



Title	ウシ・プロスロンビンの活性化機構
Author(s)	森田, 隆司
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31589
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

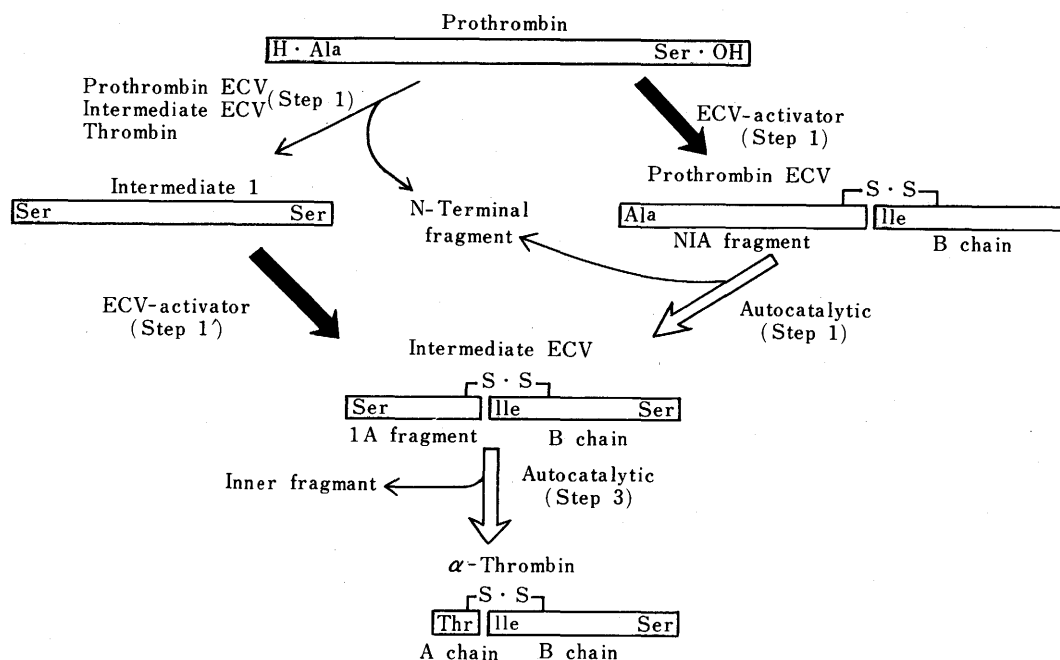
氏 名・(本籍)	森 ^{もり} 田 ^た 隆 ^{たか} 司 ^し
学 位 の 種 類	理 学 博 士
学 位 記 番 号	第 3 8 6 7 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	ウシ・プロスロンビンの活性化機構
論文審査委員	(主査) 教 授 藤井 節郎 (副査) 教 授 成田 耕造 教 授 倉橋 潔 助教授 岩永 貞昭

論 文 内 容 の 要 旨

〔Ⅰ〕第 X_a 因子による活性化機構：血液凝固系の重要な因子である prothrombin は、 X 因子の活性型 (X_a) によって活性化される。この活性化機構は 1972 年までは、殆ど未解決であった。そこで prothrombin を精製し、 X_a 因子を用いて活性化を行なった。その結果、prothrombin (MW.7.2 万) は中間体 1 (5 万) 及び中間体 2 (3.9 万) を経て α -thrombin (3.9 万) に活性化されることが判明した。またこの活性化に伴って 2 つの断片が遊離され、その単離と同定を行なうことにより、prothrombin の gross structure と切断部位を明らかにした。

〔Ⅱ〕Echis carinatus 毒の activator による活性化機構：ビタミン K 欠乏時に出現する異常 prothrombin は、 X_a では活性化されないが、Echis carinatus 毒では活性化されることが 1973 年に報告された。申請者はこの事実に興味を持ち、この蛇毒より prothrombin activator (ECV activator) を精製し、それによる活性化を試み、prothrombin の新しい活性化機構を見出した。すなわち、prothrombin に ECV activator を作用させると N 末断片と中間体 1 を生成した後、直ちに活性中間体 (中間体 ECV と命名) に変換した。中間体 ECV は prothrombin の C 末領域の thrombin A 鎖と B 鎖を連結する Arg-Ile が切断された 2 本鎖ポリペプチドからなるものであった。中間体 ECV は次いで自己触媒的に分解し、 α -thrombin を生成した。一方、prothrombin を hirudin 存在下で活性化したところ、上記のいずれの断片も生成しないまま、2 本鎖ポリペプチドの prothrombin 誘導体 (prothrombin ECV と命名) に変換した。この prothrombin ECV も活性中間体 ECV と同様に Arg-Ile 結合が 1 ケ所切断されたものであった。以上の結果は、ECV activator による prothrombin の活性化においては図に示すように、まず α -thrombin の A 鎖と B 鎖を連結する Arg-Ile に切断が起って prothrombin ECV を生

成し、次いで自己分解とともに活性中間体ECVが形成し、次いで自己触媒的に α -thrombinに移行することを示している。hirudinの不在下では、図の左側の過程も同時に進行するが、活性中間体を形成しつつ、 α -thrombinに活性化される機構は X_a によるものと全く異なるものである。



〔Ⅲ〕新しい活性中間体の酵素化学的性質：中間体ECVは α -thrombinと比較して基質特異性に著明な相違があった。特にTAME esterase活性が強いにも拘わらず、クロット活性が殆どないことは興味深い。また中間体ECVの活性はantithrombin Ⅲで完全に阻止され、SDS存在下でも解離し得ない複合体を形成した。prothrombin ECVもp-NPGBと化学量論的に反応することから、活性部位はすでに形成されていると推定した。

基 質	α -Thrombin	中間体 ECV
Fibrinogen (NIH unit/mg)	1,500-2,000	<50
BZ-Phe-Val-Arg-pNA(unit/mg)	36	3
TAME (unit/mg)	35-40	59

〔Ⅳ〕ECV activatorの単離とその性質：この酵素の性質は殆ど知られていない。粗毒よりこの酵素をdisc及びSDS-gel電気泳動的に単一な標品まで精製した。この酵素は分子量 55,000の1本鎖のポリペプチドからなる酸性糖蛋白質でprothrombinに対する K_m は 1×10^{-6} Mであった。DFPやSH試薬などで阻害されず、EDTA, o-phenanthroline, cysteine, 重金属で失活すること等より X_a (セリン酵素)と異なり金属酵素の一種である可能性が見い出された。

論文の審査結果の要旨

本研究はウシ・プロスロビンの第X_a因子, *Echis carinatus* 毒の activator および hirudin 存在下での活性化機序を検討したものである。プロスロンビン(MW 7.2万)は第X_a因子により中間体1(MW 5万)および中間体2(MW 3.9万)を経て, α -スロンビン(MW 3.9万)に活性化することおよび切断部位を明らかにした。

特に興味があるのは *Echis carinatus* (ECV) 毒の activator および hirudin 存在下での ECV·activator による活性化である。ECVではN-terminal fragmentと中間体1を生じ, 次いで中間体1の Arg-Ile 結合が切断され, 中間体ECVとなり, さらに α -スロンビンを生じた。Hirudin存在下での活性化では中間体1を生ずることなく, プロスロンビンの Agr-Ile 結合が切断され, プロスロンビンECVを生じ, 次いでN-terminal fragmentが遊離し, 中間体ECVを経て, α -スロンビンとなった。

この中間体ECVは活性化酵素であり, 従来報告がない。スロンビン同様に esterase 活性が強いにもかかわらず, 殆どクロット活性がない。この中間体ECVについて蛋白化学的およびその他の性質について詳細な酵素学的検討を行なっている。またECVの activator についても研究を行ない, 分子量 55,000 の1本鎖のペプチドであり, 金属酵素であることを明らかにした。

以上の研究は理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。