

アスパラギン残基特異的なエンドプロテアーゼの製造法と利用法

技術の特徴

タンパク質中のアスパラギン残基のカルボキシル基側を切断する酵素(レグマチュレインと名付けた)をダイズ等から分離精製する方法を提供する。

タンパク質中に存在するアスパラギン残基をカルボキシル基側で切断する際の、下流側配列ルールを提供する。レグマチュレインのダイズおよびヒト由来のcDNAおよび、各々に対応する推定アミノ酸配列情報を提供する。

レグマチュレインの阻害剤および賦活化剤等に関する情報を提供する。

標的タンパク質をアスパラギン残基特異的に切断する事により、ペプチドの部分一次構造を解析出来る。これによりcDNAクローニングの為にプライマーを作成出来る。

レグマチュレインは、標的タンパク質の分子表面に位置するアスパラギン残基を切断することから、様々な処理を加えた標的タンパク質分子のコンフォメーションをnativeのそれと比較することが可能。

アレルギーとなるタンパク質の評価法の開発につながる可能性が高い。

技術の背景

植物種子の主要な貯蔵タンパク質である11S型タンパク質(グリシニン型)の前駆体を成熟化する残基特異的プロテアーゼの存在を想定し探索した結果、発見した。

レグマチュレインmRNAは、ダイズ種子中では開花後18日目にすでに発現し、ユビキタスに登熟後期前半(開花後48日目)頃まで存在し、完熟期(開花後58日目)には分解消失した。

レグマチュレインは糖タンパク質であり、登熟の過程で糖鎖は除かれる。この糖鎖除去レグマチュレインの活性はあるが、タンパク質の精製が進むと急速に失活する。

レグマチュレイン型プロテアーゼをヒト組織から単離し、そのcDNAをクローニングした。最近、Asn残基特異的プロテアーゼが生体の抗原の最初の認識に深く関わっていて、アレルギー反応の原因とも関連している可能性が指摘されている。

特許

新規アスパラギンエンドプロテアーゼとその製造法並びに利用法 特許:日本国特許第2104112号 特許決定日(平成8年11月6日)

U.S. Patent 5739025 (Filed on Apr. 14, 1998) U.K. Patent GB 2269177 B (Filed on May. 22, 1996)

Deutsches Patent P4324276.6-41 (Filed on Jun. 22, 1995)

植物由来アスパラギン残基特異的エンドプロテアーゼcDNAおよび遺伝子 特許:日本国特許第3012928号 特許決定日(平成11年12月17日)

U.S. Patent 6107471 (Filed on Aug. 22, 2000)

植物由来アスパラギン残基特異的エンドプロテアーゼ活性の迅速定量法 特許:日本国特許第3015886号 特許決定日(平成11年12月24日)

U.S. Patent 6251623 B1 (Filed on Jun. 26, 2001)

参考文献

○ Arahira, M., and Fukazawa, C. (1994) Ginkgo 11-S seed storage protein family mRNA: Unusual Asn-Asn linkage as posttranslational cleavage site and its regulation by maturation enzyme (Asn-bond specific endoprotease). *Plant Mol. Biol.*, 25, 597-605

○ Muramatsu, M., and Fukazawa, C. (1993) A high-order structure of plant storage proprotein allows its second conversion by an asparagine-specific cysteine protease, a novel proteolytic enzyme. *Eur. J. Biochem.*, 215, 123-132



代表研究者: 深澤 親房

所 属: 企画調整部 タンパク質分子設計チーム

問い合わせ先: 研究交流科 関谷 修三

e-mail: atunisi@nfri.affrc.go.jp

独立行政法人
食品総合研究所