

氏 名	里 内 清 さと うち きよし
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	農 博 第 257 号
学位授与の日付	昭 和 52 年 5 月 23 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	農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
学位論文題目	STUDIES ON THE LIPASE INHIBITING PROTEIN IN SOYBEAN SEEDS (大豆種実中のリパーゼ活性阻害タンパク質に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 松下雪郎 教授 秦 忠 夫 教授 千葉英雄

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は大豆種実よりの抽出液中にリパーゼ活性を阻害するタンパク質性の因子が含まれることを見出し、これを精製し、活性阻害の機構について検討した結果についてまとめたものである。

著者は大豆には20パーセント以上の脂質が含まれるにもかかわらずリパーゼ活性が検出されないことから、大豆抽出液中にリパーゼ活性を阻害する因子の存在を推定し、追究の結果、ブタすい臓リパーゼに対する阻害因子の存在を確認することに成功した。本因子は非透析性で、活性の大部分は30～50パーセント硫酸飽和画分に見い出され、100°C、10分間の熱処理あるいはプロナーゼ処理によってその阻害活性を失うことからタンパク質性のものであることを示した。本因子は他の動・植・微生物起源の種々のリパーゼ活性に対しても同じく阻害を示したが、リパーゼ以外の加水分解酵素活性に対しては影響を与えなかった。なおリパーゼの基質としては種々の植物油エマルジョンを用いた場合でも、トリブチリン、トリアセチンなどの短鎖脂肪酸トリグリセリドを用いた場合でも、本因子によるリパーゼ活性の阻害が認められた。

本因子をセファデックス G—150、DEAE セルロースカラムで精製し、活性を示す3分画を得た。そのうちの1画分はさらに焦点電気泳動で精製し、ディスク電気泳動で単一のバンドの標品とした。そのタンパク質は等電点 pH 5.75、分子量77,000のものであった。それは pH 6.5～9.5 の範囲で安定で、50°C 10分間の加熱処理で失活したが、リパーゼの基質エマルジョンの共存下ではその活性が保持された。またプロナーゼ処理によっても失活したが、同様に基質存在下では安定化されるなどの性質を示した。

なおこの阻害は、本因子とリパーゼを、または本因子とリパーゼの基質とをあらかじめインキュベートしたのち、それぞれ基質あるいはリパーゼを添加して反応を開始するとき、後者のほうがより効果的であった。これは本因子が基質エマルジョンに対して親和性の高いことを示唆するものである。また本阻害はリパーゼの基質の調製法により異なり、超音波処理によるエマルジョンは攪拌法によるエマルジ

ジョンに比べ阻害の程度が低く、これにトコフェロールを添加すると阻害が顕著となり、また基質の量を減らし本阻害因子の量を増すときはじゅうぶん阻害が見られた。これらの事実から、本因子によるリパーゼ活性の阻害は、本因子とリパーゼタンパク質との反応によるよりは、本因子と基質との相互作用に基づくものと考えられ、その阻害度は本因子と基質エマルジョンの有効界面面積との量的関係によって決まるものと考えられた。すなわち、本因子は基質エマルジョンに作用して界面面積を減少せしめる性質を有するタンパク質であることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

大豆は20パーセントを越す脂質を含み、食用油脂原料として重要なものであるが、種実にとってはその脂質は発芽にそなえての貯蔵エネルギーとなるものであり、事実発芽に際してその量は減少する。その際リパーゼが働くはずであるが、いまだ大豆抽出液中にリパーゼ活性が検出された例はなく、大きな疑問として残されていた。

著者は種実中にリパーゼ活性を阻害する因子の存在を推定し、追究の結果、ブタすい臓リパーゼに対する阻害因子の存在を確認することに成功し、上記疑問の解明に一つの手掛りを与えることとなった。本因子は非透析性で、硫酸分画することができ、加熱やプロナーゼ処理によって失活することからタンパク質性のものであり、他の動・植・微生物起源のリパーゼに対しても同じく活性を阻害することを知った。さらに本因子をクロマトグラフの手法で精製し、3つの活性画分をとり、その1画分はさらに焦点電気泳動で精製した。そのものは等電点 pH 5.75、分子量77,000の単一タンパクであって、pH 6.5～9.5の範囲で安定であり、50°C 10分間の加熱で失活するなどの性質を有することを明らかにした。

なお本因子はリパーゼの基質エマルジョンが共存するときは熱やプロナーゼ処理に対して安定化される。またその阻害活性は基質の調製法によって異なり、超音波処理したエマルジョンを用いたときは攪拌法によるエマルジョンを用いた場合に比べて阻害の程度が低い。これにトコフェロールを加えたり基質に対する本因子の添加割合を増すことなどによって阻害が顕著になる。さらに基質と本因子をあらかじめインキュベートするほうが酵素と本因子とをあらかじめインキュベートするよりも阻害が著しい。これらの結果から、本因子による阻害の機構はリパーゼタンパク質に対して直接作用するものではなく、基質との相互作用にあることが明らかになった。すなわち、本因子はリパーゼの基質エマルジョンに作用して界面面積を減少せしめる性質を有する特異なタンパク質であることが示された。

以上のように、本論文は油糧種実として重要な大豆の成分に関して新たな知見を加えたものであって、食品生化学ならびに植物生理学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。