Osaka University Knowledge Archive

Title	パパインの活性基に関する研究
Author(s)	増田, 高広
Citation	大阪大学, 1959, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28182
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【20】

氏名・(本籍)	増田高広（ますだたかひろ）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 26 号
学位授与の日付	第和34年3月25日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**パパインの活性基に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 奥貫 一男 (副査) 教授 赤堀 四郎 教授 二国 二郎 教授 伊勢村寿三

論文内容の要旨

従来，パパインの活性基については，大別して，SH 基説と CHO 基説があった。この両説は互いに独立した立場から立てられており，両説の間の矛盾，一致点などは考慮されていなかった。

ことに，NH_2OH, Phenylhydrazine などのアルデヒド試薬の阻害から—CHO 基を推定している後者に対して，NH_2OH と合成基質の存在下で Hydroxamic acid が生成することが報告されている。この際，NH_2OH の阻害は全くみとめられていない。

この事実は —CHO 説を支持する事実と明らかに矛盾しているけれども，実験条件が互いにかなり違っているからそれが原因していることも十分考えられる。ことに酵素の活性化条件は，最も有力な原因となる可能性が大きい。

本研究では，両説の間の矛盾を解明するため，種々の活性化剤によって活性化された結晶パパインに対する，阻害剤の影響を詳しく検討することが試みられた。その結果は次の様である。

1. 未処理パパイン，CN活性化パパイン，および Hg パパインは NH_2OH, Phenylhydrazine, $NaHSO_3$, Semicarbazide によって阻害される。

2. システイン活性化パパイン，チオグリコール酸活性化パパイン，H_2S 活性化パパインは上の試薬による阻害をほとんどうけない。また一度阻害をうけた酵素は，システイン，チオグリコール酸，CN^- などで恢復しない。

3. Hg パパインの Phenylhydrazine による阻害の場合，Hg の遊離はみとめられなかった。先にのべた，NH_2OH 阻害の問題は一方が未処理パパイン及びCN活性化パパインを用い，他方がシステイン活性化パパインを用いているから，NH_2OH に対する態度に違いが出たことも十分理解できる。

Aldehyde 試薬に対すると同様な結果が，DFP (Diisopropyl fluorophosphate) 阻害に対してもみられた。DFP 阻害は従来 Balls, Smith らによってパパインにはないものと報告されているが，CN 活性化

を行うと，Trypsin,Chymotrypsin などの場合と同じように顕著な阻害がみられた。

阻害をうけたパパインは未処理のパパインと同じ操作で結晶化される。結晶について，酵素1モルに対しほぼ1モルのPが存在することが知られた。

$NaHSO_3$ 阻害をうけた酵素は DFP により更に阻害される。阻害後，酵素蛋白中に約 0.6モルのPが見出された。

また CN^- による活性化と DFP 阻害が全く併行していることも確められた。

以上の結果から，—SH基と—CHO基が，パパインの活性中心部に共に存在し，しかも互いに空間的に影響しあう距離にあること，DFP が結合するのは $-\underset{\underset{CN}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\underline{\underline{OH}}$ の OH 基である可能性が大きいことなどが推定される。

論文の審査結果の要旨

増田君の論文「パパインの活性基に関する研究」は2編からなり，パパインおよびいろいろなパパイン誘導体にいろいろな阻害剤をはたらかせ，パパインの活性中心部構造に関する仮説を検討し，2つの活性基（SH基とCHO基）が空間的に影響しあう近接した位置にあることを結論したものである。

従来，パパインの活性基に関する仮説は大別してSH基説と CHO 基説とがあった。この両仮説はたがいに独立した立場から立てられたもので，両者間の矛盾，不一致点などに検討が加えられていなかった。例えばパパインがヒドロキシラミンやフェニールヒドラジンなどのアルデヒド試薬によって阻害をうけることから推論された CHO 基説に対して，合成基質がヒドロキシラミンの存在下でパパインの作用をうけてヒドロクザム酸を生成するさい，ヒドロキシラミンの阻害が全くみとめられない事実がある。これは CHO 基説を支持する事実と明らかに矛盾しているが，その原因は実験条件のちがいにある。ことに，酵素の活性化条件がもっとも大きな矛盾の原因となる可能性が想像されたので，増田君は両説の矛盾を解明するために本論文に示された諸実験をおこなった。その結果の主なものはつぎのようである。

1）未処理パパイン，CN—活性化パパインおよび Hg パパインはアルデヒド試薬によって阻害されるから，CHO 基が活性をあらわすために必要であるといえる。しかし

2）システイン活性化パパインをはじめチオグリコール酸や H_2S で活性化したパパインは，アルデヒド試薬によってほとんど阻害されない。したがってこれらの活性化パパインには CHO 基が消失しているか，または酵素活性に無関係になっていると考えられる。したがって CHO 基は酵素活性に本質的に関与するものではなく，活性中心部に位置するところから2次的に活性に影響をあたえるものなのだろう。

3）Hg パパインにフェニールヒドラジンを作用させ，システインで活性化したさい阻害がみられるが Hg の遊離は全くみとめられなかったから，SH 基以外の基（おそらく CHO 基）にフェニールヒドラジンが結合していると考えられる。

したがって，さきに例示したヒドロキシラミンによる阻害の有無は，一方は1）に示した活性化パパインを，他方は2）に示した活性化パパインを使用した実験結果であったことから，矛盾と思われたことも

活性化条件の差異による酵素の性質のちがいであると解釈できた。

4）このようなアルデヒド試薬に対するパパインの性質の差異は，蛋白分解酵素およびエステラーゼの阻害剤として周知のジイソプロピル・フルオロ燐酸（＝DFP）による阻害のばあいにもみとめられた。いままでパパインは DFP で阻害されないものであると信じられていたが，CN—活性化パパインには他の蛋白分解酵素で知られたと同様に顕著な阻害がみとめられた。のみならず，この阻害をうけたパパインは未処理パパインと同じ操作で斜方板晶となり，それには1分子のパパイン当り1原子の燐を結合することが知られた。また，亜硫酸塩で阻害されたパパインは，さらに DFP で阻害をうけることが知られたから，おそらく CHO 基が $-\underset{\underset{CN}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\underline{\underline{OH}}$ や $-\underset{\underset{SO_3Na}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\underline{\underline{OH}}$ となりそれらのOH基が DFP の結合するときに不可欠条件となるものと推定される。これに反し，システイン活性化パパインにはこのような OH基が活性中心部に生成しないためにDFPで阻害されないのであろう。

以上 2編の論文に示された実験結果から，パパインの活性中心部部分には 1）で示されたことからCHO基，2）で示されたことからSH基がともに存在し，しかも相互に近接してたがいに影響しあっていることが明らかにされ，いままで矛盾した仮説と思われていたものが明快に解釈されたのであるから，増田君の業績は蛋白分解酵素の作用機転に大きな貢献をもたらすものと信じられる。したがって同君は参考論文の知見とあわせ考え，理学博士の学位をうけるに十分な資格があると認められる。