

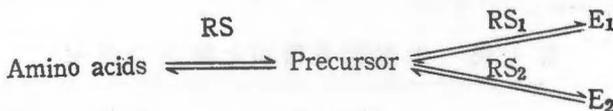
Erwinia のペクチン-ポリガラクトクロナーゼ

產生条件について (第2報)

炭素源の影響

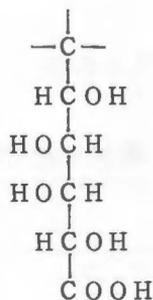
小沢潤二郎・岡本賢一

Erwinia aroideae のペクチン-ポリガラクトクロナーゼ (PG) は適応酵素の部類にはいると考えられている。須田ら (1953) は安息香酸, アンスラニル酸などに対する *Micrococcus ureae* の酵素適応について研究し, 次のような酵素蛋白の生成過程を考えている。



Eは酵素, Sは基質, Rは細胞内反応体

素材であるアミノ酸はまず precursor protein となる。後者は基質の存在の下に特異性を備えた酵素蛋白に分化する。アミノ酸から precursor protein への高分子化の過程でも基質が存在しなければならない。酵素の形成にはまた力源として ATP が使われる。一度形成された蛋白は基質に作用して自らも崩壊し, precursor protein を経て元の蛋白質に合成されて行く。この場合第二の基質が存在すればこれに作用する酵素に転化する。Phaff (1947) は *Penicillium chrysogenum* の PG は培養液にペクチン, トラガカントゴム, 粘液酸, L-ガラクトン酸, D-ガラクトクロン酸の何れかを加えたときのみ生成すると述べている。これらの物質はみな次のような化学構造を持つている。



D-ガラクトクロン酸は PG による反応生成物であつて基質ではない。L-ガラクトン酸, 粘液酸も基質と化学構造の一部が類似した物質にすぎない。invertase や tannase の場合にも反応生成物が酵素の產生を促進するという報告がある。加水分解酵素の適応は須田らの場合と多少趣が異なるかもしれない。

著者らは PG の適応機構の特異性や PG の產生と力源代謝経路との関係について研究を進めたと思つている。酵素の產生は遺伝と環境によつて支配され, 環境の中では栄養素は重要な要素で

ある。適応酵素の場合でも栄養素の中基質のみが酵素の産生を支配するとは考えられない。本報では有機質の PG の産生に及ぼす影響について行った実験結果を述べる。

実 験 結 果

1. 有機窒素源の影響

培養基の組成—ペクチン酸 1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%, 窒素源 0.087% (窒素の含有量), KH_2PO_4 0.2%, NaH_2PO_4 と Na_2HPO_4 を磷酸の全濃度が 0.0573 mol となり, pH が 7.0 となるように加えた。ペプトン加水分解生成物はペプトン (片山ペプトン) 10g に 10% の H_2SO_4 溶液を 50 ml 加え, 100°C に 30 分間, つづいて 120°C に 1 時間加熱し, 活性炭で処理した後, $Ba(OH)_2$ で pH 4.0 まで中和し, 濾過後 N/10 の NaOH 溶液で pH 7.0 に調節したものをを用いた。

培養条件は第 1 報のときと同じにした。また培養液の濁濁度と酵素力価も第 1 報と同じ方法で測定した。第 1 表に実験結果を示した。

第 1 表 窒素源の種類と酵素の産生

	終りの pH	吸光度	N/50 I ₂ 消費量
ペプトン	5.5	0.079	1.16
ペプトン加水分解生成物	6.2	0.121	0.90
アスパラギン酸	7.5	0.198	1.38
グルタミン酸	6.7	0.133	2.94
$(NH_4)_2HPO_4$	6.6	0.090	0.94

グルタミン酸は $(NH_4)_2HPO_4$ に比較して PG の生成をある程度促進するようである。しかしその他の有機窒素源では特別な効果は認められなかった。

2. 炭素源の影響

i. 有機酸 有機酸を 1% と $(NH_4)_2HPO_4$ を 0.087% (窒素含有量) 加え, その他は有機窒素源の実験と同量添加した。

第 2 表 有機酸の種類と酵素の産生

	pH	吸光度	N/50 I ₂ 消費量
ピルビン酸	7.4	0.070	0.07
コハク酸	7.5	0.040	0
フマル酸	9.0	0.102	0.33
リンゴ酸	9.0	0.100	0.21
クエン酸	9.0	0.120	0.06

フマル酸, リンゴ酸には比較的少量の PG の生成を見たが, ペクチン酸の場合に較べて少ない (第 2 表)。乳酸, 酢酸, シュウ酸, 半酸, マロン酸には繁殖しなかつた。

ii. アミノ酸 炭素源としてアミノ酸1%と $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ を加えて培養した結果は第3表のとおりであった。

第3表 アミノ酸の種類と酵素の産生

	pH	吸光度	N/50 I ₂ 消費量
アスパラギン酸	9.0	0.060	0.25
グルタミン酸	7.0	0.013	0.13
ペプトン	7.0	0.046	0.12
ペクチン酸	6.8	0.115	0.87

第4表 アルコールの種類と酵素の産生

	pH	吸光度	N/50 I ₂ 消費量
メチルアルコール	7.0	0	0
エチルアルコール	6.9	0.028	0.01
ブチルアルコール	7.0	0	0
グリセリン	6.9	0.084	0
ペクチン酸	6.9	0.130	0.84

iii. アルコール エチルアルコール、グリセリンには繁殖するけれども、PGはほとんど産生されない。

第5表 糖の種類と酵素の産生

	pH	吸光度	N/50 I ₂ 消費量
D-キシロース	6.2	0.072	0.01
L-アラビノース	6.8	0.094	0.21
L-ラムノース	5.8	0.091	0.17
D-グルコース	6.3	0.093	0.13
D-マンノース	5.6	0.151	0.22
D-ガラクトース	6.0	0.105	0.34
D-フラクトース	6.4	0.085	0.17
ラクトース	6.0	0.100	0.38
シユウクロース	6.4	0.107	0.26
セロピオース	6.4	0.128	0.42
マンニツト	6.4	0.092	0.23
D-グルキニロン酸	6.8	0.079	0.09
D-ガラクチユロン酸	6.6	0.076	0.68
デキストリン	7.0	0.013	0
トラガカントゴム	7.0	0.061	0.25
ペクチン酸	6.8	0.120	0.94

iv. 糖 類 十数種の供試糖類の中でペクチン酸とガラクトキロン酸が PG の産生を顯著に促進した (第 5 表). dulzit, D-sorbit, D-glucuron 酸, 麦芽糖, トロロアオイ粘質物 (トロロアオイ粘質物を 135°C で 30 分間加熱し硫酸銅を加えて沈澱させたトロロアオイ粘質物の骨格物質) には繁殖しなかつた.

v. ペクチン酸の濃度 ペクチン酸の濃度 0.5% と 1% の間ではあまり差異は認められない. 0.3% 以下では菌の繁殖が悪くなつた (第 6 表)

第 6 表 ペクチン酸の濃度と酵素の産生

	pH	吸光度	N/50 I ₂ 消費量
1 %	6.2	0.084	0.72
0.7	6.4	0.075	0.71
0.5	6.8	0.082	0.78
0.3	6.8	0.067	0.53
0.1	6.8	0.026	0.37
0	6.8	0.004	0

vi. ガラクトキロン酸の重合体と粘液酸 炭素源の濃度を 0.5% としその他の条件は前の実験と同じにした. “テトラガラクトキロン酸 b” は Ehrlich の方法で調製した. 実験結果は第 7 表のとおりであつた.

第 7 表 ガラクトキロン酸重合体と粘液酸の影響

	pH	吸光度	N/50 I ₂ 消費量
D-ガラクトキロン酸	7.0	0.073	0.25
γ-ガラクトキロン酸	7.2	0.060	0.25
“テトラガラクトキロン酸 b”	6.8	0.080	0.23
ペクチン酸	6.4	0.099	0.58
粘液酸	7.8	0.060	0.31

第 8 表 炭素源の種類と酵素の産生

	pH	吸光度	N/50 I ₂ 消費量
リンゴ酸	9.0	0.060	0.35
グリセリン	6.8	0.086	0.06
ガラクトーズ	6.0	0.102	0.22
ガラクトキロン酸	6.8	0.115	0.22
粘液酸	7.8	0.068	0.26
ペクチン酸	6.8	0.121	0.81

ガラクトキロン酸重合体の中ではペクチン酸が最も有効であつた. 粘液酸にも繁殖し PG を産生する.

考 察

実験結果はかなり不揃いであるが、ペクチン酸はいつも PG の産生に対して一番有効な炭素源であつた。したがつて実験に用いた *Erwinia* sp. の PG は多少適応的であると言えるかもしれない。しかしペクチン酸とその他の炭素源との差はそんなに大きくはない。ガラクチュロン酸、粘液酸は Phaff の報告と異り特別な促進効果はなかつた(第 8 表)。ペクチン酸の効果は galacturonide 結合のためであるかもしれないが、チガラクチュロン酸、“テトラガラクチュロン酸b” ガラクチュロン酸、粘液酸の間には差異がない。“テトラガラクチュロン酸b” はかなり高分子の重合体であるが、ペクチン酸とは構造上の違いが多少あるようである。しかし結局ペクチン酸の特異な促進効果は現在説明できない。

本研究の費用の一部は昭和 30 年度文部省科学研究費によつた。ここに謝意を表する。

文 献

- Foster, J. W., 1949, Chemical activities of fungi. p. 546.
- 直野司朗他, 1956, 酵素蛋白生合成における precursor state に関して. 酵素化学シンポジウム, 11: 110-118.
- 小沢潤二郎, 岡本賢一, 1956, *Erwinia* のペクチン-ポリガラクチュロナーゼ産生条件について, 第 1 報. 農学研究, 44: 34-38.
- 須田正己, 直野司朗, 1953, 酵素の形成, 相互転化および崩壊における基質の意義. 酵素化学シンポジウム, 8: 27-39.