Penicillium notatum の Amidase 作用に就いて

On the Amidase of Penicillium notatum

京都大學 醫學部醫化學教室 津 田 信 慶 (N. Tsuda)

⁽¹⁾ Dox は penicillium camemberti について Urea, Asparagine, Biuret, Benzamide 等の分解酵素の存在を證明した。

⁽²⁾ Shibata 又 ⁽³⁾ Pringsheim は Pilz-Amidase を檢し, Urea, Biuret, Acetamide, Benzamide, Oxalamide, Asparagine, Hippuricacid 等の分解作用を證明した。Schmalfuss 及び ⁽⁴⁾ Mothes は Aspergillus niger に依る L-Asparagine, Urea, D-glutamine 等の分解について報告している。⁽⁵⁾ Quastel 及び ⁽⁶⁾ Woolf 又 Virtanen 及び Tarnanen の細菌 Aspartase の報告について ⁽⁷⁾ Imaizumi 等は細菌-Amidase を檢し, Urea, Biuret, Cyanuric acid, Acetamide, Benzamide, Oxalamide 等の分解酵素を認めた。

本文に於いては, Penicillium notatum の乾燥粉末又は磨潰液について, その Urease, Asparaginase, Aspartase, Glutaminase, Acetamidase, Arginase, 並に Glucosamine-aminase に就いて試験した成績を報告する。

實 験 の 部

1) 酵素液; Czapek-Dox 培養により, Penicillium 産生試験に使われた菌體を生理的食鹽水にて 3 回洗滌したものに, その重量の 3 倍容量 Glycerine-水 (1:1) を加えて, よく磨潰したものをトルエン下に氷室に保存し, これを酵素液として使用した。

2) 試験液; 1.0cc. 0.1M. 基質溶液に, 10.0cc. 燐酸鹽緩衝液を加えた液に 2.0cc. 酵素液

第 1 表 尿素分解試験

安門中和酸値 (cc. 0.02N H ₂ SO ₄)				
pH6.0	pH6.5	pH7.0	pH7.5	pH8.0
1.60 (16.0%)	3.14 (31.4%)	<u>3.86</u> (38.6%)	3.54 (35.4%)	2.85 (28.5%)

第 2 表 アスパラギン, グルタミン, アスパラギン酸, グルタミン酸の分解試験

基 質	pH	安 門 中 和 酸 値 (cc. 0.02 N H ₂ SO ₄)					
		pH6.0	pH7.0	pH7.5	pH7.8	pH8.0	pH8.5
アスパラギン		0.42 (8.4%)	<u>3.45</u> (69.0%)	<u>3.51</u> (70.2%)	2.19 (43.8%)	0.38 (7.6%)	—
グルタミン		1.88 (37.6%)	2.40 (48.0%)	—	2.54 (50.8%)	<u>2.86</u> (57.2%)	2.36 (47.2%)
アスパラギン酸		—	1.20 (24.0%)	<u>2.22</u> (44.4%)	2.30 (46.0%)	1.80 (36.0%)	—
グルタミン酸		0	0	—	—	—	—

(菌體磨潰液)を混和したものをトルエン下に 37°C, 24 時間温置する。

Arginine 分解試験には 1.0cc. 0.1M. 鹽酸 Arginine 液(中和)に Glycine-NaCl-NaOH 緩衝液を加えたものをトルエン下に 24 時間温置した後, 0.1N. H_2SO_4 で中和し, 加熱して酵素を失活さす。冷後これに大豆粉

の 5 倍量 Glycerine 水 (1:1) 磨潰液の 2.0cc. 及び磷酸緩衝液 (pH7.0) の 3.0cc. を加え 37°C 1 時間置いて生成尿素を完全に安門に分解さす。Arginine 賦活劑としては 1.0cc. 0.02M. $MnSO_4$ 液を使用した。

3) 對照; 基質のかわりに蒸溜水 1.0cc. を使用した。

第3表 Arginine 分解試験

分解 基質	安門中和酸値 (cc. 0.2N H_2SO_4)			
	$MnSO_4$ を加えず		$MnSO_4$ を加う	
	H_2SO_4 消費 cc.	分解 %	H_2SO_4 消費 cc.	分解 %
Arginine	0.80	8.0	4.49	44.9

第4表 種々 Amide の分解試験

基質	pH	安門中和酸値 (cc. 0.02N H_2SO_4)				
		pH5.0	pH6.0	pH7.0	pH8.0	pH9.0
Biuret		0	0	0	0	0
Thiourea		0	0	0	0	0
Berzamide		0	0	0	0	0
Acetamide	—	0	2.26 (45.2%)	0.54 (10.8%)	—	—
Salicylamide	0	0	0	0	0	0
Glucosamine	—	0.13 (2.6%)	0.27 (5.4%)	0.42 (8.4%)	—	—
Creatine	0	0	0	—	0	0

37°C 24 時間温置した試験液中に生成した安門を, 又 Arginase 試験に於いては生成尿素を更に安門として, Folin 氏法で定量した。直後値並に對照値を差引いた値を分解安門値として, その中和に要した 0.02N. H_2SO_4 値 (cc.) を表に掲げた。

成績及び考察

Penicillium notatum の 磨潰液について, その Urease, Asparaginase, Aspartase, Glutaminase, Acetamidase, Arginase, 及び Glucosamine-aminase の存在を確認した。

Urease の opt. pH は 7.0 にあり (第1表) その作用は細菌に見る様に強力とは云えない。Asparaginase の opt. pH は 7.0~7.5 に, Aspartase の opt. pH は 7.5~7.8 にある (第2表)。

Glutaminase の opt. pH は 8.0 にある (第2表)。

Asparagine 分解と Glutamine 分解の至適 pH は全く一致したとは云えないので, 兩酵素は異なるものであらうと想像する。Glutamine 酸よりは安門發生を認めなかつた (第2表)。

Asparagine 酸を分解して, Glutamine 酸を分解しないのは特殊の Aspartase の存在を想像させるもので, これは細菌類に見る所と一致しているようである。

Arginase を證明し (pH9.2), その $MnSO_4$ 賦活も認めたが, その作用は特に強力なものではなかつた (第3表)。

Acetamidase は pH 7.0 附近で最も良く分解作用を示した。Benzamide は全く分解されな
いで、特殊の Acetamidase を考えてよいのではないかと思う。H. Saito⁽⁸⁾ の報告によれば、多
くの細菌は弱いながら Benzamide を分解した。この点は細菌と糸状菌との異なる性状とも考
えられる。Glucosamine よりは pH 8.0 に於いて僅かに安門発生を認めた。これについては
更に研究すべきものと思う。

Biuret, Benzamide, Salicylamide 及び Creatine 等よりは安門の発生を證明しなかつた。
更に酵素液を 37°C 24 時間トルエン下に自解 (Autolysis) を行つたものを使つて、これら
の非分解基質につき、48 時間温置試験を行つたが安門発生を認めなかつた。

綜 括

1) *Penicillium notatum* 菌體の磨潰液について次の Amidase 作用を證明した。Urease
(pH7.0), Asparaginase (pH7.0~7.5),* Aspartase (pH7.4~7.8), Glutaminase (pH8.0),
Acetamidase (pH7.0), Arginase (pH9.2) 及び Glucosaminase (pH8.0)。

2) Biuret, Thourca, Benzamide, Salicylamide 及び Creatine よりの安門発生を認めな
かつた。

本研究の材料を分與された阪大中村教授に感謝の意を表す。

文部省科學研究費の補助を得たので茲に謝意を表す。

文 献

- 1) A. W. Dox : J. Biol. Chem. 6, 461 (1909). 2) K. Shibata : Beit. Chem. Physiol. Pathol. 5, 384
(1904). 3) H. Pringsheim : Biochem. Z. 12, 15 (1903). 4) K. Schmalfuss, K. Mothes : Biochem.
Z. 221, 134 (1930). 5) J. H. Quastel, B. Woolf : Biochem. J. 20, 545 (1926). 6) A. I. Virtanen,
J. Tarnanen : Biochem. Z. 250, 193 (1932). 7) T. Imaizumi : J. Biochem. 27, 257 (1938). 8) H.
Saito : J. Biochem. 34, 49 (1941).