼインヒビターの構造と阻害反応機構の相関性を解明することを計画した。Bowman-Birkインヒビターは比格的低分子量で、1分子中に71個のアミノ酸が含有されることを明らかにし、ついで構成全アミノ酸の分子中における配列順序を決定した。この一次構造の決定は、インヒビター中に存在するSS結合を還元後カルボキシメチル化し、このものにトリプシンを作用させてえられるペプチドをそれぞれ分離、トリプシンペプチドの構造は常法に従って決定するというところから始めた。10種のトリプシンペプチドのポリペプチド鎖中における配列順序は、このインヒビターに触媒量のキモトリプシンを酸性で作用させ、キモトリプシン阻害活性中心に存在する-Lcu-Ser-結合のみを切断するという事実を利用し、さらにこれを還元アルキル化して2断片に分離し、その1断片中に1個含まれるメチオニル結合をCNBrで切断し、合計3個の断片を分離し、これらの構造解析結果から全一次構造を決定した。

Bowman-Birkインヒビターの構成アミノ酸の約20%はシステイン残基であり、分子中ではこれらがSS結合を形成しているので、分子中におけるSS架橋の位置決定は可成りの困難さをともなうことが予想された。小谷君はシスチン含有ペプチドの検出法を確立し、これを用いてインヒビターのプロテアーゼ消化物中のシスチン含有ペプチドを要領良く分離してその構造を解明し、Bowman-Birkインヒビターの全共有結合構造を決定した。

上述の研究結果、インヒビター分子はほぼ対称的な2部分から構成され、片方にトリプシン活性阻害部位が、他方にキモトリプシン活性阻害部位が存在し、立体構造的にも1分子のインヒビターにトリプシンとキモトリプシンが同時に結合して阻害されうることを明らかにした。さらにこれら2区分を有機化学的手段と酵素化学的手段の並用によって分離することを試み、1分子のインヒビターを2断片にすることに成功した。さらに、この断片の一方にはトリプシン阻害活性が、他方の断片にはキモトリプシン阻害活性が存在することを証明し、極めて興味ある結果をえた。

上述の小谷君の研究結果は、タンパク性プロテアーゼインヒビターの構造と阻害機構の解明に重要な貢献をなしたものであり、同君の論文は理学博士の学位論文として十分価値あるものと判定する。