

【181】

氏名	佐 竹 正 年 さ たけ まさ とし
学位の種類	薬 学 博 士
学位記番号	薬 博 第 3 9 号
学位授与の日付	昭 和 3 9 年 1 2 月 2 2 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学位論文題目	蛇毒プロティナーゼの研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 鈴 木 友 二 教 授 山 科 郁 男 教 授 井 上 博 之

論 文 内 容 の 要 旨

蛇毒がプロティナーゼをもつことはかなりの報告があり、カゼインを水解し、ベンゾイルアルギニンエチルエステル (BAEE)、ベンゾイルアルギニンアミドを水解するのでトリプシン様酵素とされてきた。しかし粗毒のプロティナーゼ作用は複雑で、トリプシン作用のほか、コラゲナーゼ作用、血液凝固を行なうパイン様作用などが知られている。蛇毒の毒性の現れ方は多様であるが、プロティナーゼの特性をしらべることはこうした面からも注目に値する。著者は日本産、台湾産の蛇毒について、また基質特異性などは主として日本産マムシ毒からの分離酵素について研究を行ない、次の知見をえた。

(1) マムシ科、コブラ科10種の蛇毒について検討した結果、カゼイン、ヘモグロビンなど蛋白を水解する活性はマムシ科の蛇毒のみに見られ、コブラ科の蛇毒には見られなかった。

(2) BAEE などアミノ酸エステルを水解する酵素はプロティナーゼ (カゼイン水解活性) と異なる酵素であることが、i) 両者の活性比が各蛇毒で著しく異なること、ii) クロマトグラフで両活性が分離されてくること、iii) DFP 処理で BAEE 水解活性は完全に失活するが、カゼイン水解活性は影響をうけないことなどから明らかになった。

(3) コラゲナーゼ活性をアゾコラーゲン、Cbz-Gly-Pro-Leu-Gly-Pro で調べたが、両基質を共に水解する蛇毒が見られず、蛇毒にコラゲナーゼ活性はないと結論された。

(4) コブラ科蛇毒にはかなり強いペプチダーゼが存在する。このペプチダーゼはトリペプチド以上のものを水解し、ジペプチドには働かない。

(5) マムシ毒を DEAE-セルロースのカラムクロマトグラフで分画する方法により3種のプロティナーゼがえられ、これらをプロティナーゼ a, b, c と名づけた。分画されたプロティナーゼは BAEE 水解活性が極めて弱く、また血液凝固活性をもたない。

(6) マムシ毒プロティナーゼの至適 pH は a で 10.5, b で 9.8, c で 8.9 である。耐熱性は a, b, c の順に低くなる。Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ は酵素を活性化するが、他の2価金属は阻害を示し、Hg⁺⁺, Cd⁺⁺ の阻

害が著るしい。EDTA, システインは強い阻害を示し、とくにシステインによるプロティナーゼCの失活は特異的である。

(7) a, b, c 三つのプロティナーゼで酸化インシュリン B 鎖を水解し、水解位置を調べた。プロティナーゼ a は Ser-His および Ala-Leu の結合を、プロティナーゼ b は His-Leu, Ser-His, Ala-Leu および Gly-Phe の結合を、またプロティナーゼ c は His-Leu, Ala-Leu および Gly-Phe の結合を水解し、3者の特異性が異っている。3者の特異性がいずれもかなり狭く、水解する結合に共通性のあることが注目される。

(8) 日本ハブ毒からプロティナーゼ1種を分画してインシュリン B 鎖に働かせ His-Leu, Ala-Leu の結合を水解することがわかった。この結果からマムシ毒プロティナーゼ相互間だけでなく、近縁蛇毒である日本ハブ毒のプロティナーゼとも特異性の似ていることが知られる。

論文審査の結果の要旨

マムシ科蛇毒に特異的にふくまれるプロティナーゼは蛇毒の毒性と関係が深く、マムシ科の毒でベンゾイルアルギニンエステルが水解されることから従来トリプシン様の酵素とされてきた。

著者は約10種の蛇毒を用いて、プロティナーゼとベンゾイルアルギニンエステルを水解する酵素とは別のものであることを明らかにするとともに、マムシ毒からプロティナーゼ3種を分離し、それらの基質特異性を明らかにした。その結果、蛇毒プロティナーゼは従来知られている動物、微生物のプロティナーゼと性格のちがう特異なものであったが、こうした知見は蛇毒の毒性を考える上にも寄与することが大きく、本論文は学術上有益で、薬学博士の学位論文として価値あるものと認定する。