

目的 果実中のプロテアーゼの成分と基質特異性を調べ、それら酵素と果実の“熟す”こととの関係を検討すること、およびトリプシン類、キモトリプシン類、パパイン類以外の未知の基質特異性をもつプロテアーゼを見い出すことを目的として、各種果実中のプロテアーゼの検索を行った。特に酸性アミノ酸やヒスチジンに特異性を示すプロテアーゼについて調査したところ、パイナップル中のプロテアーゼとして知られるブロメラインの粗酵素標品中に、ヒスチジン結合に強い特異性を示す酵素を見い出したので、その精製を試みた。

方法 酵素活性の測定に用いた Boc-Ala-Ala-Pro-His-pNA などの一連のペプチドパラニトロアニリドは化学合成して得た。試料として市販の粗ブロメラインを用い、Cellulofine および Toyopearl によるゲルろ過、CM-Toyopearl によるイオン交換アフロマトグラフィー、さらに Z-Gly-D-Phe-AH-Sepharose を用いたアフィニティークロマトグラフィー等により精製を行った。得られた酵素について、各種阻害剤やタンパク質修飾試薬の影響を調べた。

結果 本酵素は Boc-Ala-Ala-X-His-pNA (X=Pro, Leu, Ala) をよく加水分解した。Phe 結合にも幾分作用したが、その活性は TPCK により阻害されたので、キモトリプシン様酵素が混在しているものと考えられる。また本酵素は、SH 修飾試薬では阻害されなかったが、DFP では阻害されたのでセリンプロテアーゼであることがわかった。その最適 pH は、中性付近から強アルカリ性域までの広い範囲にあった。