The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

$\Delta(F)$が負の値を有することは剪断ストレスが大であるとき流れの率が減少し，ストレスが小なるとき流れの率が増加することを表している．酵素を加えたため，溶液内の溶質分子のからまり状態が変り急激なストレスに対しては流れを止めるのであろう．

還元力測定法 (CMC 濃度0.250%) によるセルロース分解酵素活性測定をFig. 7に示す．酵素反応の初期(10分後)における還元力増加は酵素濃度に比例し，酵素活性測定法として用いうる．

要 約

CMC 溶液は 0.050% 以下の濃度ではニュートン流体として挙動する．セルロース分解酵素の活性測定法においては CMC 濃度0.050%において，反応初期3分以内で，粘性減少率40%以内の場合に酵素濃度と活性は比例関係にある．

粘性係数の補正項 $\Delta(F)$ は酵素反応初期において急激に変化し，$\Delta(F)$は負の値をとり，反応が進むにつれて元に戻る．

還元力測定法による酵素活性測定法は CMC 濃度0.250%にて反応時間10分の反応値をもつて，酵素濃度と活性値とは比例関係にある．

本実験を行うにあたり，御指導賜つた九州大学農芸化学教室阿久根孟教授，及び菌株を提供していただいた古河電気工業株式会社中央研究所香月國良氏に厚く感謝いたします．

文 献

(1) 日本化学会編：実験化学講座，24巻，282頁，(1958) 丸善．

(2) I. Krieger, S.H. Maron : *J. Applied. Phys.*, **24**, 147 (1952).

(3) I. Krieger, S.H. Maron : ibid., **25**, 72 (1954).

(昭和37, 12, 27受付)

〔醱工 第41巻，第4号，p. 231～235, 1963〕

9) セルロース分解酵素について

(III) セルロース誘導体に対する作用

渡 辺 敬 (山口大学教育学部)

Studies on Cellulolytic Enzymes

(III) The Action of Cellulolytic Enzymes for Cellulose Derivatives.

Takashi Watanabe (Institute of Fiber, Yamaguchi University, Yamaguchi)

This paper reports on the action of cellulolytic enzymes on two different cellulose derivatives. One derivative contained methxyl groups and the other contained methoxyl and propylene glycol groups with cellulose.

The optimum pH of this enzyme activity on methyl cellulose solution was 4.0 and on methyl-propylene glycol was 5.0 by viscometric determination.

On the other hand, optimum pH on methyl cellulose solution was 5.0 and on methyl propylene glycol cellulose solution was 6.0 as determined by the analysis of the reducing power produced.

The optimum temperature for this enzyme activity was 40 C for both cellulose derivatives using both methods of analysis.

The viscosity of these cellulose derivative solutions behaved unlike common macromolecular solutions because the correction term $\Delta(F)$ of these solutions were always minus values.

Through the action of the enzyme, the value of $\Delta(F)$ became more negative but as time passed the value returned to the original value.

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

緒 言

前報[1)2)]においてCMC溶液に対するセルロース分解酵素の挙動を報告したが，他の水溶性セルロース誘導体について調べることは活性測定法だけでなく，酵素の基質特異性を知る上に寄与するものと思われる．メトキシル基を有するセルロース誘導体，及びメトキシル基とプロピレングリコール基双方を有するセルロース誘導体はそれら置換基の置換度の一定範囲内においてよく水にとけるので，セルロース分解酵素の基質として適当と思われる．

実験材料及び方法

粘性測定はオストワルド粘度計を用い，還元糖測定は銅試薬法によつた．セルロース分解酵素標品は *Chaetomium globosum* をフスマ培地培養後pH7.0の McIluvaine 緩衝液にて抽出し，遠沈し浮游物を除いた粗酵素標品を用いた．使用したメチルセルロース[3)]はメトキシル基の置換度1.64～1.92であり，又メトキシル基及びプロピレングリコール基を有するセルロース誘導体(以下これをメチル—プロピレングリコールセルロースと称する)のメトキシル基の置換度1.08～1.42，プロピレングリコール基の置換度0.1～0.3である．

実験結果及び考察

メチルセルロース及びメチル—プロピレングリコールセルロース溶液のpH及び温度の変化による相対粘度の変化をFig. 1及びFig. 2に示す．前報に述べたCMCに比較して，特にpHの変化に対してひじように安定である．温度変化に対してもCMCよりいくぶん安定である．

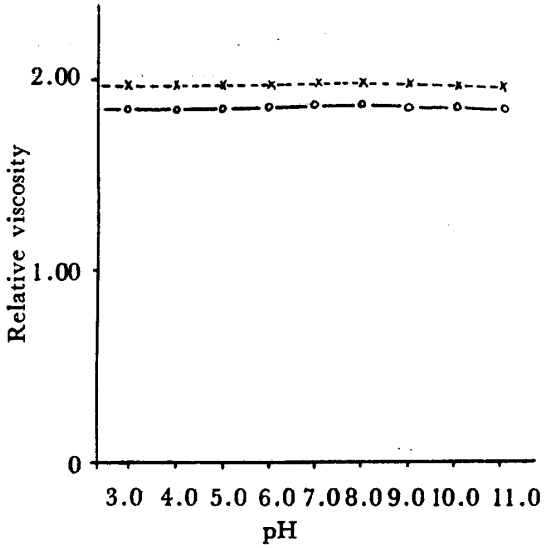

Fig. 1. The influence of pH on viscosity in solutions of various cellulose derivatives.
Temp. 30℃ ; concentration of cellulose derivatives 0.250%.
——○——methyl cellulyse
……×……methyl-propylene glycol cellulose

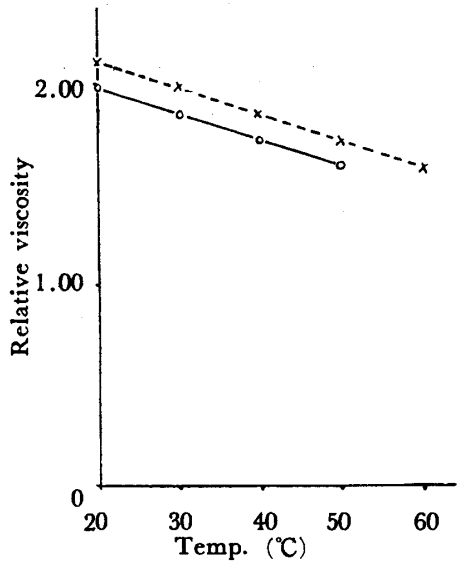

Fig. 2. The influence of temperature on viscosity in solutions of various cellulose derivatives.
pH 4.0 ; concentration of these derivatives 0.250%.
—○—methyl cellulose
…×…methyl-propylence cellulose

メチルセルロース溶液は60℃以上において，又メチル—プロピレングリコールセルロース溶液は70℃以上において凝固し絮状物を生じ，これを冷却すれば又元の透明な溶液に返る．

セルロース分解酵素を作用させたときの酵素作用に対するpHの影響をFig. 3（粘性的測定）及びFig. 4（還元力測定）に示す．粘性的測定によると最適pHはメチルセルロースの場合pH4.0であり，メチル—プロピレングリコールセルロースの場合pH5.0である．還元力測定法によれば最適pHはメチルセルロースの場合pH5.0であり，メチル—プロピレングリコールセルロースの場合pH6.0である．この場合興味あることは粘性的測定によればプロピレングリコール基を有するセルロース誘導体がより酵素作用をうけるのに反し，還元力測定法によるとメトキシル基単独のセルロース誘導体がより酵素作用をうけることである．尚，プロピレングリコール基が入つ

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

ているものはメトキシル基単独のものに比して最適pHがアルカリ側に移動する.

酵素作用に対する温度の影響をFig. 5 (粘性的測定) 及びFig. 6 (還元力測定) に示す. いずれの場合でも最適温度は40℃であり, メチループロピレングリコールセルロースの方が酵素作用をうけやすい.

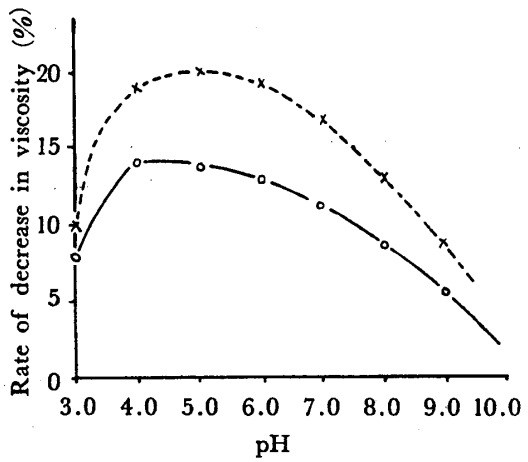

Fig. 3. The influence of pH on enzymatic activity.
Temp. 30.℃ : concentration of substrates 0.250%.
—○—methyl cellulose
··· × ···methyl-propylene glycol cellulose

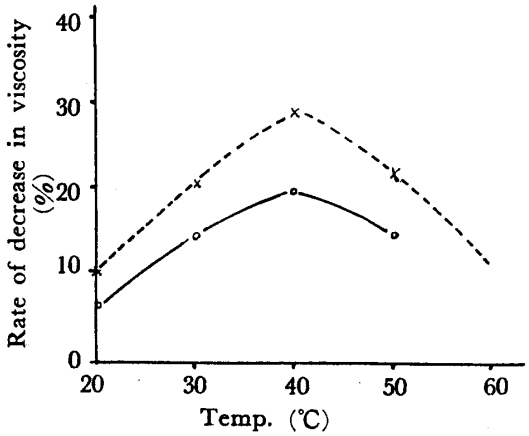

Fig. 5. The influence of temperature on enzymatic activity. pH methyl cellulose : 4.0, methyl-propylene glycol cellulose : 5.0. Concentration of substrates 0.250%, time of incubation 10min.
——○——methyl cellulose
····· × ·····methyl-propylene glycol cellulose

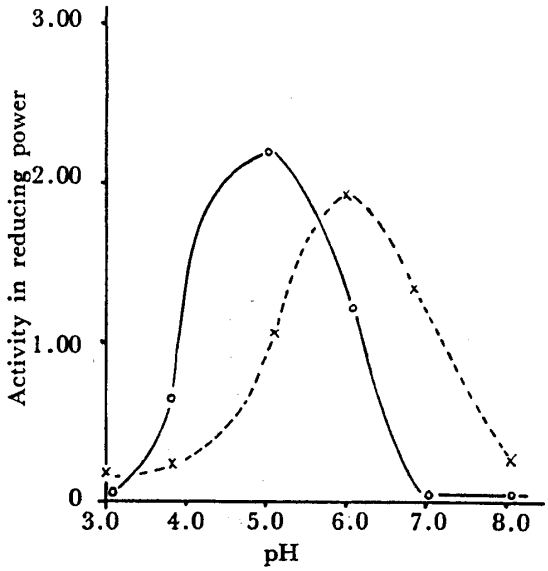

Fig. 4. The influence of pH on enzymatic activity.
Temp. 40.℃ ; concentration of substrate 0.250% ; time of incu-bation 10min.
——○——methyl cellulose
····· × ·····methyl-propylene glycol cellulose
Activity in reducing power : expended volume (ml.) of 0.05N $Na_2S_2O_3$ solution.

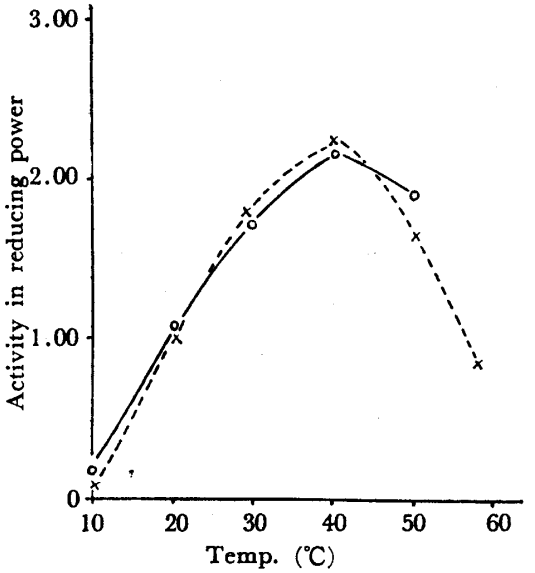

Fig. 6. The influence of temperature on enzymatic activity.
pH methyl cellulose : 5.0, methyl-propylene glycol cellulose : 6.0. Concentration of substrates 0.250%, time of incubation 10min.
——○——methyl cellulose
····· × ·····methyl-propylene glycol cellulose
Activity in reducing power : expended volume (ml.) of 0.05N $Na_2S_2O_3$.

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

メチルセルロース及びメチループロピレングリコールセルロース溶液の粘性的性質について Krieger and Maron の式によりその濃度変化による異常粘性について調べた結果を Fig. 7 及び Fig. 8 に示す．前報に述べた CMC と異なり，両セルロース誘導体とも通常の高分子溶液とは異なつた挙動を示している．通常の高分子溶液では $\frac{\log \phi_a}{\log F_m}$ は正の値を示し，溶液を希薄にした場合 $\Delta(F)$ は0になるのであるがメチルセルロース及びメチループロピレングリコールセルロースの場合には $\Delta(F)$ は負の値をとり，希釈した場合にでも $\Delta(F)$ は0にならず，濃厚溶液の場合と同じく負の値をとる．

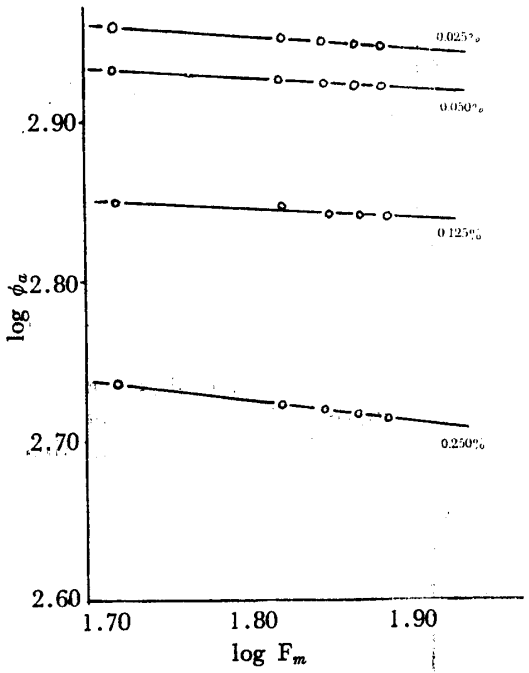

Fig. 7. The change of $\Delta(F)$ by concentration of methyl cellulose solution.
pH 4.0 ; Temp. 30℃.

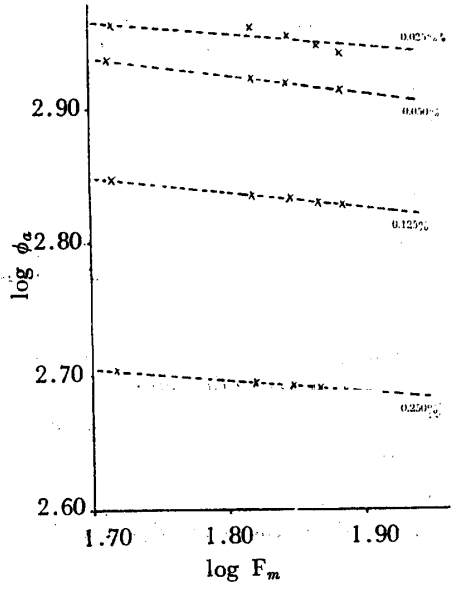

Fig. 8. The change of $\Delta(F)$ by concentration of methyl-propylene glycol cellulose solution.
pH 5.0 ; Temp. 30℃.

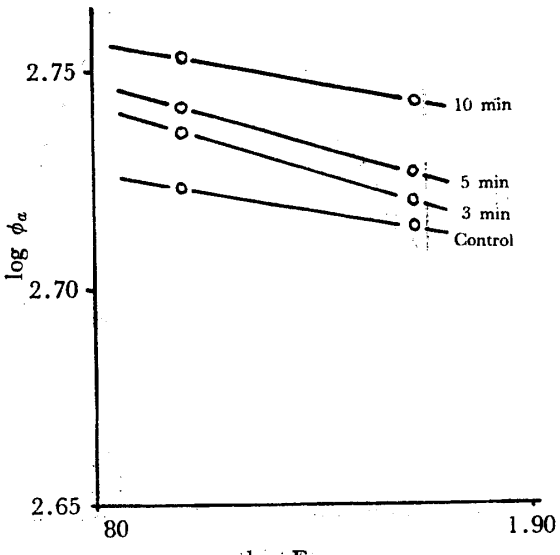

Fig. 9. The change of $\Delta(F)$ in enzymatic action. Concentration of methyl cellulose 0.250%, pH4.0 ; temp. 30℃.

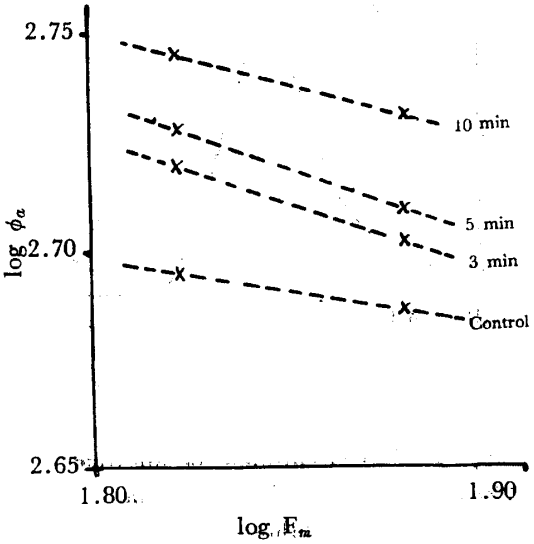

Fig. 10. The change of $\Delta(F)$ in enzymatic action. Concentration of methyl-propylene glycol cellulose 0.250%.
pH 5.0 ; temp. 30℃.

NII-Electronic Library Service

The Society for Bioscience and Bioengineering, Japan

酵素反応中に$\Delta(F)$がどのように変化するかをFig. 9及びFig. 10に示す. この場合基質濃度は0.250%であつた. いずれの場合においても反応開始後$\Delta(F)$はその負の値が高くなり, 反応時間が経つにつれて元の状態に帰る.

要 約

メチルセルロース及びメチル—プロピレングリコールセルロースに対するセルロース分解酵素の作用を検討した. 粘性的測定によれば酵素作用の最適 pHはメチルセルロースでpH 4.0であり, メチル—プロピレングリコールセルロースの場合pH5.0である. 還元力測定では最適pHはメチルセルロースの場合 pH5.0 で, メチル—プロピレングリコールセルロースの場合pH6.0である. 両セルロース誘導体に対する酵素作用の最適温度はいずれの測定法によつても40℃である.

両セルロース誘導体はその粘性的性質において通常の高分子溶液とは異なる挙動をなし, 粘性係数の補正項$\Delta(F)$が常に負の値をとる. 尚, 酵素作用中$\Delta(F)$は変り, 時間の経過と共に元に帰る (10分後).

本実験を行なうにあたり御指導いただいた門平潤一郎教授, 九州大学阿久根了教授に厚く感謝いたします.

尚, セルロース誘導体を寄贈いただきました日進化成株式会社及び信越化学工業株式会社に謝意を表します.

文 献

(1) 渡辺: 第1回セルレースシンポジウム
(2) 渡辺: 本誌, **41**, 228 (1963).
(3) 信越化学工業株式会社: Metolose について.
(4) I. Krseger, S.H. Maron: *J. Applied Phys.*, **24**, 147 (1952); **25**, 72 (1954).

(昭和 37, 12, 7 受付)

〔醱工 第41巻, 第4号, p. 235～240, 1963〕

10) β-D-1,6 グルコシド結合分解酵素に関する研究

放線菌 strain No. OP-4-5 の生産する lutease の諸特性

中村典郎・田辺 脩 (工業技術院発酵研究所)

Studies on an Enzyme Capable of Splitting β-D-1, 6-Glucosidic Linkage
Some Properties of Lutease Produced by *Streptomyces* strain No. OP-4-5

Norio Nakamura and Osamu Tanabe (Fermentation Res. Inst., Inage, Chiba)

In a previous paper, it was reported that the higher molecular weight luteose which consisted of β-1,6 linked glucose units was made by Ren. aculeatum var. apiculatum. The isolation of the microorganism which is able to produce lutease (β-1,6-glucan-6 glucanohydrolase and some properties of the lutease are described in this paper. The optimum reaction temperature for the enzyme was about 40 C, and the optimum pH was about 6.7. At the maximum degree of the hydrolysis, only glucose and gentiobiose were detected, and at this point, the hydrolysis degree of higher molecular weight luteose was about 55 per cent as glucose. The formation of lutease was induced by the addition of higher molecular weight luteose.

緒 言

微生物の各 β-glucanase については多くの研究が報告されているが, それらの中で β-1.6 glucanase についての研究は, β-1.2[1], β-1.3[2][3], β-1.4[4] 等の各 glucanase よりも少ししか報告されていない. P. Kooiman[5] は *Myrothecium*-cellulase がわずかではあるが β-1.6glucan に作用することを報告し, Y. Satomura[8] は, *sclerotinia* の酵素は酵母および *sclerotium* glucan の β-1.2 および β-1.6 linkage に作用するが *Rhizopus* の酵素は主として β-1.6 linkage だけに作用することなどを報告しているが, いずれにしても β-1.6 glucanase を主体とした研究は, 保存菌株の β-1.6glucanase についての E.T.Reese ら[6] の最近の報告を除いて殆どみあたらない. このよう

NII-Electronic Library Service