

A-155 蔬菜類のプロテアーゼインヒビターに関する研究
聖母短大家政 ○澤田寿々太郎 中瀬寿子

目的 プロテアーゼインヒビターは豆類、穀類をはじめ蔬菜類等に認められる。漢方等では里芋中にも強いインヒビターが存在することを見出した。しかも本インヒビターはトリプシンを特異的に阻害し、他のプロテアーゼに対しては阻害力を持たない。このことは本インヒビターを利用すればトリプシンと他のプロテアーゼの混合物から、トリプシン活性を分別測定することの可能性を示唆する。そこで今回はトリプシンとキモトリプシンの混合物について、それぞれの活性を分別測定するための基礎的な検討をおこなった。

方法 里芋インヒビターは次のように部分精製した。即ち、数倍量の0.1N塩酸(1%食塩を含む)で里芋を磨碎抽出し、その滲液にアセトンを等量加えてインヒビターを沈澱させた。この沈澱を磷酸バッファーに溶解させ、粘質物を除去した後、CMセファデックスC25 (pH 5.0)によるカラムクロマトグラフィーをおこなって実験に必要な試料を得た。

このインヒビターの稀釈液を一定量のプロテアーゼ溶液に加えて10分間プレインキュベーションした後、2%ミルクカゼインを基質としてpH 7.5で35℃, 20分間作用させ、トリクロロ酢酸で反応を停止した。その可溶部についてFolin至色をおこなって660nmにおける吸光度を測定し、プロテアーゼ活性に対する阻害力を求めた。

結果 トリプシンとキモトリプシンの混合溶液に対し、インヒビターを加えて活性を測定した結果はトリプシンのみが阻害を受ける。従って両者の活性はほぼ完全に分別し得る。

この場合、反応液に加えるインヒビターの量はトリプシンを阻害するのに必要な量を求め、その2倍から数倍量が適当である。