

# 琉球大学学術リポジトリ

[記事](研究発表会要旨)緑藻クロレラの菌体外プロテアーゼインヒビター

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 盛根, 信也, 石原, 昌信, 当山, 清善 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002017333">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002017333</a>

### 3. 緑藻クロレラの菌体外プロテアーゼインヒビター

琉球大・農・生物資源科学科 盛根信也, 石原昌信, 当山清善

**【目的】** 蛋白質やペプチド中のペプチド結合を加水分解する酵素はプロテアーゼと称され、活性基からセリンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ及びメタロプロテアーゼの4種に分類される。プロテアーゼは酵素前駆体の活性化、生理活性ペプチドの遊離及び分泌蛋白のプロセッシング等に深く関与しており、その活性はプロテアーゼインヒビターと称せられる阻害物質によって制御されているものと考えられる。動・植物及び微生物細胞から多数のプロテアーゼインヒビターが見いだされ、その特性が明らかにされているが藻類起源のプロテアーゼインヒビターに関する研究はこれまで全く行われていない。演者らは、緑藻クロレラが菌体内及び菌体外へプロテアーゼインヒビターを生産することを認め、菌体内インヒビターについては電気泳動的に均一に精製を行い、阻害特性からシステインプロテアーゼインヒビターであることを明らかにした。今回は、クロレラの培養濾液から菌体外インヒビターの精製を行い、インヒビターの諸性質について調べたので報告する。

**【方法・結果】** クロレラをグルコース・ペプトン培地を用いて30℃で96時間振とう培養して得られた培養濾液を濃縮後、10分間煮沸処理する事により粗インヒビターを調製した。インヒビター活性は、アゾアルブミン法を用いてパパイン活性の阻害程度から求め、パパイン活性を50%阻害するインヒビター量として表示した。インヒビターはDEAE-セルロース、及びSephacryl S-200カラムクロマトグラフィーを行うことにより、電気泳動的に均一に精製された。精製インヒビターは、広範囲のpH領域で安定であったが、アルカリ領域では、やや不安定であった。インヒビターを80℃以上で20分間加温処理すると完全に失活したが、酸性及び中性領域では80~100%の活性を保持していた。本インヒビターの分子量はSephacryl S-300を用いるゲル濾過法及びSDS-PAGE法で約28万と算出された。本インヒビターは、パパイン、キモパパインやフィシン等のシステインプロテアーゼに対して強い阻害活性を示したが、トリプシンにも作用することがわかった。パパインとインヒビターの結合比は1:1であった。