

611

コラーゲンの酵素加水分解によるフィブリン凝集阻害ペプチドの生産
(工技院・微工研、*日本ハム中央研究所) ○野仲 功*, 丸山 進、田中秀興

【目的】トロンビンの作用によりフィブリノーゲンからフィブリンペプチドAが遊離した後のフィブリンα鎖のN末端トリペプチドGly-Pro-Argはフィブリン凝集阻害活性を有することが報告されている¹⁾。演者らはコラーゲンの有効利用を種々検討した中で、コラーゲンにはGly-Pro-Argの配列が1分子につき20残基程度含まれていることに着目し、コラーゲンの酵素加水分解液のフィブリン凝集阻害活性の測定とGly-Pro-Argの分離、精製を試みた。

【方法】豚皮由来コラーゲンをTris-HCl緩衝液(pH7.2)中37℃、18時間、*Clostridium histolyticum*由来のコラゲナーゼにより加水分解した。フィブリン凝集阻害活性は、市販牛由来フィブリノーゲン、トロンピンを用いて測定した。

【結果】酵素反応液中の分子量1万以上の高分子物質を限外濾過により除去した後、逆浸透膜(分画分子量400)により分子量400以下のGly-Pro-Argを含む粗製物を得た。次に本粗製物をイオン交換及び逆相高速液体クロマトグラフィーにより分離、精製しGly-Pro-Argを得た。分子量400以下の粗製物のGly、Pro、Argのアミノ酸組成比は1:0.4:0.13であり、イオン交換クロマトグラフィー後のGly-Pro-Arg画分のGly、Pro、Argのアミノ酸組成比は1:0.4:0.5であった。逆相高速液体クロマトグラフィー後の精製Gly-Pro-Argの収率は0.01%、アミノ酸組成は理論値とほぼ一致した。本活性測定系におけるペプチド無添加のフィブリン凝集時間は80秒であり、合成Gly-Pro-Arg 0.4mM添加時のフィブリン凝集時間は170秒であった。これと同様の凝集阻害効果を示す分子量400以下の粗製物およびイオン交換クロマトグラフィー後のGly-Pro-Arg画分濃度は、それぞれ9.0mM、19mM(Gly換算濃度)であった。またコラゲナーゼ以外の酵素による加水分解物の活性についても検討した。

1) A.P. Laudano and R.F. Doolittle, *Biochemistry*, 19, 1013-1019 (1980)

Production of fibrin polymerization inhibitor from an enzymatic hydrolysate of collagen

○Isao Nonaka*, Susumu Maruyama, Hideoki Tanaka

(Fermentation Research Institute AIST, *R&D Center Nippon Meat Packers, Inc.)

612

種々のプロリン・リッチ蛋白質の繰り返し配列に存在するペプチドのプロリルエンドペプチダーゼ阻害活性 (工技院・微工研、*昭和産業・総研、**埼玉工大) ○丸山 進、三吉新介*, 長 孝純**, 田中秀興

【目的】Z-Pro-Prolinalなどの脳プロリルエンドペプチダーゼ(PEP)阻害剤は抗健忘作用を有することが報告されている¹⁾。演者はこれまでに食品蛋白質の酵素加水分解物に含まれる血圧降下ペプチドなどを報告してきたが、今回、トウモロコシ、大豆、ニンジンなどの植物及び動物の唾液腺などに存在するProline-Rich Protein (PRP)の繰り返し配列に存在するペプチドを多種合成し、そのPEP阻害活性を検討した。

【方法】ペプチドはABI社の430A型固相合成装置により合成した。PEP阻害活性は、*F. meningosepticum*由来の市販酵素或は牛脳アセトンパウダーから部分精製した酵素を用い、0.4mM Z-Gly-Pro-pNAを基質として測定した。

【結果】トウモロコシ蛋白質γ-ゼインに存在するHis-Leu-Pro-Pro-Pro-Val及びHis-Leu-Pro-Pro-Pro-Val-His-Leu-Pro-Pro-Pro-Valが各々80及び30μMのIC₅₀値で*F. meningosepticum*由来PEPを阻害した。上記ペプチドはまた牛脳由来PEPも阻害した。大豆PRPに存在するLys-Pro-Pro-Val及びLys-Pro-Pro-IleもPEPを阻害したが、唾液腺蛋白質中のPro-Pro-Pro-Pro-Gly-Gly-Pro-Gln-Pro-Arg-Pro-Pro-Gln-Gly或はコラーゲン中のGly-Pro-Hyp-Gly-Pro-Alaは殆ど阻害活性を示さなかった。次いで、トウモロコシ蛋白質γ-ゼインをズブチリシンで加水分解することによって、His-Leu-Pro-Pro-Pro-Valが得られることを確認し、PRPから生理活性ペプチドが生産できることを示した。

1) T. Yoshimoto et al., *J. Pharmacobio-Dyn.*, 10, 730 (1987).

Prolyl endopeptidase inhibitory activity of peptides in the repeated sequence of various proline-rich proteins

○Susumu Maruyama, Shinsuke Miyoshi*, Takasumi Osa**, and Hideoki Tanaka

(Fermentation Research Institute AIST, *Showa Sangyo Co., Ltd., **Saitama Institute of Technology)