

報告番号

※ 甲 第 1727 号

主論文の要旨

題名

センタニクバエ体液細胞プロテアーゼと、
そのインヒビター、Sarcocystatin A, に関する研究

氏名 鈴木利治

主論文の要旨

報告番号

※甲第

号

氏名

鈴木利治

(序) 昆虫において、体液細胞は、2つの局面で大切な働きをしている。と考える。1つは幼虫体内で“自己”と“異物”を認識分別することであり、他の1つは、変態時に不要となった幼虫組織を“自己”から“非自己”へと認識し直すことである(1)。この2つの局面において、体液細胞のプロテアーゼは、異物および不要幼虫組織の分解に関与する重要な因子の1つであると考えられる。またプロテアーゼ作用時には、個体の恒常性を維持するために、制御因子として、体液中の体液細胞プロテアーゼインヒビターがなくてはならない。特に変態時は、幼虫組織の分解と同時に、新たな成虫組織の構築が行われており、プロテアーゼ制御因子による恒常性の維持は、蛹という閉鎖系において個体の正常な発生分化を遂行する上で大切である。私は、このような観点に立ち、完全変態昆虫であるセンブリバエの体液細胞プロテアーゼと、体液中の制御因子であるインヒビターに着目し、研究を行った。

(結果) 幼虫体腔内に異物タンパクを注射すると、異物タンパクは、体液中で分解を受け、体液からすみやかに除去された。一方、自己タンパクとして、体液タンパクを注射した時は、このような分解・除去は認められなかった。

この分解に、体液細胞のプロテアーゼが関与している可能性が示唆されたので、この酵素の性質を検討した。体液細胞プロテアーゼはpH4-6で最大活性を示すシスティンプロテアーゼが主成分であった。

一方、*in vitro*の実験において、体液存在下では、その酵素活性が著しく阻害されることから、体液中にはこの酵素の阻害因子(インヒビター)が存在する可能性が考えられた。幼虫体液をセファクリルS-200で分画したところ、

高分子量と低分子量の両分画に、体液細胞プロテアーゼ阻害活性が認められた。個体内で恒常性の維持に寄与する、このような因子の重要性を考え、体液細胞プロテアーゼの阻害活性を指標に、体液由来のインヒビターの主成分を、低分子量分画より精製し、Sarcocystatin Aと命名した。Sarcocystatin Aは、分子量10,000のA α と、9,500のA β とから成るタンパクであり、体液細胞プロテアーゼの活性を強く阻害した。また、Sarcocystatin Aは、三量体である集合型と解離型とから成り、集合型は解離型に較べて、比活性が低下する事実から、生体内において、集合 \rightleftharpoons 解離による活性の制御が行われている可能性が示唆された。

A α とA β は、免疫的に完全に交差し、ペプチドマップ、アミノ酸組成および部分一次構造の比較から、基本構造は同じである可能性が示された。また、このタンパクの一次構造中には、セキツイ動物から得られている既知の低分子量システインプロテアーゼインヒビターと共通するアミノ酸配列が含まれていることが明らかになり、この部分が活性部位である可能性が考えられた。

Sarcocystatin Aに対する抗体を調製し、実験を行ったところ、このタンパクは体液以外では、脂肪体組織に検出された。体液中では、A α とA β がほぼ同量検出されたのに対し、脂肪体では、A α のみが認められた。従って、生合成の場として、脂肪体が予想され、A β はA α の修飾産物である可能性が示唆された。ラジオイムノアッセイによる測定の結果、Sarcocystatin Aは、3歳

以降、急速に量的増加が起こり、体内に蓄積されることが判明した。また、変態中期にも量的増加を示し、変態後は減少することが明らかになった。

〔結論と考察〕 体液中に導入された異物タンパクの処理に、体液細胞プロテアーゼが関与している可能性が示された。そして、体液中には、このプロテアーゼの作用を局所的なものに抑制するタンパクとして、インヒビターが存在していることが明らかになった。インヒビターの主成分である Sarcocystatin A は、集合⇄解離を行うことにより、活性を調節する全く新しいタイプの、そして、無セキツイ動物より初めて精製された低分子量シスチンプロテアーゼインヒビターである。Sarcocystatin A は、変態時に量的変動を示す事実からも、異物タンパク分解時だけでなく、変態時に不要な幼虫組織の分解に関与するであろう体液細胞プロテアーゼの活性を制御すると予想され、“分解”と“構築”という相反する反応を行う閉鎖系(蛹)の小恒常性の維持に重要な役割を担っているものと考えられる。

参考文献

- (1) D. Mizuno, H. Komano, & S. Natori (1982) in *Self-Defense Mechanism* (Mizuno, D. et al eds) pp15-23, University of Tokyo press, Tokyo.