

中性域で働くマサバ カテプシン B 様酵素の精製と性状

(2014年12月8日受付)

(2015年3月13日受理)

緒方英博^{a, b)}、山口雄一郎^{c)}、吉田朝美^{a)}、長富 潔^{a)}、原 研治^{a)}

a) 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

b) 株式会社 L S I メディエンス

c) 上野製薬株式会社

Purification and characterization of cathepsin B-like enzyme active in neutral pH from the chub mackerel *Scomber japonicus*

(Received December 8, 2014)

(Accepted March 13, 2015)

Hidehiro Ogata^{a, b)}, Yuichiro Yamaguchi^{c)}, Asami Yoshida^{a)}, Kiyoshi Osatomi^{a)}, Kenji Hara^{a)}

a) Graduate School of Fisheries Science and Environmental Studies, Nagasaki University

b) LSI Medience Corporation

c) Ueno Fine Chemicals Industry, Ltd.

Abstract

As a part of researches for endogenous proteinases, we attempted with purification and characterization of a cysteine protease active in neutral pH from the spleen of chub mackerel *Scomber japonicus*. The molecular mass of the purified enzyme was estimated to be 35 kDa by gel filtration. In addition, the purified enzyme was detected as two protein bands of 35 and 27 kDa by SDS-PAGE, and N-terminal amino-acid sequences of the former and latter shared high homology with those of single and heavy chains, respectively, of rainbow trout, mouse, and bovine cathepsin B. The optimum pH of the purified enzyme were 7.0 and 7.7, respectively, on Z-Phe-Arg-MCA and Z-Arg-Arg-MCA hydrolyzing activity. The activity was suppressed by cysteine protease inhibitors such as E-64, TLCK, and leupeptin. From these results, the purified enzyme active in neutral pH was considered to be a new type of cathepsin B, which was different from well-known cathepsin B active in acidic conditions. Moreover, myosin heavy chain and actin were hydrolyzed with addition of the enzyme in neutral pH, suggesting that the cathepsin B-like enzyme purified from the spleen of chub mackerel is one of the proteases responsible for post-mortem fish muscle tenderization.

Keywords : カテプシン B 様酵素、マサバ、中性プロテアーゼ

cathepsin B-like enzyme, chub mackerel *Scomber japonicus*, neutral proteinase

I 緒言

哺乳動物では、生体組織の死後に速やかにリソソーム膜が破壊され、細胞質内に拡散したリソソームシステインプロテアーゼが筋原線維タンパク質の自己消化に関わる主要なプロテアーゼと考えられている¹⁾。魚類にも動物組織と同様、リソソームが存在し、リソソーム酵素であるカテプシンに関する研究も多い。これらのカテプシンのうち、エンドタイプのシステインプロテアーゼには、ジベプチジルカルボキシペプチダーゼ活性も併せ持つカテプシン B、強いエンドプロテアーゼ活性を有するカテプシン L 及びカテプシン S があり、

このうちカテプシン B 及び L は酸性域で、カテプシン S は中性域で働くことが知られている²⁻⁷⁾。

死後の魚筋肉の軟化は畜肉に比べて非常に速く、水産食品学的に大きな問題となっている。これらカテプシン B 及び L は魚類でも精製され、魚肉軟化の観点からの研究がなされてきた⁸⁻¹⁴⁾。一方、筋原線維タンパク質の分解と魚肉軟化との関連性が報告されており、Z線の崩壊が保存中のマダイ筋肉の軟化に関与していることや、死後の筋肉軟化の早期にα-アクチニンがZ線から解離し、その後水解されることが確認されている^{15, 16)}。筆者らは前報において¹⁷⁾、生きたマダイのキュビエ氏管より種々のプロテアーゼ阻害剤を注入することに

連絡先 : 〒 852-8521 長崎県長崎市文教町 1-14 長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科 原 研治

Corresponding author: Kenji Hara, Graduate School of Fisheries Science and Environmental Studies, Nagasaki University,
1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan