



Title	食虫植物ウツボカズラとイシモチソウの消化酵素酸性プロテアーゼの性質
Author(s)	天ヶ瀬, 倭文子
Citation	大阪大学, 1971, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30410
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	あまがせしずこ 天ヶ瀬 倭文子
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 2291 号
学位授与の日付	昭和46年3月25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	食虫植物ウツボカズラとイシモチソウの消化酵素 酸性プロテアーゼの性質
論文審査委員	(主査) 教 授 吉川 秀男 (副査) 教 授 神谷 宣郎 教 授 今堀 宏三 教 授 成田 耕造

論 文 内 容 の 要 旨

Nepenthes (和名;ウツボカズラ)属及び *Drosera peltata* (和名;イシモチソウ)は、はいずれも食虫植物で、肥料分の乏しい酸性に傾いた土地に生育し、昆虫等の小動物を捕えて、消化吸收して栄養化する。

Nepenthes の分泌液中の蛋白消化酵素は、早くから研究され、pepsin類似の酵素といわれている。*Drosera peltata* のプロテアーゼに関する文献はまだ見当たらないが、同じく *Drosera* 科に属するモウセンゴケの栄養方法に関しては研究されて、強酸性で蛋白を分解する酵素の存在することが、報告されている。

本研究は、*Nepenthes* 属と *Drosera peltata* の消化液に含まれるプロテアーゼについて、その若干の性質を調べ、相互に比較したものである。

Nepenthes 捕虫袋中の分泌液を、ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法で調べた結果、少なくとも4本のプロテアーゼ活性泳動帯を検出したが、さらに、これらの酵素による、自然の消化作用を再現するために、無傷の蟻の死骸に対する消化作用を調べ、予期通り分解することを認めた。なお、*Drosera peltata* の粗酵素液でも、消化されるのを認めた。ここで蟻をえらんだのは、*Nepenthes* 捕虫袋中に多くの蟻が落ちこんでいるのを観察したからである。さらに、精製酵素でも行ったが、両酵素とも磨砕した蟻は消化し得るが、そのままの蟻を消化することはできなかった。これは、分泌液中に蟻をそのまま消化するのに重要な作用をもつ物質が存在すると考えられる。

Nepenthes プロテアーゼの精製は、分泌液をDEAE-Sephadex A-50カラムで、イオン交換クロマトグラフィーによって行った。この活性区分をSephadex G-200のカラムで、ゲル滲過したものを精製酵素とした。

Drosera peltata の場合は、その捕虫葉の約3倍量の水と、waring blenderで磨砕して搾汁を得た。この遠心上清を、Sephadex G-75で滲過して酵素活性部分を得て、これをポリエチレングリコールで

濃縮した後、Sephadex G-200 でゲル滲過を行った。

精製された両種のプロテアーゼは、ポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動的に均一であった。何れも最適pHがpH2~3で、40℃ではpH3以上で安定で、50℃特に、60℃では、pH5で最も安定であった。

酵素阻害剤、P-chloromercuribenzoate 及び di-isopropylfluorophosphate では、何れのプロテアーゼも阻害されなかった。このことは、一般の酸性プロテアーゼに似たもので、Hartly の分類の酸性プロテアーゼの範囲に入ると思われる。

Nepenthes のプロテアーゼについて、塩素イオンの影響を調べてみたが、活性に対して殆んど影響がなかった。しかし 10^{-2} M 塩素イオンでは、酵素活性は阻害された。

他方、両種の精製酵素について、構造既知ペプチドを基質として、アミノ酸残基に対する基質特異性を調べた。*Nepenthes* プロテアーゼに対しては、8ペプチド、*Drosera peltata* のプロテアーゼに対して6ペプチドで試みた結果、これらの酵素は、endopeptidaseであることを暗示し、何れのプロテアーゼもペプチド鎖中のアスパラギン酸残基に対して優先的に働くという性質をもっていた。このことから食虫植物のプロテアーゼは、強酸性で働くという点のみからみれば、従来の“pepsin like”という表現は、必ずしも不当ではないが、上記のように、未だ報告されたことのない基質特異性を持っている点で、極めてユニークなものであると考えられる。

論文の審査結果の要旨

天ヶ瀬君の論文は高等植物のうち、特異な生活を営む食虫植物 *Nepenthes* (ウツボカズラ) と *Drosera peltata* (イシモチソウ) について彼等がどのようにして昆虫の蛋白を消化分解し、利用するかを生理学および生化学的に追求したものである。

そのため先ずウツボカズラの捕虫袋の中の分泌液をポリアクリルアミドゲル薄層電気泳動法で調べたところ、少なくとも4本のプロテアーゼ活性帯を認めた。これらのプロテアーゼは何れも酸性で働くことがわかっていたので、供試材料として *Tetramorium caespitum* (シワアリ) の死体をそのままの状態、或は磨砕したものをを用いて消化作用を調べた結果、両者共分解されることがわかった。イシモチソウの粗抽出液についてもほぼ同様の結果が得られた。

ついで同君はウツボカズラの粗酵素を DEAE-Sephadex A 50 カラムでイオン交換クロマトグラフィーを行ない、更に Sephadex G-200 のカラムでゲル滲過を行ない精製を試みた。得られた精製プロテアーゼは薄層電気泳動法で検出された4本の活性帯の一つに相当していた。イシモチソウではその抽出液を Sephadex G-75 で滲過し、これをポリエチレングリコールで濃縮、更に Sephadex G-200 のカラムでゲル滲過を行なった。こうして得られた両種の精製プロテアーゼにつき、再びシワアリを用いて消化作用を調べたところ、死体そのものでは分解されなかったが、磨砕されたアリは消化された。このことは粗酵素の中に原形のアリを消化するに必要な酵素或は物質の存在を暗示するが、その機構については未だ明らかでない。

さらに同君は両種の精製酵素を用いカゼインを基質として生化学的な諸性質を調べている。それによると両種の精製プロテアーゼの最適pHは共に2~3で、また40℃ではpH3以上で安定、50℃以上特に60℃ではpH5で最も安定であった。また酵素阻害剤 P-chloromercuribenzoate および diisopro-

pylfluorophosphate の阻害効果を調べたが、その結果は陰性であった。一方クロールイオンについては高濃度の場合のみ阻害が認められた。以上のことから食虫植物のプロテアーゼはHartlyの分類による酸性プロテアーゼの範疇に属するものと考えられる。同君はさらに両種の精製酵素について構造既知のペプチド6~8種を用い切断部位に関し詳細な実験を行ない、これらのプロテアーゼがペプチド鎖中アスパラギン酸残基のN末端、或はC末端で切断し易いという特徴を見出している。

以上天ヶ瀬君の論文は食虫植物のプロテアーゼが材料入手の困難性から単にペプシン様のものであるという従来の報告に対し、最近の生化学的手技を用い多くの新知見を加えたものと考えられ、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。