

## ■ 酵素の仕事シリーズ 2) プロテアーゼ

### はじめに

タンパク質のペプチド結合を加水分解する酵素で、タンパク質やペプチドを分解する数多くのプロテアーゼが知られています。タンパク質のペプチド切断場所によって、エンドペプチダーゼ（タンパクの中央部分を切断）、エキソペプチダーゼ（タンパク質の末端部分を切断）に分類され、オリゴペプチドの分解酵素は、オリゴペプチダーゼと呼ばれます。エキソペプチダーゼには、N 端から分解する酵素をアミノペプチダーゼ、C 端から分解する酵素をカルボキシペプチダーゼと呼びます。また、酵素活性が高い領域の pH によって 酸性プロテアーゼ、中性プロテアーゼ、アルカリ性プロテアーゼに分類されます。一般にプロテアーゼの基質特異性は高くありませんが、エンドペプチダーゼは特異性が高く、トリプシンは C 側にプロリンが結合していないアルギニンやリシンを認識して切断し、エラスターゼは N 側にプロリンが結合していないアラニン、グリシン、セリン、バリンを認識して結合します。そのほか、キモトリプシン、テルモリシンなどが比較的高い特異性を持っています。いずれにせよ、プロリンが前または後にあると切断できないので、立体構造的な要因が考えられます。

### プロテアーゼ活性測定法について

酸性プロテアーゼ、中性プロテアーゼなどの選択性の低いプロテアーゼ活性を測定する一般的な方法としては、ミルクカゼイン基質溶液に、抽出した酵素液を添加し、正確な温度及び時間で酵素作用を行わせます。その後、反応停止液を加え未分解たんぱく質を沈殿させ、分解したアミノ酸を分離します。各条件下での酵素作用にて生成したチロシン相当量の呈色を示す活性をプロテアーゼ活性とします。

一般的な分析の流れを下図に示します。

基質水溶液（カゼイン）



- ←pH 調整 ・酸性プロテアーゼ：pH3.5
- ・中性プロテアーゼ：pH7.0
- ・塩基性プロテアーゼ：pH9.0



←酵素液（被検体抽出物溶液）添加



インキュベーション



←タンパク沈澱試薬添加



遠心分離（または、ろ過）



上澄液（または、ろ液）



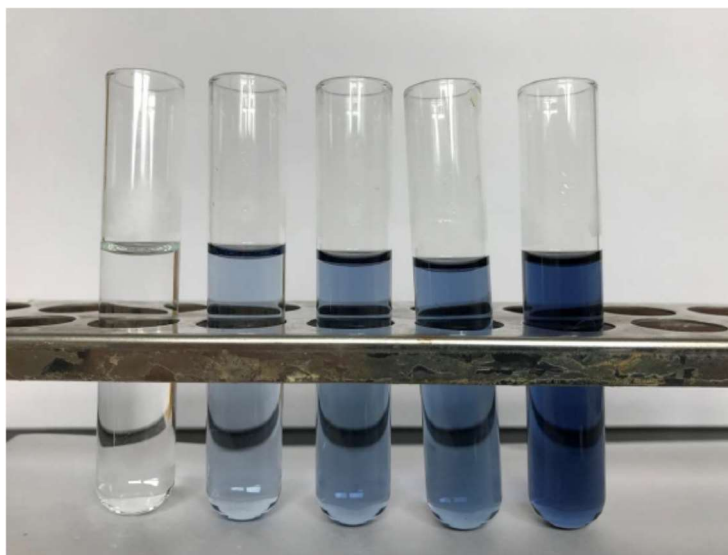
←発色液添加



吸光度測定



活性値変換（ユニット\*/g、ml 等）



\*カゼインから 40°Cにおいて 60 分間に 1 ug のチロシンを切り出す酵素活性を 1 ユニ  
ット と定義

弊社ではプロテアーゼ活性の受託分析を行っています。