

*Irpea Lacteus*に於ける β -glucosidaseの特異性

Hollosidase の独立性問題に寄せて

小林 敏雄* 若林 和正** 西沢 一俊*

(昭和27年9月5日受理)

Toshio KOBAYASHI, Kazumasa WAKABAYASHI, Kazutosi NISIZAWA : SPECIFICITIES OF β -GLUCOSIDASE IN *IRPEX LACTEUS*. A CONTRIBUTION TO THE PROBLEM OF THE EXISTENCE OF HOLLOSIDASES

昔時から麦芽糖・蔗糖等を水解する酵素は夫々 maltase, saccharase (或いは invertin) 等の名称で呼ばれ, α -glucosidase, β -fructosidase などの所謂 heteroside の水解酵素とは別種のものとして取扱われて来た。然るに WEIDENHAGEN¹⁾は1928~29に於て, 蔗糖は作用条件次第で酵母中の所謂 saccharase によつてのみならず麦芽糖を水解する酵母 maltase によつてもよく水解されることを発見し, この一見矛盾した事が, α -glucosidase とか β -fructosidase なる heterosidase の名称の許に maltase, saccharase などを包含させ, 前者は麦芽糖及び蔗糖などの α -glucosidic linkage を一般の α -glucoside と同様水解し, 後者は蔗糖の β -fructosidic linkage を一般の β -fructoside と同様水解するものと考えれば, これらの特別の hollosidase の存在を考えなくとも充分説明出来ることを主張した。而して彼はこの事実を, ひいては一般 carbohydrase に於ける heterosidase と hollosidase との関係に敷衍出来るものとし, 所謂 WEIDENHAGEN 説なるものを樹立した。併し彼の説はその後 HOFFMANN,²⁾ KARSTRÖM,³⁾ PRINGSHEIM,⁴⁾ HESTRIN⁵⁾ 等により種々の事実から反駁され乍らも, 特にその説の主流をなす hollosidase の独立性を否定する点に関しては今日尙一般的には信を置かれている。我が国に於ても三輪等⁶⁾は糸状菌の maltase, saccharase などに就て, 彼の説に対し強い批判を加えている。筆者等⁷⁾も最近麦芽酵素中には cellobiose のみに或いは cellobiose には特によく作用する特殊酵素 "cellobiase" が存在するという結論に到達し, WEIDENHAGEN 説が全面的には支持され得ないことを提唱した。

今回はその一翼の研究として菌類に於ける 兩種酵素の関係を探求する目的で *Irpea lacteus* に就て, この種の観察を試みた。方法としては麦芽の場合に倣つて, それと同様な種々の処理法により分別調製した酵素標品の β -heteroglucoside と β -holloglucoside とに対する作用比の変動の有無を検討した。その結果を茲に報告する。

実 験 の 部

〔I〕 基 質

Phenol- β -glucoside (我等の研究室で合成したもの), saligenin- β -glucoside (salicin) (Merk製) 及び cellobiose (武田製) の3種を基質として使用した。

〔II〕 酵素液の調製

(A) 原 液

麦芽粉末に水を加え加圧釜にて殺菌した培地に *Irpea lacteus* の菌糸を植え, 約10日間適温にて培養した後菌体から分離した培養液を場合によつては低温濃縮し, 水道水にて透析した。

* 信州大学繊維学部 化学研究室

** 信州大学科学教育研究室 研究員

- (B) 原液を72°C 10分間加熱
- (C) 原液300ccを約20ccに濃縮し100ccの methanol 中に投じ生じた沈澱を60ccの水に溶解し、之に固形硫酸アンモニアを82.5飽和に加え生じた沈澱を30ccの水に溶かす。
- (D) 原液240ccをpH 5.6に於てTonerde B適量を混じ60分間攪拌吸着を行い、吸着物を0.1 mol pH5.2の醋酸緩衝液20ccにて前溶出し、更に0.1 mol pH 7.4の醋酸アンモニア20ccに後溶出を行う。
- (E) (D) に於ける残液を約16ccに低温濃縮する。
- (F) (A) に於て培養液から分離した菌体をよく水洗し、低温乾燥し細粉となし、それを約10培量の0.05Nアンモニアにて抽出し水道水にて透析する。

〔III〕 反応条件並に酵素作用測定法

各反応液の組成

- 0.048 mol の基質溶液.....2cc
- 0.1 mol pH 4.8 醋酸緩衝液.....4cc
- 酵 素 液.....2cc

この混合液を30°Cの恒温槽中にて反応させ、適當時間後それから1ccを吸い取り cellobiose の場合には更に之を2.5倍に稀釈した後1ccを吸い取り、SCHAFER-HARTMANN 微量法により、その中の遊離還元糖量を測定し水解率を求め、この酵素反応を常法の如く一次反応と考えて反応速度恒数 (K) をそれから算出し、cellobiose に対する恒数値を1として他の比率を出した。

〔IV〕 実験結果

Table 1. Enzyme Solution A

Substrate	Reaction time Min.	Split %	K·10 ³	Ratio of average values of K
Phenol- β -glucoside	3823	28.1	0.0386	1.22
	9675	59.6	0.0407	
Salicin	3823	27.0	0.0341	1.02
	9575	1.7	0.0320	
Cellobiose	3823	30.6	0.0412	1
	9675	41.3	0.0239	

Table 2. Enzyme Solution B

Substrate	Reaction time Min.	Split %	K·10 ³	Ratio of average values of K
Phenol- β -glucoside	8760	28.2	0.0176	1.22
	17080	74.2	0.0345	
Salicin	8760	22.1	0.0124	1.12
	17080	64.0	0.0260	
Cellobiose	8760	32.3	0.0194	1
	17080	44.3	0.0150	

Table 3. Enzyme Solution C

Substrate	Reaction time Min.	Split %	K·10 ³	Ratio of average values of K
Phenol-β-glucoside	2943	36.0	0.0658	1.43
	5788	62.3	0.0733	
Salicin	2943	33.8	0.0609	1.28
	5788	57.5	0.0640	
Cellobiose	2943	32.3	0.0576	1
	5788	41.3	0.0400	

Table 4. Enzyme Solution D

Substrate	Reaction time Min.	Split %	K·10 ³	Ratio of average values of K
Phenol-β-glucoside	1125	17.7	0.0752	1.80
	5820	91.0	0.1820	
Salicin	1125	14.8	0.0620	1.43
	5820	85.0	0.1410	
Cellobiose	1125	18.3	0.0780	1
	5820	64.5	0.0770	
	9720	73.5	0.0592	

Table 5. Enzyme Solution E

Substrate	Reaction time Min.	Split %	K·10 ³	Ratio of average values of K
Phenol-β-glucoside	1260	18.6	0.0709	3.16
	4407	59.6	0.0890	
	8327	80.0	0.0839	
Salicin	1260	14.8	0.0552	2.35
	4407	47.4	0.0633	
	8327	72.6	0.0681	
Cellobiose	4407	20.1	0.0222	1
	8327	44.2	0.0304	

Table 6. Enzyme Solution F

Substrate	Reaction time Min.	Split %	K·10 ³	Ratio of average values of K
Phenol-β-glucoside	225	31.1	0.719	2.36
	945	87.3	0.948	
Salicin	225	24.5	0.555	1.75
	945	77.5	0.680	
Cellobiose	945	61.5	0.438	1
	3822	90.6	0.269	

第1表から6表までの作用比を見ると、2つのβ-heteroglucoside間の作用比に比べて cellobiose と、これらの間の作用比には多少大きい変動が見られる。併し乍らこの2つのβ-heteroside水解のKは多くの場合扁桃や杏 emulsin と異り水解率の進むに伴い相当増大を示すのに反し、cellobiose に対するKは逆に可成りの減少を示しているので、この作用比の変動はβ-glucosidase 以外の“cellobiase”の存在の爲めではなく、むしろ前記の兩種酵素作用のK値が一定でないのに基因するものと思われる。

総 括

二, 三の β -glucoside と cellobiose とに対する *Irpex lacteus* の作用比間には, 各種の酵素分別に於ても殆んど変動が認められないので, この菌には兩種基質に作用する一種の β -glucosidase 以外に特別の hollosidase の存在は考えられない。

文 献

- 1). H. HOFFMANN : Biochem. Z. **256**, 462 (1932); 同 **271**, 417 (1934)
- 2). H. KARSTRÖM : Z. Physiol. Chem. **231**, 399 (1931)
- 3). H. PRINGSHEIM, H. BORCHARDT & F. LOEW : Z. Physiol. Chem. **202**, 23 (1932)
H. PRINGSHEIM & F. LOEW : Z. Physiol. Chem. **207**, 241 (1933)
- 4). R. WEIDENHAAGEN : Handbuch d. Enzymol. **1**, 512 (1940)
- 5). 三輪知雄, 三輪あや子 : 日化 **61**, 1172 (1940)
- 6). S. HERSTIN : Enzymogia **8**, 193 (1940)
- 7). 西沢一俊, 若林和正 : Symposia on Enzyme Chem. (Japan) **6**, 26 (1951); Chem. Abst. **48**, 2098(1952)
- 8). 西沢一俊, 若林和正 : Symposia on Enzyme Chem. (Japan) **7**, 97 (1952)

Summary

In view of the fact that no remarkable change was found between the activity ratio to a few β -glucosides and that to cellobiose in each enzyme solution fractionated by various ways, it can be thought that no hollosidase exists in *Irpex lacteus* besides one kind of β -glucosidase which attacks cellobiose as well as ordinary β -glucosides.

(Chemical Laboratory, Faculty of Textile and Sericulture, Shinshu University,
Ueda, Japan)