

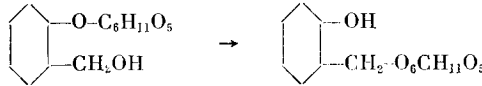
24

Umglucosidierung をなす酵素に就て

三輪 知雄 眞船 和夫 古谷 貞治

(東京文理科大学植物學教室)

フランスの J. Rabaté¹⁾ は、ヤナギ屬 (*Salix purpurea*) 及びシラタマノキ屬 (*Gaultheria procumbens*) の植物の緑葉中に含まれる酵素を Salicin に作用せしめる際、Saligenin の phenol 性水酸基に結合してゐる Glucose は、通常のやうに加水分解を受けて遊離する他に、その一部は同じ Saligenin の第一級アルコール基に轉移することを見出し、



また Phenol- β -glucosid 或は Picein (p-Oxyaceto-phenol- β -glucosid) にこの酵素を作用せしめる際に、その反応液中に少量の Methanol を添加して置く時は、これ等の β -Glucosid の分解に依て生じた Glucose は、Methanol と結合して β -Methyl-glucosid を形成することを報じてゐる。

吾々はこの現象を一層深く追求し、その反応機構を明かにせんとする目的を以てこの研究を行つた。

Rabaté によれば、この合成作用をなす酵素の葉の細胞中に於て、Plasma と堅く結合して存在し、従て酵素溶液として抽出することが出来なかつたので、材料を乾燥粉末とし、反応液中に懸濁して實驗を行つたため酵素性状の研究に對して甚だしい不便があつた。吾々は先づ、この反應に興る酵素を溶液狀に得ることを試み、第二磷酸アムモニウムにアムモニア水を添加して、pH=9 とさせるものを溶出劑として用ひ、オノヘヤナギ、ポプラ、その他の植物緑葉の乾燥粉末中より、該酵素を抽出することに成功した。

さて、先に述べた如き Glucose の轉移が起る爲には、

(1) Phenol 性 β -glucosid

1) *Bull. Soc. Chim. bio.* 17. 572, 1935: 20. 449, 1938.

(2) 第一級アルコール

(3) 酵素

の3種のものの存在を必要とする。後に述べるところの實驗結果より考察すれば、Phenol 性-glycosid は Glucose の Donator, 第一級アル

表1 ヲノヘヤナギ酵素

反應混合液：
 0.048 mol Phenol- β -glycosid 5 cc
 0.2 mol Acetat 緩衝液 pH=4.8 5 cc
 酵素液 10 cc

表中の数値はこの混合液 1 cc 中の Phenol 及び Glucose の量 mg を示す。

(1) 6.25% Methanol 添加

作用時間(時) →	30	72	504	720
Phenol 生成量 mg (實測)	0.446	0.631	0.833	1.014
Glucose 生成量 mg (Phenol 量よりの計算値)	0.892	1.252	1.592	2.127
同上 mg (實測)	0.449	0.571	0.856	1.014
Phenol-glycosid 分解 %	41.3	58.0	73.8	98.6
Methyl-glycosid 合成 %	20.5	31.4	34.2	51.5

(2) Methanol を添加せざるもの

作用時間(時) →	30	72	504	720
Phenol 生成量 mg (實測)	0.350	0.555	0.867	1.039
Glucose 生成量 mg (Phenol 量よりの計算値)	0.670	1.076	1.639	2.075
同上 mg (實測)	0.778	1.206	1.924	2.130
Phenol-glycosid 分解 %	36.0	55.8	89.2	98.6
Methyl-glycosid 合成 %	0	0	0	0

コホルはその Acceptor と考へて宜しからうと思はれる。Glucose の Donator としては、遊離の Glucose は全く作用せず、この場合必ず Phenol 性-glycosid でなければならぬ。

方法としては、Phenol 性-glycosid の分解に依て生ずる Phenol と、遊離状態に在る Glucose とを各別に定量して反應過程を追跡した。第一級アルコールの存在する場合は、Glucose の一部が Alcohol-glycosid

として轉移するために、結局遊離される Glucose の量は、遊離 Phenol の生成に比して少くなるのであるが、Alkohol を添加せぬ對照試験に於ては、Phenol と Glucose とは各 1 分子づつの割合に生ずる。遊離 Phenol の定量は、大體 B. Helferich の方法に従つて行つた。

酵素は、綠葉の脱脂乾燥粉末を約 m/20 第二磷酸アムモニウムにアムモニウム水を加へ、pH=9 とする液に懸濁し、これを室温で數時間振盪することにより抽出した。さらにこれを遠心分離して上澄液を採り、透析

表 2 ポプラ酵素

(條件は表 1 の場合と同じ)

(1) 12.5% Methanol 添加

作用時間 →	75	192	312	768
Phenol 生成量 mg (實測)	0.469	0.673	0.807	1.159
Glucose 生成量 mg (Phenol 量よりの計算値)	0.898	1.289	1.545	2.220
同上 mg (實測)	0.408	0.745	0.778	1.285
Phenol-glucosid 分解 %	41.6	59.6	91.5	102.6
Methyl-glucosid 合成 %	18.9	25.2	35.5	43.3

(2) Methanol を添加せざるもの

作用時間 →	75	192	312	768
Phenol 生成量 mg (實測)	0.227	0.491	0.695	1.146
Glucose 生成量 mg (Phenol 量よりの計算値)	0.530	0.940	1.331	2.201
同上 mg (實測)	0.571	0.955	1.384	2.187
Phenol-glucosid 分解 %	26.4	44.2	64.0	100.5
Methyl-glucosid 合成 %	0	0	0	0

して用ひた。材料としては、主としてヲノヘヤナギ、及びポプラを用ひ、Phenol- β -glucosid と、6.25% (或は 12.5%) Methanol の存在に於ける Methyl- β -glucosid 生成の時間的経過を測定し、表 2 に示す如き結果を得た。

次にこの作用機構のことであるが、これに就ては種々の解釋が考へられる。第一に、綠葉中には分解と合成とを行ふ各々別個の酵素が存在して、一方の酵素による分解の結果生じた Glucose が、第二の酵素によ

つて合成に用ひられるとも考へ得るのであるが、反應液に外部から添加せられた Glucose は、合成に用ひられぬことが分つてゐるから、普通の意味における合成酵素の存在といふことは考へられない。第二には、分解と合成とは全く同一の酵素が行ふものを考へ、その作用は Alkohol の存在せぬ場合は單なる加水分解として現れ、Alkohol の存在に於ては合成が行はれるものと考へるのである。これは Chlorophyllase に就て、從來與へられて來たところの解釋と軌を一にするものである。

第三には、主として通常の加水分解のみを行ふ酵素と、Glucose の、Phenol より Alkohol への轉移のみを行ふ酵素の両者が混在してゐるものと考へるのである。Glucose 殘基の轉移は、生體に於ける „Umaminierung“, „Umphosphorylierung“ と同様の現象と考へられ、„Umglucosidierung“ と呼んで宜しからうと思はれる。

もし第二の場合であるとすれば、Phenol-glucosid 分解と Alkohol-glucosid 合成との兩作用は、酵素材料の如何なる處理に於ても常に連繫的に現れるべきで、獨立的に行動することはないであらう。また第三の場合とすれば、分解と合成とは相互に無關係に、全く獨立の行動をとることが豫想される。

ここに於て吾々は、酵素溶液に對し、熱による不活性化、並びに Kaolin による吸着分別を行ひ、それ等の際分解と合成との再作用が如何に行動するかを觀察した。その結果は 3 表の如くであつた（以下條件は表 1 の場合に同じ）。

これ等の結果よりみるに、分解酵素と Umglucosidierung の酵素とは恐らく別個のものならんと思はれる。即ち加熱により合成に用ひられる Glucose の量比が減少するのは、Umglucosidierung をなす酵素の方が、加水分解のみに干渉するものよりも、一層耐熱性が小なるに因るものと解釋せられ、Kaolin 吸着の溶出液に於て著しく合成の割合の増加するのは、Umglucosidierung の酵素が特に多量に溶出液中に移行したものと説明することが出来やうかと考へられる。なほ同量の溶出液を用ひ Methanol を添加せぬ實驗では、Phenol- β -glucosid 分解は僅かに 0.264mg に過ぎぬに反し、Methanol 添加の場合は 0.840mg に達してゐる。この事實も、溶出液中に比較的少量の Umglucosidierung をなす酵素が存在するために、Methanol のやうな Glucose の Accep-

tor が存するとき、Phenol-glucosid の分解が特に著しく行はれるものとして解釋せられ、この酵素と通常の加水分解による酵素とが異なるものであらうと推測せしめる根據となるものと思はれる。

さらに確實な Umglucosidierung の證據として、Phenol- β -glucosid 及び Metanol (20%) の混合液に酵素を作用せしめ、純粹の Methyl- β -glucosid の結晶、融點 110° を得た。

表 3

作用時間	處理	(1)	(2)	(3)
		Phenol-glucosid から分解された全 Glucose 量 mg	Umglucosidierung に與かつた Glucose 量 mg	Umglucosidierung に與かつた Glucose %
(1) 加熱處理				
6 日	無處理	1.657	0.860	51.9
	45°C 15分	1.590	0.552	34.7
	55°C "	1.213	0.447	36.8
	65°C "	0.655	0.148	22.6
	75°C "	0.160	—	—
10 日	75 5分	1.273	0.639	50.2
	" 10分	0.241	0.046	18.7
	" 15分	0.203	0.030	14.7
(2) カオリン吸着分別				
12.5% Methanol 添加	無處理	1.657	0.827	49.9
	吸着殘液	1.713	0.822	48.0
	溶出液	0.840	0.717	85.3
Methanol 添加なし	溶出液	0.264	—	—

この Umglucosidierung をなす酵素は、植物界にかなりひろく存在するもののやうで、ヲノヘカナギ、ポプラの外、シラタマノキ、シラカベ、タチヤナギ、シダレヤナギ、ネコヤナギ、サクラ、ウメなどの葉及び、ハリエンジュの色、シラタマノキの果實などにこの酵素の存在が證明せられた。

終りに臨み、本研究が服部報公會の援助、並びに文部省科學研究費の一部を用ひて成れるものなることを記して感謝の意を表す。

(受附：昭和 16 年 11 月 26 日)