

[J. Ferment. Technol., Vol. 47, No. 2, p.128~136, 1969]

植物種子発芽体の核酸分解酵素に関する研究

(第5報) 小麦, アワ発芽体および麦芽根核酸分解酵素の
精製とその性質

川田 寛・片谷 健一・秋本 政明・西本 健市

(日本化学飼料株式会社)

Studies on Nucleases in Sprouts of Plant Seed

(V) Purification and Some Properties of the Nucleases Separated
from Wheat, Barley and Millet Sprouts

Hiroshi Kawata, Ken-ichi Kataya, Masaaki Akimoto and Ken-ichi Nishimoto

(Nippon Chemical Feed Co., Ltd., Asano-cho, Hakodate, Hokkaido)

Crude enzymes extracted from wheat, barley and millet sprouts were purified by several procedures and separated into fractions of five nucleases (PD₁-PD₅), two phosphatases (PM₁-PM₂) and one polynucleotide phosphorylase by the column chromatography on DEAE-cellulose. Then they were purified by approximately 1,000 folds of the nucleases, 500 folds of the phosphatases and 400 folds of the PNPase with absorbancy at 280 m μ .

1) Three out of the five nucleases (PD₁, PD₂, PD₄) and the two phosphatases (PM₁, PM₂) were the same as those of the three nucleases and two phosphatases separated from mung bean sprouts; PD₁ was the endonuclease with the optimum pH at 4.5. PD₂ and PD₄ were exonuclease with the optimum pH values at 5.0 and 8.0. In PM₁ and PM₂ the optimum pH was 5.0 and 7.5 respectively.

2) The optimum pH of PD₃ and PD₅ were 5.5 and 8.0, and the temperature optimum was 60°C for both. They were considerably heat labile (60% of their activities vanished in 30 min at 60°C). They are stable at pH values from 4.5 to 7.0. Their activities were inhibited by metal ions and activated by a few chelating agents.

3) PD₃ and PD₅ showed the activities on RNA, DNA and bis (*p*-nitrophenyl) phosphate, but on RNACore and thymidine-5'-*p*-nitrophenyl phosphate they did not show any activities. In their hydrolysates of RNA, no 5'-mononucleotides were detected and more 3'-pyrimidine mononucleotides were found than 3'-purine mononucleotides. From these results, PD₃ and PD₅ may be classified as endonuclease specific to bases and substrates.

4) The optimum pH and temperature of PNPase were 5.5 and 50°C. It is considerably heat stable (only 20% of the activity vanished in 30 min at 60°C) and it was also stable at pH 5.0-7.0. It was activated remarkably by Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, Co⁺⁺, Mn⁺⁺ and PO₄³⁻. It strongly reacted on 5'-ADP but weakly on 5'-CDP.

緒 言

筆者らは、前報¹⁾において、小麦、アワ発芽体および麦芽根から抽出した酵素液の酵素的性質と RNA 分解生成物などについて、二、三の知見を報告した。

本報では、さらにこれら抽出酵素液を精製分別したところ、5種の nuclease と2種の phosphatase および1種の PNPase が含まれていることが判明した。そこで、これらの一般的性質ならびに特異性などを検討した結果、5種の nuclease のうち、3種の nuclease は、緑豆に含まれる 5'-endo および exonuclease と同一酵素であり、他の2種の nuclease は、基質および塩基特異性の強い 3'-endonuclease であること、また、PNPase は、基質特異性の少ない金属要求酵素であることなどが明らかとなったので報告する。

実験方法

酵素の精製方法、酵素活性と精製度の測定および分解生成物の同定などは、すべて既報²⁻⁴⁾と同様にして行なった。

結 果

1. 酵素の精製 小麦、アワ発芽体および麦芽根などの抽出酵素液を、熱処理、硫酸アンモニウム分画、リン酸カルシウムゲル処理、Sephadex 処理、エタノール分画および DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィなどの方法により精製分別し、その結果をそれぞれ Table 1 および Fig. 1 (a)~(c) に示した。すなわち、nuclease は5種 (PD₁~PD₅) に、phosphatase は2種 (PM₁~PM₂) に、PNPase は1種にそれぞれ分別された。この結果、280 mμにおける吸光度当り、nuclease は約1,000倍に、phosphatase は約500倍に、PNPase は約400倍に精製された。

以下、これらの各画分を0~4℃の冷水に24時間透析して供試した。

2. 精製酵素の諸性質

A. nuclease の一般的性質 RNA 基質で検討した結果を Fig. 2 (a)~(d) に示した。すなわち各精製 nuclease の至適 pH は、PD₁ は pH 4.5, PD₂ は pH 5.0, PD₃ は pH 5.5, PD₄ および PD₅ は pH 8.0 にあり、至適温度はいずれも 60℃ にある。PD₁, PD₂ および PD₄ は、いずれも耐熱性は強く、pH 5.5, 60℃, 30分間の処理で10%の失活に止まるのに対し、PD₃ および PD₅ は、いずれも耐熱性は弱く、60%が失活する。また、PD₁, PD₂ および PD₄ は、pH 5.0~7.5で、PD₃ および PD₅ は、pH 4.5~7.0で安定であった。

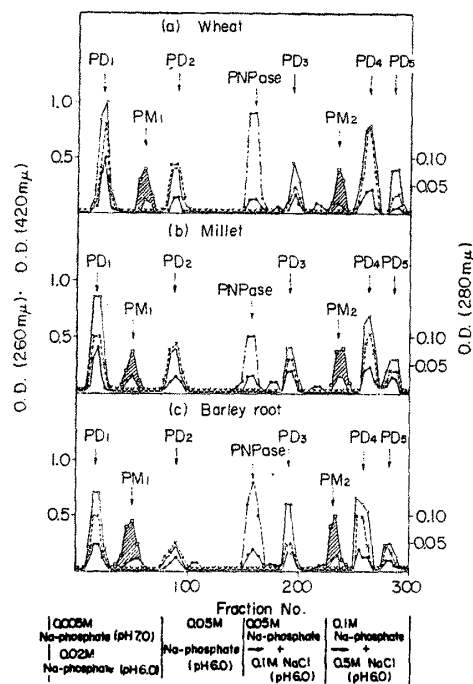


Fig. 1. Column chromatography of wheat, millet and barley sprouts enzymes on DEAE-cellulose.

The enzymes were isolated into five fractions of nuclease (PD₁~₅), two fractions of phosphatase (PM₁~₂) and one fraction of PNPase. The activities of nucleases were measured on RNA and DNPP, phosphatases on PNPP and PNPase on 5'-ADP respectively^{2,3)}. The chromatographic conditions are as follows.

Column: 2×30 cm, bufferized with 0.005 M Na-phosphate buffer solution (pH 7.0).

Flow rate: 10.5 ml/60 min

Fraction size: 6.0 g

- RNase activity measured on RNA (O. D. at 260 mμ)
- ×---× PDase activity measured on DNPP (O. D. at 420 mμ)
- PMase activity measured on PNPP (O. D. at 420 mμ)
- PNPase activity measured on 5'-ADP (O. D. at 260 mμ)
- Protein concentration (O. D. at 280 mμ)

金属イオンなどの影響は、各10⁻³M 終濃度における RNase 活性を測定して、その結果を Fig. 3 に示した。すなわち、PD₁ は Mg²⁺, Zn²⁺ などにより、PD₂ はわずかながら Ca²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺ などにより、また、PD₄ は著しく Ca²⁺, Co²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺ などにより賦活され、いずれも一部のキレート剤および還元剤で阻害された。一方 PD₃ および PD₅ はいずれも金属イオンにより阻害され、EDTA, クエン酸などで賦活された。

Table 1. Purification of nucleases, phosphatases and PNPase from wheat, barley and millet sprouts.

Step No.	Procedure	Kind of Sprout	Volume (ml)	Total absorbancy at O. D. 280m μ ($\times 1,000$)	Substrates									
					RNA		DNPP		DNA		PNPP		5'-ADP	
					total units ($\times 1,000$)	Purifi- cation units ($\times 1,000$)	total units ($\times 1,000$)	Purifi- cation units ($\times 1,000$)	total units ($\times 1,000$)	Purifi- cation units ($\times 1,000$)	total units ($\times 1,000$)	Purifi- cation units ($\times 1,000$)	total units ($\times 1,000$)	Purifi- cation units ($\times 1,000$)
1.	Crude extract	{Wheat Millet Barley root	{1,200 950 1,500	{50,000 27,000 44,000	{28,800 24,000 57,500	{1 1 1	{1,000 500 625	{1 1 1	{960 770 1,920	{1 1 1	{900 700 4,500	{1 1 1	{1,120 720 3,200	{1 1 1
2.	Preheating	{Wheat Millet Barley root	{1,140 850 1,480	{20,000 14,000 22,000	{25,900 21,600 48,000	{2 2 2	{900 450 525	{2 2 2	{865 695 1,580	{2 2 2	{360 360 2,700	{1 1 1	{880 560 3,020	{2 2 2
3.	(NH ₄) ₂ SO ₄ fractionation	{Wheat Millet Barley root	{195 200 200	{4,000 2,700 4,800	{22,000 18,500 43,200	{10 8 7	{750 388 475	{9 8 7	{720 575 1,440	{9 8 7	{360 420 2,400	{5 6 5	{625 424 2,800	{7 6 7
4.	Calcium phos- phate gel trea- tment	{Wheat Millet Barley root	{240 240 240	{80 75 80	{3,480 5,270 9,000	{78 79 86	{120 110 100	{75 79 88	{115 168 298	{75 79 85	{8 10 40	{55 50 50	{72 72 200	{40 36 34
5.	Sephadex trea- tment	{Wheat Millet Barley root	{120 120 120	{78 75 80	{3,400 5,300 9,100	{78 80 88	{120 108 100	{77 78 88	{110 165 290	{74 77 83	{7 9 39	{50 46 48	{70 70 198	{40 35 34
6.	Ethanol fractionation	{Wheat Millet Barley root	{60 40 40	{1.6 1.6 1.5	{190 312 480	{212 220 246	{8 8 5	{250 270 234	{6.3 10.0 15.8	{205 220 242	{0.3 0.4 1.8	{110 105 120	{4.0 4.8 12.8	{110 113 117
7.	DEAE-cellu- lose column chromatogra- phy	{*Wheat *Millet *Barley root {**Wheat **Millet **Barley root {***Wheat ***Millet ***Barley root	{96 90 96 {54 54 60 {30 30 36	{0.08 0.08 0.07 {0.11 0.10 0.12 {0.08 0.07 0.12	{48 72 96 {— — — {— — —	{1,080 1,010 1,050 {— — —	{1.6 1.5 1.0 {— — —	{1,000 1,010 1,000 {— — —	{1.4 2.4 2.9 {— — —	{920 1,040 960 {— — —	{0.10 0.13 0.90 {500 500 490	{— — — {— — —	{— — — {0.7 0.7 3.5	{390 380 400

* nuclease fraction ** phosphatase fraction *** PNPase fraction

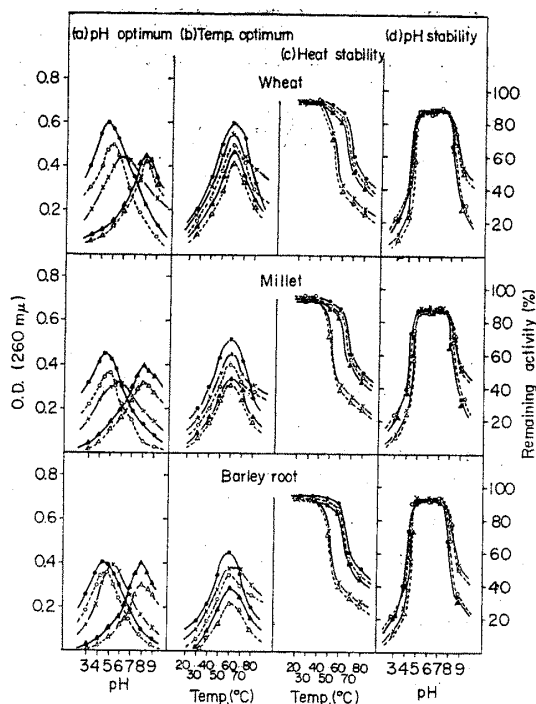


Fig. 2. Properties of the purified nucleases.

Opt. pH, opt. temp., pH stability and heat stability of the purified nucleases on RNA substrate were shown in (a), (b), (c) and (d). The incubations of (b), (c) and (d) were carried out at pH 4.5 (PD₁), 5.0 (PD₂), 5.5 (PD₃) and 8.0 (PD_{4,5}) respectively.

(a): Reaction mixture was incubated at 37°C for 30 min.

(b): Reaction mixture was incubated for 30 min.

(c): After the enzyme solution was heated at pH 5.5 for 30 min, the remaining activity was measured.

(d): After the enzyme solution was kept at 20°C for 24 hr, the remaining activity was measured.

Buffer used: pH 3-6, 0.1 M acetate buffer solution, pH 7-9, 0.1 M tris buffer solution.

●—● PD₁ ▲—▲ PD₄
○---○ PD₂ △---△ PD₅
×---× PD₃

B. Phosphatase の一般的性質 PNPP 基質で検討した結果を Fig. 4 (a)~(d)に示した。すなわち、至適 pH は、PM₁ は pH 5.0に、PM₂ は pH 7.5にあり、至適温度はいずれも37°Cにあった。耐熱性はいずれも弱く、60°C、15分間の処理で70%が失活し、また、pH 5.0~7.0で安定であった。金属イオンによる

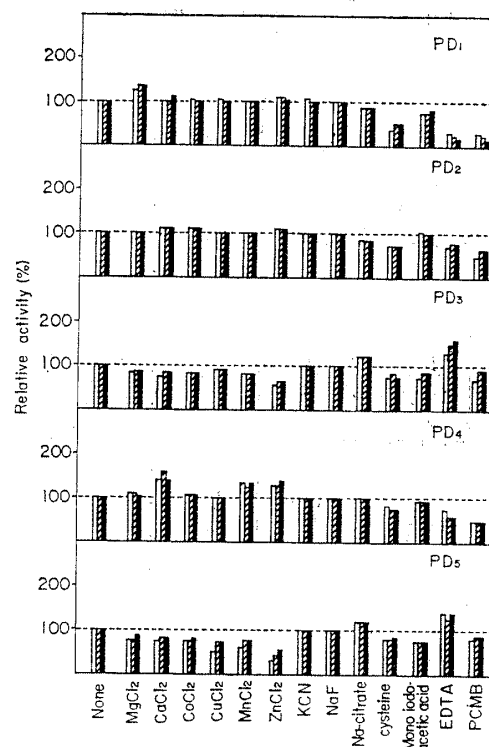


Fig. 3. Effect of metal ions or reagents on the activities of purified nucleases.

The activities of PD₁~₅ were measured on RNA at O. D. 260 mμ, after incubating with 10⁻³M of metal ions or reagents at pH 4.5 (PD₁), 5.0 (PD₂), 5.5 (PD₃) and 8.0 (PD_{4,5}), 37°C for 30 min respectively.

□ wheat
▨ Millet
■ Barley root

影響は Fig. 5 に示すように、PM₁ は金属イオンによって阻害され、PM₂ はほとんど影響されず、いずれも CN⁻、シスチン、EDTA などによって賦活された。

C. PNPase の一般的性質 5'-ADP を基質として検討した結果を Fig. 6 (a)~(d)に示した。すなわち、小麦、アワ、麦芽根ともに、至適 pH は pH 5.5にあり、至適温度は50°Cであった。耐熱性はやや強く、60°C、30分間の熱処理で約20%の失活に止まり、また、pH 5.0~7.0で安定であった。金属イオンなどの影響は、Fig. 7 に示すように Mg²⁺、Ca²⁺、Co²⁺、Mn²⁺、PO₄³⁻ などにより20~30%賦活されるが、一部のキレート剤、還元剤などによる影響はみられなかった。

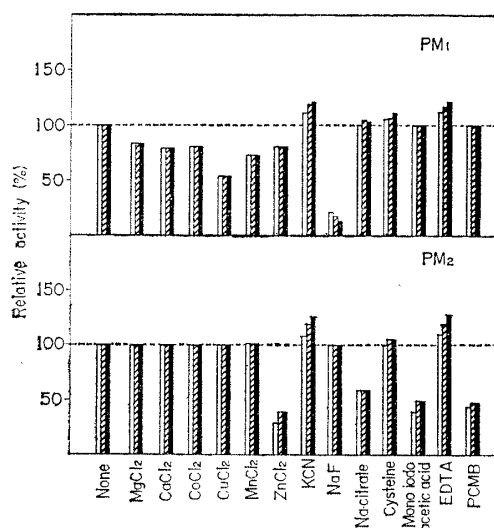
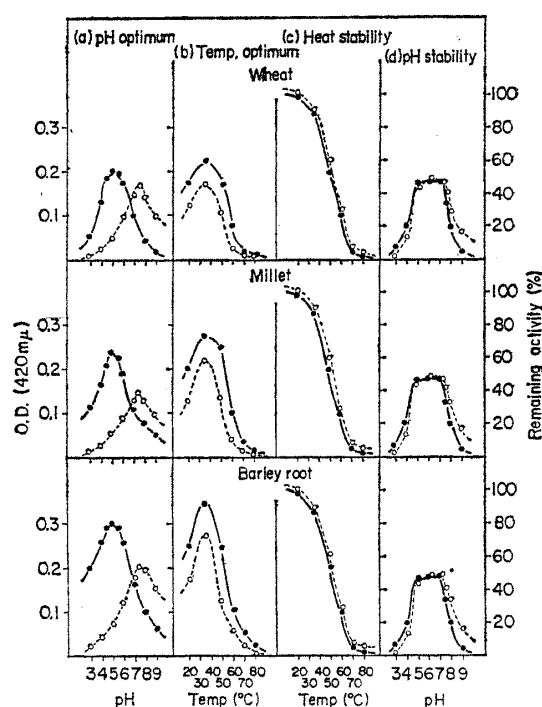


Fig. 5. Effect of metal ions or reagents on the activities of the purified phosphatases.

Phosphatase activities of PM₁₋₂ were measured at O. D. 420 mμ on PNPP, after incubating with 10⁻³M of metal ions or reagents at pH 5.0 (PM₁) and 7.5 (PM₂), 37°C for 15 min respectively.

□ Wheat
▨ Millet
■ Barley root

Fig. 4. Properties of the purified phosphatases.

Opt. pH, opt. temp., pH stability and heat stability of the purified phosphatases on PNPP substrate were shown in (a), (b), (c) and (d). The incubations of (b), (c) and (d) were carried out at pH 5.0 (PM₁) and 7.5 (PM₂) respectively.

(a): Reaction mixture was incubated at 37°C for 15 min.

(b): Reaction mixture was incubated for 15 min.

(c): After each enzyme solution was heated at pH 5.5 for 15 min, the remaining activity was measured.

(d): After each enzyme solution was kept at 20°C for 24 hr, the remaining activity was measured.

Buffer used: See Fig. 2.

●—● PM₁
○---○ PM₂

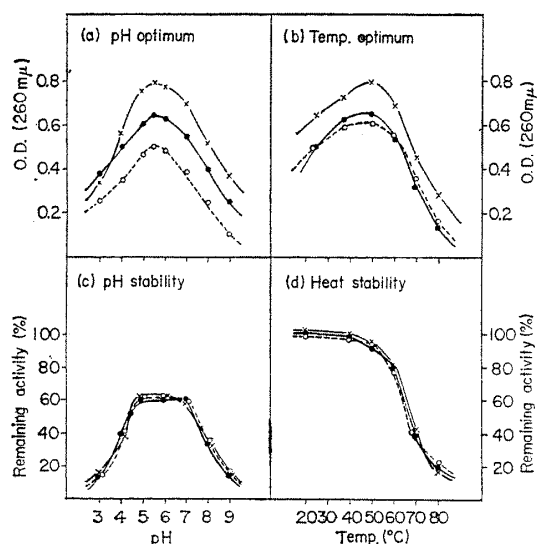


Fig. 6. Properties of the purified PNPase.

Opt. pH, opt. temp., pH stability and heat stability of the purified PNPase on 5'-ADP substrate were shown in (a), (b), (c) and (d). The incubations of (b), (c) and (d) were carried out at pH 5.5.

(a): Reaction mixture was incubated at 37°C for 60 min.

(b): Reaction mixture was incubated for 60 min.

(c): After the enzyme solution was kept at 20°C for 24 hr, the remaining activity was measured.

(d): After the enzyme solution was heated at pH 5.5 for 30 min, the remaining activity was measured.

●—● Wheat
○---○ Millet
×—× Barley root

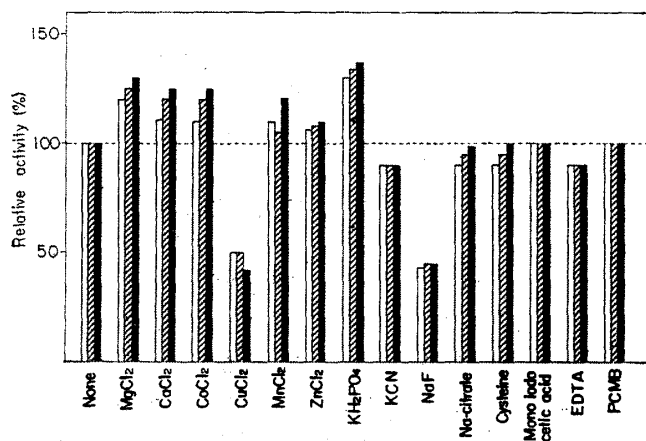


Fig. 7. Effect of metal ions or reagents on the activity of the purified PNase.

PNase activity was measured at O. D. 260 μ m on 5'-ADP, after incubating with 10^{-3} M of metal ions or reagents at pH 5.5, 37°C for 60 min.

□ Wheat
 ▨ Millet
 ■ Barley root

3. 基質ならびに塩基特異性 各精製酵素を, nuclease は DNPP 基質で 400 単位/ml に, phosphatase は PNPP 基質で 250 単位/ml に, また PNase は 5'-ADP 基質で 250 単位/ml にそれぞれ調整して, 各種の基質に作用させた結果を Fig. 8~10 に示した.

A. nuclease PD₁ は RNA, DNA, 5'-NpT などの基質に対しては, PD₂ および PD₄ の約 2 倍の活性を示すが, RNAcore に対しては, PD₂ および PD₄ に比べ活性は著しく弱い. これに対し, PD₃ お

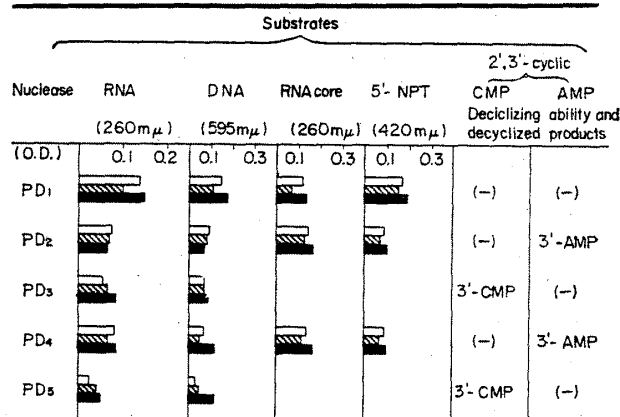


Fig. 8. Specificity of the purified nucleases for various substrates.

Each purified nuclease PD₁₋₅ was adjusted to 400 units/ml on DNPP and then was used. The incubations were carried out at pH 4.5 (PD₁), 5.0 (PD₂), 5.5 (PD₃) and 8.0 (PD_{4,5}) respectively. The measurements of the activities on various substrates are shown in the previous paper^{2,3}.

□ Wheat
 ▨ Millet
 ■ Barley root

よび PD₅ は, RNA, DNA には作用するが, RNA core および 5'-NpT には全く作用を示さない. また, 2', 3'-cyclic mononucleotide に対しては, PD₁ は環状結合を開裂しないが, PD₂ および PD₄ はいずれも 2', 3'-cyclic AMP の環状結合を開裂して 3'-AMP を生成した. 一方, PD₃ および PD₅ は, 2', 3'-cyclic CMP の環状結合を開裂して 3'-CMP を生成した.

Table 2. Degradation of RNA by the purified nucleases (PD₃ and PD₅) from wheat, barley and millet sprouts.

Item	Nuclease	Isolated mononucleotides				Degradation of RNA(%)
		CMP	AMP	UMP	GMP	
Molar ratio	PD ₃	1.9—2.1	1.0	1.6—1.8	0.3—0.5	34—59
	PD ₅	1.6—2.1	1.0	1.5—1.8	0.6—0.7	31—42
Carbazole reaction	PD ₃	—	purple	—	purple	—
	PD ₅	—	purple	—	purple	—
Periodate Schiff's reaction	PD ₃	purple	"	"	"	—
	PD ₅	purple	"	"	"	—

5 mg yeast RNA was hydrolyzed with 1.5 ml of each purified nuclease PD_{3,5} (400 units/ml on DNPP) at pH 5.5 (PD₃) and 8.0 (PD₅), 60°C for 6 hr respectively, and then the hydrolysates were analyzed by the anion exchanger column chromatography⁷⁾. The degradation of RNA (%) is the total amounts of the obtained mononucleotides to the offered quantity of RNA.

なお, PD₁ および PD₂ の RNA 分解生成物は, Table 2 に示したように, いずれも 3'-mononucleotide であり, その生成モル比は, pyrimidine 系が purine 系の約2倍ずつ生成され, また, 分解率は31~59%の低率であった。

B. phosphatase PM₁ および PM₂ は, いずれも, 5' および 3'-AMP, β -glycerophosphate, PNPP などの基質に対して作用を示すが, PM₁ は 5'-AMP に, PM₂ は 3'-AMP にやや強く作用する傾向がみられた。

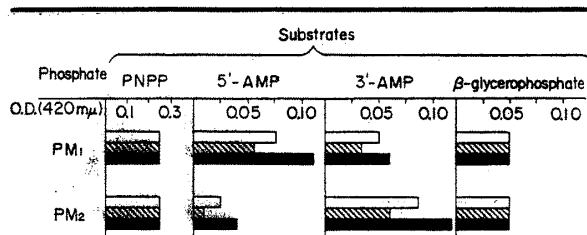


Fig. 9. Specificity of the purified phosphatases for various substrates.

Each purified phosphatase PM₁₋₂ was adjusted to 250 units/ml on PNPP and then was used. The incubations were carried out at pH 5.0 (PM₁) and 7.5 (PM₂) respectively. The measurements of the activities on various substrates are shown in the previous paper²⁻⁴.

□ Wheat
 ▨ Millet
 ■ Barley root

C. PNPase 各 5'-ADP, 5'-CDP, 5'-UDP および 5'-GDP などの基質には, いずれも作用を示すが, ADP に対する活性が最も強く, また, CDP に対して最も弱い傾向がみられた。

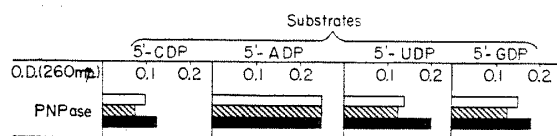


Fig. 10. Specificity of the purified PNPase for various substrates.

The purified PNPase was adjusted to 250 units/ml on 5'-ADP and then was used. The incubation was carried out at pH 5.5. The measurements of the activities on each nucleoside-5'-diphosphate are shown in the previous paper³.

□ Wheat
 ▨ Millet
 ■ Barley root

考 察

小麦, アワ発芽体および麦芽根より精製分別された 5 種の nuclease (PD₁~PD₅) と 2 種の phosphatase (PM₁, PM₂) および 1 種の PNPase などの性質を Table 3 に要約して比較した。すなわち, 5 種の nuclease のうち 3 種の nuclease (PD₁, PD₂, PD₄) および 2 種の phosphatase は, その酵素的性質において, 緑豆から分別された nuclease および phosphatase にそれぞれ相当する同一酵素であることは明らかである。

これに対し, 緑豆では認められなかった 2 種の nuclease (PD₃, PD₅) は, 前記 3 種の nuclease とは著しく性質を異にし, 基質および塩基特異性の強い金属非要求酵素であり, また, purine 系 2', 3'-cyclic mononucleotide には全く作用を示さない endonuclease であることより, いずれもすい臓型の RNase および中桐ら⁹が報告している麦芽根の RNase II に類似した酵素とみられる。

また, 1 種分別された PNPase は, Kesseler ら¹⁰が小麦発芽体の microsome に認めた PNPase と基質特異性および耐熱性などの点で類似することから, ほぼ同一な PNPase であると考えられる。

以上のように, 小麦, アワ発芽体および麦芽根に含まれる 5 種の nuclease は, 相互にかなりの点で性質を異にし, きわめて複雑多様である。したがって, 植物種子発芽体抽出酵素により核酸を分解する場合, 酸性で分解する場合は, 前記の PD₁, PD₂, PD₃ などに当る endo および exonuclease が主として作用し, また, アルカリ性で分解する場合には, PD₄, PD₅ などに当る endo および exonuclease が作用し, いずれの場合でも 5' 体と 3' 体の mononucleotide が併成されるのである。ただし, 分解に際して, 抽出酵素は phosphatase の作用を阻止するために予熱処理することが一般であることより, 耐熱性に劣る 3'-nuclease (PD₃, PD₅) はかなり失活し, その結果 5' 体の生成量に対して 3' 体の生成量が僅少に止まるものと思われる。

また, 植物種子発芽体の精製酵素により核酸を分解する場合, 生成 mononucleotide は, 従来 5' 体, 3' 体あるいは 5' 体と 3' 体などと種々論議はあるが, これらの各精製 nuclease は, 精製方法の差異によって, 筆者らの分別したいずれかの nuclease に該当し, それぞれの一面的な結果のみを主張したものであらうと思われる。

以上のように, 禾本科植物の種子発芽体 nuclease が, 緑豆のそれに比べて著しく性質を異にし, 複雑な

Table 3. Summary of the purified enzymes from wheat, barley and millet sprouts.

Enzyme	Opt.		Stability pH Temp heat* (°C)	Metal ion	Mononu- cleotide from RNA	Substrate specificity										Decyclized products				Base specificity
	pH	Temp (°C)				RNA	DN	5'- PP	RNA core	5'- PN	3'- AMP	β-glycorb. phosphate	5'- ADP	5'- UDP	5'- GDP	2',3'- cyclic CMP	2',3'- cyclic AMP			
Nuclease	PD ₁	4.5	60	90	5.0~7.5	require	5'	(+)(+)(+)(+)(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	(-)	(-)	(±)pyrimidine		
	PD ₂	5.0	"	90	"	"	"	(+)(+)(-)(+)(+)(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	(-)	(3'-AMP)	(-)		
	PD ₃	5.5	"	40	4.5~7.0	inhibit	3'	(+)(+)(+)(+)(-)(-)	(-)	-	-	-	-	-	(3'- CMP)	(-)	(+)	(+)pyrimidine		
	PD ₄	8.0	"	90	5.0~7.5	require	5'	(+)(+)(+)(+)(+)(+)	(+)	-	-	-	-	-	(-)	(3'-AMP)	(-)	(-)		
	PD ₅	"	"	40	4.5~7.0	inhibit	3'	(+)(+)(+)(+)(-)(-)	(-)	-	-	-	-	-	(3'- CMP)	(-)	(+)	(+)pyrimidine		
Phosphatase	PM ₁	5.0	37	30	5.0~7.0	"	-	-	-	-	-	(+)(+)(+)	(+)	(+)	-	-	-	-		
	PM ₂	7.5	"	"	"	ineffective	-	-	-	-	-	(+)(+)(+)	(+)	(+)	-	-	-	-		
PNPase	5.5	50	80	"	"	require	5'	-	-	-	-	-	-	-	(+)(+)(+)	(+)	(+)	(+)		

* The remaining activity (%) at pH 5.5, 60°C for 15~30 min.

** The stable pH region.

酵素系を有することは、種子そのものの物質組成に起因する発芽代謝機構が異なるためとも思われるが、きわめて興味深い問題である。

要 約

小麦、アワ発芽体および麦芽根に含まれる nuclease の精製を行ない、各精製酵素の一般的性質および特異性などについて検討した。

(1) 抽出液を熱処理、硫酸アンモニウム分画、リン酸カルシウムゲル処理、Sephadex 処理、エタノール分画および DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィなどの方法によって、5種の nuclease (PD₁~PD₅) と2種の phosphatase (PM₁~PM₂) および1種の PNPase を精製分別した。

(2) 前記5種の nuclease のうち、PD₁ は endonuclease, PD₂, PD₄ は exonuclease であり、いずれも RNA を分解して 5'-mononucleotide のみを生成する耐熱性の強い金属要求酵素である。

(3) これに対し、PD₃ と PD₅ は、至適 pH をそれぞれ pH 5.5 と 8.0 に、また、至適温度を 60°C に有する耐熱性の弱い金属非要求酵素であり、RNA を分解して 3'-mononucleotide のみを生成する purimidine 塩基特異性の強い endonuclease である。

(4) PM₁ と PM₂ は、至適 pH をそれぞれ pH

5.0 と 7.5 に、また、至適温度を 37°C に有する耐熱性の弱い酵素であり、いずれも緑豆に含まれる 2 種の phosphatase と同一酵素である。

(5) PNPase は、至適 pH を pH 5.5 に、至適温度を 50°C に有し、耐熱性はやや強く、pH 5.0~7.0 で安定である。また、大部分の金属イオンおよび PO₄³⁻ などにより著しく賦活され、特に基質特異性はみられない。

終りにのぞみ、本研究に際し、御校閲を賜った北海道大学水産学部斎藤恒行教授、ならびに本報告の発表を許可された当社竹井俊郎社長に深甚な謝意を表します。なお、本研究の概要は、昭和42年4月4日、東洋大学で開催された日本農芸化学会大会において、講演発表した。

文 献

- 1) 川田, 片谷, 秋本, 西本: 本誌, **47**, 120 (1969).
- 2) 川田, 片谷, 秋本, 西本: 本誌, **47**, 25 (1969).
- 3) 川田, 片谷, 秋本, 西本: 本誌, **47**, 32 (1969).
- 4) 川田, 片谷, 秋本, 西本: 本誌, **47**, 41 (1969).
- 5) 中桐, 前川, 木原, 三輯: 本誌, **46**, 605, 610 (1968).
- 6) Kessler, B., Chen, D.: *Biochim. Biophys. Acta.*, **80**, 533 (1964).
- 7) 川田, 片谷, 秋本, 西本: 農化, **41**, 239 (1967).
(昭 43. 9. 30 受付)