

エビのプロテアーゼに関する研究— I .

エビ内臓プロテイナーゼの分画*

藤井 実・斉藤義雄・安田誠一**・桑原克彦**

Studies on the Proteinases of Prawn (*Penaeus orientalis* KISHINOUE)—I.
Division and Activities of Proteinases contained
in the Internal Organs of Prawn*

By

Minoru FUJII, Yoshio SAITO, Seiichi YASUDA
and Katsuhiko KUWABARA

Refined enzyme preparations obtained by use of aluminium hydroxide (C7) for adsorption at pH 5, 7 and 8.2 were respectively eluted at pH 7 and 8.2, at pH 5 and 8.2 and at pH 7 and 5; they were so-called as S₇ and S_{8.2}, N₅ and N_{8.2} and A₅ and A₇ as shown in Figs. 1, 2 and 3.

The values of the activity were 49 and 52 for S₇ and S_{8.2}, 32 and 37 for N₅ and N_{8.2}, while 63 and 64 for A₅ and A₇.

The values of the activity for N₅ and N_{8.2} were analogous to that of refined enzyme preparation so-called as "Biopraxe" manufactured from *Bacillus subtilis* var. *Bioters*, and the values of the activity for A₅ and A₇ were analogous to that of refined enzyme preparation so-called as "Pronase" manufactured from *Streptomyces griseus*.

結 言

著者の一人(藤井)¹⁾は、結晶性又は精製蛋白分解酵素の分類を行なう一方法として酵素活性により基質(カゼイン使用)から生成される低分子化合物態窒素の全可溶性窒素に対する比(分解能)を求め、これらの比較値から相互の異同を判定する方法を考案し実験したところ、同じくアルカリ性又は中性プロテイナーゼと呼ばれるものの場合でもその起源を異にする場合、異なる分解能を示すことが明らかとなった。よって

* 水産講習所研究業績 第384号, 1962年6月15日 受理.
Contribution from the Shimonoseki College of Fisheries, No. 384.
Received June 15, 1962.

** 大洋漁業KK

この分類方法を用いてエビ内臓プロテイナーゼ群の分画を行なって、それ等の分解能よりエビ内臓プロテイナーゼ群の構成を考察し併せて内臓における蛋白分解消化のメカニズムに就いて考察した。

実験の部

1) 試料調製

新鮮な大正エビ内臓に水を添加して摺碎し、その抽出液を常法の通り硫酸及びアセトンで処理して濃厚酵素液を得て之を試料とした。

2) 精製エビ内臓プロテイナーゼのカゼイン分解能について

酵素試料の分画方法は前報¹⁾の通りであるが、なお図表で簡単に之を示すことにする。各分画試料のカゼイン分解能は以下の如くであった。

a) pH 5 で吸着し pH 7 及び 8.2 で溶離した場合

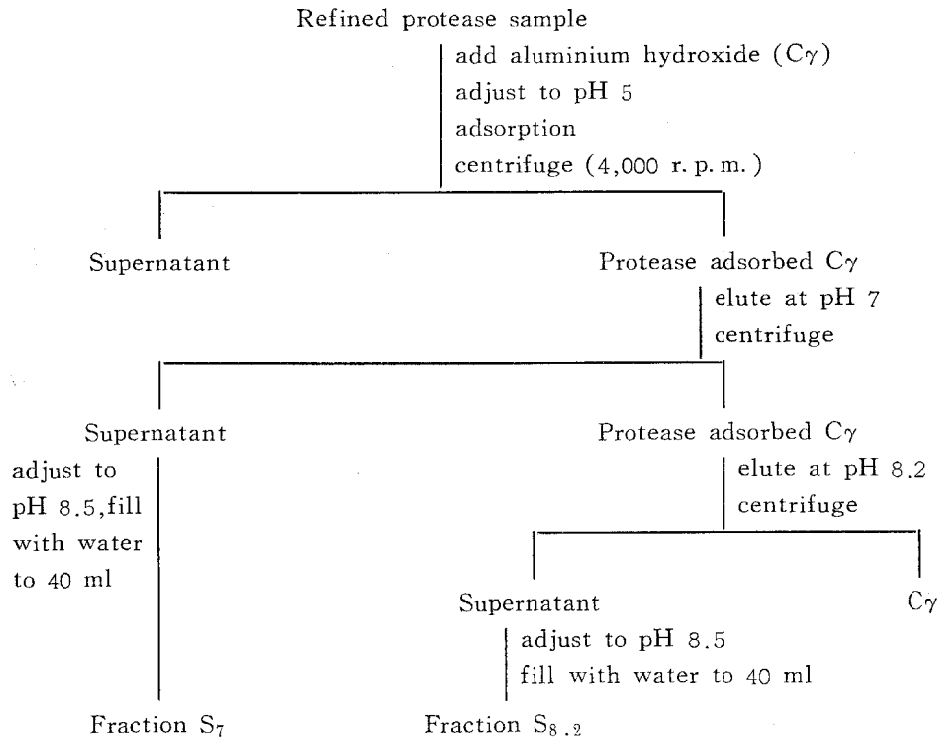


Fig. 1. Showing the preparation of refined enzyme fractions ($S_7, S_{8.2}$).

Table 1. Activity of refined enzyme fractions on the casein.

Fraction	S_7	$S_{8.2}$
Value of measurement		
(Poly-N/N-P-S-N) × 100	50	54

b) pH7で吸着し pH5及び8.5で溶離した場合

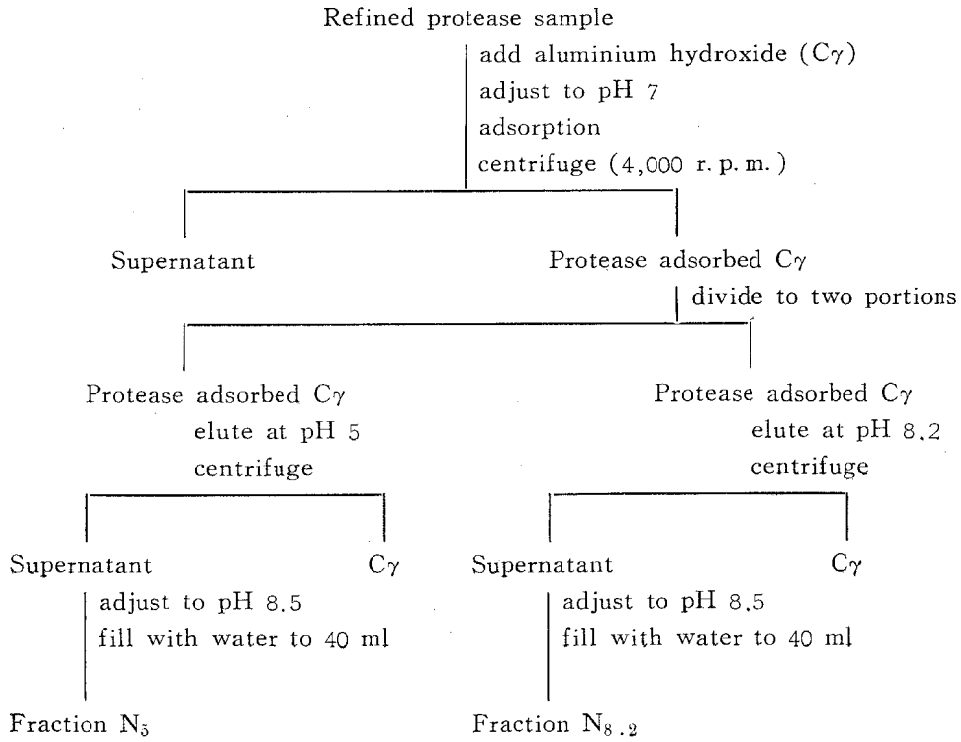


Fig. 2. Showing the preparation of refined enzyme fractions (N₅, N_{8.2})

Table 2. Activity of refined enzyme fractions on the casein.

Fraction	N ₅	N _{8.2}
Value of measurement		
(Poly-N/N-P-S-N) × 100	37	32

c) pH8.2で吸着し pH7及び5で溶離した場合

Table 3. Activity of refined enzyme fractions on the casein.

Fraction	A ₅	A ₇
Value of measurement		
(Poly-N/N-P-S-N) × 100	64	63

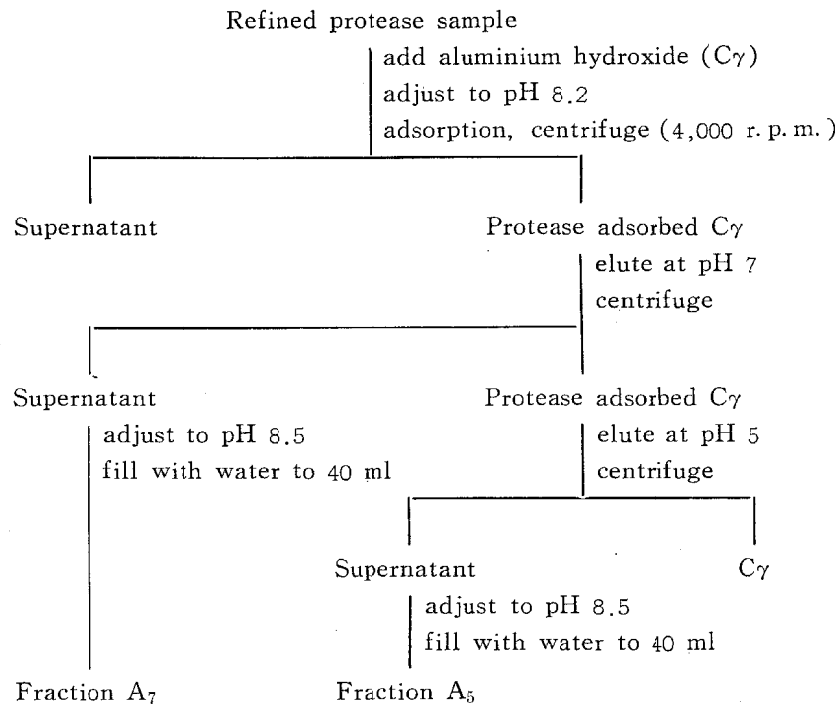


Fig. 3. Showing the preparation of refined enzyme fractions (A_5, A_7)

以上第1～3表の実験結果を述べるに pH 5 及び 8.2 で溶離した精製酵素試料 (第2図) の N_5 及び $N_{8.2}$ は夫々約 37 及び 32 の分解能を示した。同様にして酸性吸着より得られた試料 (第1図) S_7 及び $S_{8.2}$ の分解能は夫々約 50, 54 で、又アルカリ性吸着より得られた試料 (第3図) A_5 及び A_7 の分解能は夫々約 64, 63 であった。吸着条件が同一であるものから異なる pH で溶離する場合、分解能を異にする酵素が得られるであろう事は当然推察される所であるが、併し同一 pH で吸着したものからの溶離試料はほぼ近似的な数値を示した。又溶離処理の場合試料が吸着剤の間隙に残存しないように同一 pH 溶液で洗滌抽出を繰返して (3回行なった) 次の溶出操作に移ったのであるが、前述の洗滌処理が尚不充分であるならば当然その区分の少部分が次の処理区分に混入するわけで、従ってその分解能にもいくらか影響を及ぼすであろう。従って溶離 pH が異なる場合判然と本質的に相違する区分に分画され得るものかどうかを知るために各区分のイオン交換樹脂 (Amberlite IRC-50) による解析を行ないつつあるが、その結果から考えると溶離の pH 条件を異にする試料は同一条件でクロマトグラムを求めた場合、それぞれ異なる位置にピークを示す事実²⁾ から当然両者は分解能をほぼ同じくする異なる区分であると考えざるを得ない。それならば比の実験結果から見ると分解能をほぼ同じくする群より更に2つの区分が得られたことになる。

ひるがえってこれらの分解能の値を哺乳動物より得られた結晶蛋白分解酵素“トリプシリン”や細菌より得られたアルカリ性結晶蛋白分解酵素の夫に比較すると、前者は後の二者にくらべてはるかに分解能が大であり、これに対して $N_5 \sim N_{8.2}$ は上記の細菌性精製酵素“ピオプラナーゼ”の分解能にやや似ており、 $A_5 \sim A_7$ は放線状菌より得られた精製酵素“プロナーゼ”の分解能に匹敵するようと思われる。そして $S_7 \sim S_{8.2}$ は N と A の中間値を分す分解能を示している。いずれにしてもエビ内臓プロテイナーゼの分解能は 32～64 という範囲の非常に高い数値を示している。これはエビの蛋白消化が硬骨魚類のそれに比較して一つの特異性を示しているものと考えることが出来る。

総 括

エビ内臓プロテイナーゼをその水酸化アルミニウム (C γ) に対する吸着性の差異を利用して分画しそれらのカゼインに対する分解能を測定した。その結果は次の通りである。

酸性 (pH 5), 中性 (pH 7) 及びアルカリ性 (pH 8.2) で吸着分離を行なった後, それぞれ溶離を行なって得た酵素群の分解性はそれぞれ 49~52, 32~37, 63~64 の範囲の数値を示した。これは哺乳動物, 硬骨魚類のプロテイナーゼの分解能よりはるかに高い数値を示し, 細菌性 “ビオプララーゼ” (分解能: 30~31), 放線状菌 “プロナーゼ” (分解能: 57~65) に近い値を示した。

この論文の概要は日本水産学会秋季大会 (昭和36年度, 鹿児島市) に於て発表した。

文 献

- 1) 藤井 実, 1961: 本報告, **10** (3).
- 2) 藤井実・富田輝雄, 1961: 日本水産学会秋季大会発表.