幽門垂蛋白分解酵素に関する研究—V.

メバチ幽門垂蛋白分解酵素の結晶分離

斗ヶ沢宣久・勝又 悌三・栗谷川正光・田中 秀雄

(1961 年 1 月 12 日受理)

STUDIES ON THE PROTEINASE OF PYLORIC CAECA—V. PREPARATION OF CRYSTALLINE PROTEINASE FROM THE PYLORIC CAECA OF BIGEYE TUNA, *PARATHUNNUS SIBI*

Yoshihisa TOGASAWA, Teizo KATSUMATA, Masamitsu KURIYAGAWA
and Hideo TANAKA*

The proteinase in the pyloric caeca of bigeye tuna, *Parathunnus sibi*, was isolated according to the procedure described in Fig. 1 in a crystalline state (Fig. 2).

Total activity of the crystalline enzyme corresponded to 2.7% of that of the original water extracts, and the specific activity of it was 21.1 times as high as that of the water extracts (Table 2).

前報¹⁻³⁾において鮪および鰹幽門垂 proteinase を結晶として分離し報告したが、このたびメバチ *Parathunnus sibi* TEMMINCK et SCHLEGEL 幽門垂の proteinase を結晶状に分離したので、その結果を報告する。

実験の部

三陸沿岸で水揚げされた新鮮なメバチの磨砕幽門垂 1400g に 3 倍量の蒸留水を加え、抽出液をガーゼおよび脱脂綿で濾過して得た不透明酵素液を原液とし、以下前報³⁾に準じ、Fig. 1 に示す方法で proteinase

Fig. 1. Simplified scheme of crystallization procedure of bigeye tuna, *Parathunnus sibi*, pyloric caeca proteinase.

* 岩手大学農学部 (Fac. Agr. Iwate Univ., Morioka, Japan).

Fig. 2. Crystals of the proteinase obtained from bigeye tuna, *Parathunnus sibi*, pyloric caeca ($\times 300$).

の各過程における収量（酵素原液中の酵素単位で各精製過程における酵素単位を除し、これを百分率で表わしたもの）ならびに比活性度（proteinase unit/protein-N mg）は Table 2 のごとくである。なお表中、収量、比活性度は前報⁵⁾記載に従い算出した。その結果によると、結晶 proteinase の収量は酵素原液に対して 2.7%，比活性度は 21.1 倍であった。

の精製を行なった。すなわち、Duolite A-2 脱色を透析前に行ない、透析直後に rivanol (0.06%)—酸性白土 (1%) で処理し、最後に冷所アセトン処理して得られた結晶 proteinase を冷 55% アセトン 1ml で攪拌洗滌、遠心分離により洗液を捨て、この操作を 3 回繰り返した後真空乾燥して結晶 proteinase 18 mg を得た (Fig. 2)。酵素力測定のためはこれを 0.1N ammonium buffer (最終 pH 6.0) に溶解し供試した。このさい酵素力測定法、酵素単位表示法、酵素純度表示法、イオン交換樹脂の調製などはすべて前報¹⁻⁵⁾に従って行ない、精製過程における proteinase の酵素力を Table 1 に示した。また proteinase

Table 1. Activities of fractions of the proteinase.

Fractions Hrs. of hydrolysis	A	B	C	D	E	F
1	0.06	0.06	0.11	0.08	0.08	0.07
2	0.12	0.15	0.13	0.10	0.11	0.09
3	0.17	0.20	0.17	0.14	0.15	0.10
6	0.24	0.26	0.24	0.18	0.18	0.13
20	0.42	0.46	0.45	0.42	0.40	0.24

Figures denote ml of N/100 alc. KOH.

A: Original distilled water extracts of bigeye tuna, *Parathunnus sibi*, pyloric caeca.

B: Celite filtrate of A.

C: Elute 1.

D: Elute 2.

E: Dialyzed proteinase solution, diluted to 1/5 in the case of measurement of proteinase activity.

F: Crystalline proteinase solution.

Table 2. Yields and specific activities of fractions of the proteinase.

	A*	B*	C*	D*	E*	F*
Volume (ml)	4550	4250	500	500	160	100
Total protein N (mg)	2219.5	869.6	165.2	110.2	90.6	2.7
Total proteinase unit	364000	340000	73333	53333	85333	9333
Yield (%)	100	93	20.1	14.7	23.4	2.7
Specific activity	164	391	444	483	942	3457
Ratio of specific activity to A	1	2.4	2.7	3.0	5.7	21.1

* See the foot-notes in Table 1.

要 約

メバチ磨碎幽門垂の水抽出液を硅藻土ろ過し, Amberlite XE-64 を用いて酵素を吸着させ, amylase 除去, proteinase 溶出, 硫酸塩析, Duolite A-2 脱色, 透析, rivanol-酸性白土処理, アセトン沈澱を経て, 結晶 proteinase を得た。収量は酵素原液に対して 2.7%, 比活性度は 21.1 倍であつた。

文 献

- 1) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **25**, 122 (1959).
- 2) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **25**, 402 (1959).
- 3) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三・石川雅司: 本誌, **25**, 470 (1959).
- 4) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **23**, 157 (1957).
- 5) 斗ヶ沢宣久・勝又悌三: 本誌, **23**, 163 (1957).