

サツマイモ中のポリおよびメタホスファターゼについて

江 口 瞳

Studies on Poly- and Metaphosphatase in Sweetpotato

Hitomi Eguchi

Among the condensed phosphates, there are polyphosphate and metaphosphate which are distributed widely in the biological world.

The enzymes which can hydrolize the above mentioned phosphates also exist in a wide range in higher animals, the leaves of higher plants, molds and bacteriums etc.

Having found a rather high degree of enzyme activities in Sweetpotato, the reporter attempts to point out some characteristic features of these enzyme through the experiments performed.

1. In each fraction with ammonium sulphate, there are pyro-, tripoly- and trimetaphosphatase. Moreover, the trimeta- phosphatase activity becomes higher in accordance with the saturation concentration with ammonium sulphate.
2. Each reaction optimum pH of pyro-, tripoly- and trimeta- phosphatase is about 4. And the reaction optimum pH of pyro- and tripolyphosphatase is 6-8. (Received May 31, 1969)

緒 言

無機りん酸酵素についての研究は、19世紀以来、行なわれているが、本格的な研究がなされたのは、Neuberg およびその一派¹⁾によってである。門下生の一人、北里^{2, 3)}は当時のヘキサメタりん酸塩、現在のポリりん酸塩を分解する酵素をタカジャスターゼ、動物臓器および組織中にみい出した。

その後、ポリりん酸およびメタりん酸塩の定義が確立⁴⁾されて以来、無機縮合りん酸分解酵素に関する研究が発表された^{5, 6, 7)}。

最近、本学食品栄養研究室からは、桑野、北里⁸⁾および桑野⁹⁾によりジャガイモ中の、向山¹⁰⁾によりネギ中のピロ、トリポリ、およびトリメタりん酸分解酵素についての研究が発表された。

著者は、サツマイモ中のこれらの酵素についての実験を行ない、2, 3の知見を得たのでここに報告する。

実 験 方 法

1. 基 質

基質として、ピロ、トリポリ、トリメタりん酸塩を用いた。ピロりん酸ナトリウムは、市販品を水から再結晶して使用した。トリポリ¹¹⁾、トリメタりん酸カリウム¹²⁾は、本研究室で合成したものをを用いた。

2. 酵素液の調製

剥皮したサツマイモ 200g を細切し、冷水 200ml を加えてホモジナイズし、さらし布で搾汁した液を 4000 r. p. m. で、10分間遠心分離し、その上清に所期の飽和度を得るような量の硫酸アンモニウムを加え、生じた沈澱を遠心分離して集め、水に溶解した後、1Nのアンモニア水で pH7 に調整して、25ml にしたものを酵素液として用いた。酵素のタンパク質量は、Folin 法¹³⁾に従って定量した。なお、標準曲線は、卵アルブミンを用いて作成した。

3. 活性度の測定

0.1Mの基質溶液 0.15ml に、それぞれの分画につい

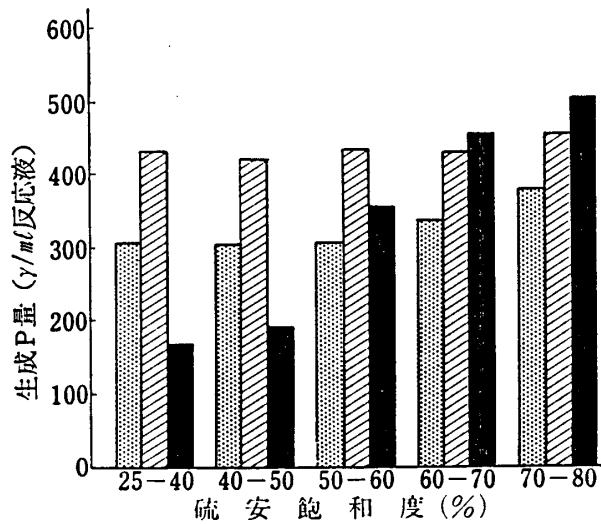
て、タンパク量が一定になるように希釈した酵素液 0.5 ml と、緩衝液 (1M 酢酸ナトリウム-塩酸系, 0.1M ペロナル-塩酸系) 2.35ml を加え, 38°C で, 5時間, または20時間反応させた。反応液1容をとり, これに冷10% トリクロロ酢酸4容を加えて反応を止め, 口過し, 口液の一定量について生成したオルトリン酸を, Fiske-Sabbarow の方法¹⁴⁾で定量した。

なお, 硫酸飽和度の表わし方は, 現在最も広く採用されている Methods in Enzymology の表 (化学便覧, 基礎編Ⅱ参照) によった。

実験結果および考察

1. 各分画の酵素活性

各硫酸分画の酵素活性は, 第1図に示した。



第1図 各分画の酵素活性

基質 { 5 × 10⁻³M Pyro-P (点線)
 5 × 10⁻³M Tripoly-P (縦線)
 5 × 10⁻³M Trimeta-P (黒塗り)
 酵素タンパク質量 100γ/ml 反応液
 1M 酢酸ナトリウム-HCl 緩衝液 (pH 4.6)
 38°C 20時間反応

図から明らかなようにピロ, トリポリリン酸分解酵素の活性は, 各分画においてほぼ同程度であるが, トリメタリン酸分解酵素は, 飽和度が高くなるに従って活性度も高くなる。特にトリメタリン酸分解酵素の活性の強いことが注目される。

なお, 各分画の酵素タンパク質は, 次に示すとおり分画Ⅲ, Ⅳ, Ⅴに平均して多量に含まれており, ジャガイモ, ネギ中の酵素に比べ, かなり強い酵素活性が認められた。

各分画の酵素タンパク質量

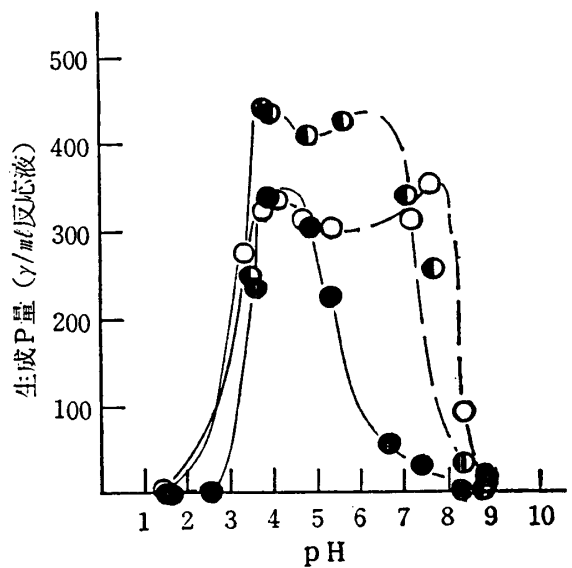
分画	硫酸飽和度 (%)	タンパク質量 (mg/ml(酵素液))
I	25 - 40	10.7
II	40 - 50	5.4
III	50 - 60	4.4
IV	60 - 70	0.5
V	70 - 80	0.3

2. 酵素活性におよぼす pH の影響

各酵素の至適 pH を求めるために, 各 pH における活性度を調べた。

実験は, 38°C で, 5時間反応させ, 緩衝液は, 1M 酢酸ナトリウム-塩酸系 (pH 1.5~5.5), 0.1M ペロナル-塩酸系 (pH 6.7~8.7) を用い, 酵素液は, サツマイモ水抽出液の 50~80 %硫酸飽和度の分画を用いた。他の反応条件は, 前述のとおりである。

ピロ, トリポリ, トリメタリン酸分解酵素の至適 pH は, 第2図に示すとおりである。



第2図 各種 pH における活性度

基質 { 5 × 10⁻³M Pyro-P (○—○)
 5 × 10⁻³M Tripoly-P (●—●)
 5 × 10⁻³M Trimeta-P (●—●)
 酵素タンパク質量 100γ/ml 反応液
 1M 酢酸ナトリウム-HCl 緩衝液 (pH 1.5~5.5)——
 0.1M ペロナル-HCl 緩衝液 (pH 6.7~8.7)----
 38°C 5時間反応

図から明らかなように, ピロ, トリポリリン酸分解酵素の至適 pH は, 4付近と6~8の2ヶ所に, トリメタリン酸分解酵素の至適 pH は, 4付近にみられる。

即ち、酸性側においては、いずれの酵素も高い活性を示している。また、ピロ、トリポリりん酸分解酵素については、アルカリ側にもピークがみられたが、トリメタりん酸分解酵素にはみられない。

要 約

サツマイモ水抽出液を酵素液として用い、ピロ、トリポリおよびトリメタりん酸の酵素的分解について調べた。

(1) 各硫安の分画には、いずれも、ピロ、トリポリおよびトリメタりん酸分解酵素が含まれており、特にトリメタりん酸分解酵素は、硫安飽和度の高い分画ほど酵素活性が高くなる。

(2) 至適 pH は、ピロ、トリポリおよびトリメタりん酸分解酵素では、いずれも pH 4 付近にあり、ピロ、トリポリりん酸分解酵素には、pH 6～8 にも至適 pH が認められた。

本研究を行なうにあたり、御懇切な御指導をいただいた、本学北里寅男教授ならびに種々の御助言をいただいた桑野安子講師に対し心から感謝する。

(昭和44年5月31日受理)

文 献

- 1) C. Neuberg ; *Biochem. Zs.*, **171**, 485 (1926).
- 2) T. Kitasato ; *ibid.*, **197**, 257 (1928).
- 3) T. Kitasato ; *ibid.*, **201**, 206 (1928).
- 4) E. Thilo ; *Angew. Chem.*, **67**, 141 (1955).
- 5) H. Mattenheimer ; *Biochem. Zs.*, **322**, 36 (1951).
- 6) H. Mattenheimer ; *Hoppe-Seyl. Z.*, **303**, 125 (1956).
- 7) W. S. Pierpoint ; *Biochem. J.*, **65**, 67 (1957).
- 8) 桑野安子, 北里寅男 ; 家政学研究, **30**, (1969) 印刷中。
- 9) 桑野安子 ; 家政学研究, 投稿中。
- 10) 向山和子 ; 昭和44年5月25日, 日本家政学会中部支部総会において発表
- 11) E. Thilo and, R. Rätz ; *Z. anorg. Chem.* **258**, 33 (1949).
- 12) I. Grunze, K. Dostal and E. Thilo ; *Z. anorg. Chem.*, **302**, 221 (1959).
- 13) O. Folin and V. Ciocalteu ; *J. Biol. Chem.*, **73**, 629 (1927).
- 14) C. H. Fiske and Y. Sabbarow ; *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925).