

Irrex-Cellulase の endo と exo 型成分によるセルロースの水解機序

(信州大・工) の神田 鷹久, 若林 知正 (日大・農獣医) 西沢 一俊

1. 目的 Cellulase は水解機能により、従来より C_1 , C_x の 2 種類の存在が知られてきたが、最近種々の菌より特異性の異なる数種の成分が精製され、特に exo-型成分が単離されてからこれらの成分の存在が肯定的に示されてきている。さきと私共は *E. lacteus* より得た市販の cellulase 標品 (Driselase) から種々の column chromatography の組合せにより、基質を G_2 (cellobiose) 単位で水解する exo-型とラングムに作用する endo-型の特異性を持った異なる 2 成分を精製し、それぞれを Ex-1, En-1 と名付けこれらの示す諸性質を比較検討した。^{1,2)}

今回はこれらの両酵素成分について主として cellulose の水解機序を究明するために、cello-oligo 糖から native cellulose に至る種々の基質に対する水解特異性を調べ、さらに cellulose の構造上の面から検討を加えた。

2. 方法 基質として cellooligo 糖 ($G_3 \sim G_6$), cello-dextrine ($DP=20$), CMC-cellulose (CMC), alkali-cellulose, viscose rayon, Avicel, cotton, Valonia-cellulose および合成基質の p-nitrophenyl β -D-cellobioside (PNPC) を用い、両酵素成分による水解生成物を paper chromatography により同定し、また各基質について還元力 (R.S.) の増加と重合度 (DP) の減少との相互関係および相補助効果などを調べた。なお R.S. は Somogyi-Nelson 法により DP は cadoxen 溶液を用いた粘度法により測定した。

3. 結果 上記の基質に対して、Ex-1, En-1 は水解の強弱は異なるがすべてに作用し、最終生成物として En-1 は G_2 の他に種々の oligo 糖を、一方 Ex-1 は G_2 を生成した。CMC, cotton, Avicel などの水解において両酵素成分は相補助作用を示し、CMC に対してはその作用は弱い。他の基質に対しては強い作用を示した。これは CMC の水解が反応初期には両酵素成分ともすばやく進むが、その後 Ex-1 は置換基の影響により水解が止まり、その結果相補助作用も比較的小さいものと考えられる。

Valonia-cellulose, cotton, alkali-cellulose, および viscose rayon を用いて DP の減少と R.S. の増加を同時に調べた結果、Ex-1 はこれらの基質に対して高い R.S. 増加を示すが、DP 減少は但し、一方 En-1 はこの逆に DP 減少が大きい、R.S. 増加は小さい。この傾向は cellulose I に属する Valonia-cellulose や cotton に顕著にみられ、cellulose II に属する viscose rayon および alkali-cellulose に対してはあまり顕著ではない。これらのことから DP の減少と R.S. の増加の相互関係は cellulose の分子鎖の配向性や結晶化度の違いおよび fluffy の構造などにより大きく異なってくるものと考えられる。

1) Kanda T, Nakakubo S, Watabayashi K, Nishizawa K: J. Biochem 84, 1217 (1978)

2) Nishizawa K, Kanda T, Watabayashi K: ACS/CSJ Chemical Congress, 1979 年