OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	タカマルターゼの研究　Studies on Taka-maltase
Author(s)	松島, 泰次郎
Citation	大阪大学, 1960, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28260
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【31】

氏名・(本籍)	松島泰次郎（まつしまたいじろう）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第88号
学位授与の日付	昭和35年3月22日
学位授与の要件	理学研究科生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	タカマルターゼの研究 Studies on Taka-maltase
論文審査委員	(主査) 教授 赤堀 四郎　(副査) 教授 伊勢村 寿三　教授 二国二郎

論文内容の要旨

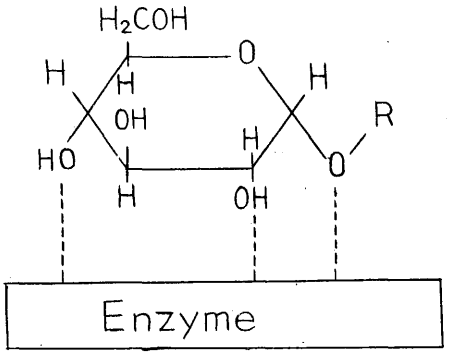
タカジアスターゼより結晶 Taka-amylase A を精製する過程の廃液であるリバノール上澄液より Taka-maltase の精製を試みた。弱塩基性イオン交換樹脂，Duolite A—2，を用いたカラムクロマトグラフィーで分離を行い，0.1M acetate buffer で溶出してくる区分に，α-glucosidase 作用と maltase 作用が一致し amylase 作用を示さない2つの peak を得た。先に溶出する方を Taka-maltase Ⅰ，後から溶出する方を Taka-maltase Ⅱ とする。原料のタカジアスターゼに比較して，Taka-maltase Ⅰ は約150倍に，Taka-maltase Ⅱ は約100倍に精製されている。

この両酵素について基質特異性，至適作用 pH 域，pH—安定性および熱安定性を調べた，両酵素共に maltose，α-methyl-d-glucoside，α-phenyl-d-glucoside，を分解し，α-glucosidase 作用を示すと共に，transglucosidase 作用を示す。然し amylase，sucrase，cellobiase 作用等は示さない。至適作用 pH 域は両酵素とも pH 4.8 付近にあり差は認められぬ。pH—および熱—安定性は両酵素の間に大きな差はないが，Taka-maltase Ⅱ の方が Taka-maltase Ⅰ に比較してより安定である。この両酵素は酵素作用は同じであるが蛋白質としては異るものと思われる。

Taka-maltase Ⅰ についてさらに基質特異性，Michaelis 定数および種々の糖による阻害を調べた。Taka-maltase Ⅰ は maltose，α-methyl-d-glucoside，α-phenyl-d-glucoside，α-methyl-maltoside，α-phenyl-maltoside を加水分解し，その比水解速度は 1：0.0048：0.092：0.0096：0.54 である。amylose，sucrose，raffinose，trehalose，cellobiose，lactose を加水分解しない。この酵素は基質の水解に際して α-glucosyl 基を基質または生成物に転移して新しい oligosaccharide を生成する Transglucosidase 作用を示す。

Taka-maltase Ⅰ の Michaelis 定数 はmaltose および α-phenyl-d-glucoside を基質にした場合それぞれ 3.5×10^{-3}M，9.3×10^{-4}M である。Taka-maltase Ⅰ に対して d-glucose，d-xylose，trehalose，sucrose，raffinose は拮抗的阻害を示し，d-mannose，d-galactose，cellobiose，lactose，rhamnose，mannitol，sorbitol，inositol は阻害を示さなかった。

基質および拮抗的阻害剤の立体的構造，および阻害を示さなかった d-mannose，d-galactose，cellobiose の立体的構造から酵素と基質の結合様式を推論した。酵素と基質が結合する場合に次の模式図の如く，基質の α-glucosyl 基の pyranose 面が酵素表面と平行になる様に配位し，α-glucosyl 基のC_1の酸素原子と C_2 および C_4 の hydroxyl 基の3個所で酵素内の ＞C＝O 又は ＞N—H 基との間に水素結合を作って3点結合をするものと考えられる。



論文の審査結果の要旨

タカマルターゼは *Aspergillus oryzae* の分泌する酵素であって，古くより多くの酵素化学者によって研究された酵素であるが，共存する糖化型アミラーゼとの異同，基質特異性に関しては諸説紛々たる状態であった。松島君はタカマルターゼを酵素的並びにクロマトグラフィー的に単一な状態に分離し，基質特異性並びに酵素基質の結合様式について研究を行った。

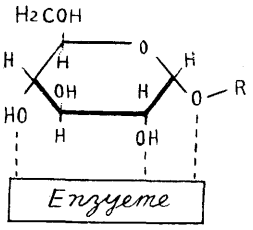
タカジアスターゼより結晶 Taka-amylase A を精製する過程の廃液であるリバノール上澄液より Taka-maltase の精製を試みた。弱塩基性イオン交換樹脂 Duolite A-2 を用いたカラムクロマトグラフィーで分離を行い。0.1 M acetate buffer で溶出してくる区分に，α-glucosidase 作用と maltase 作用が一致し amylase 作用を示さない二つの peak を得た。先に溶出する方を Taka-maltase Ⅰ，後から溶出する方を Taka-maltase Ⅱとする。原料のタカジアスターゼに比較して，Taka-maltase Ⅰは約150倍に，Taka-maltase Ⅱは約100倍に精製されている。この両酵素について基質特異性，至適作用 pH 域，pH-安定性および熱安定性を調べた。両酵素共に maltose，α-methyl-d-glucoside，α-phenyl-d-glucoside を分解し，α-glucosidase 作用を示すと共に，transglucosidase 作用を示す。然し amylase，sucrase，cellobiase 作用等は示さない。至適作用 pH 域は両酵素とも pH 4.8 付近にあり差は認められぬ。pH—および熱—安定性は両酵素の間に大きな差はないが，Taka-maltase Ⅱの方が Taka-maltase Ⅰに比較してより安定である。この両酵素は酵素としては同じであるが，蛋白質としては異るものと思われる。

Taka-maltase Ⅰについて更に基質特異性，Michaelis 定数および種々の糖による阻害を調べた。Taka-maltase Ⅰは maltose，α-methyl-d-glucoside，α-phenyl-d-glucoside，α-methyl-maltoside，α-phenyl-maltoside を加水分解し，その比水解速度は1：0.0048：0.092：0.0096：0.54 である。amylose，sucrose，raffinsoe，trehalose，cellobiose，lactose を加水分解しない。この酵素は基質の水解に際して α-glucosyl

基を基質または生成物に転移して新しい oligosaccharide を生成する Transglucosidase 作用を示す。

Taka-maltase Ⅰの Michaelis 定数は maltose および α-phenyl-d-glucoside を基質にした場合それぞれ 3.5×10^{-3} M，9.3×10^{-4} M である。Taka-maltase Ⅰに対して d-glucose，d-xylose，trehalose，sucrose，raffinose は拮抗的阻害を示し，d-mannose，d-galactose，cellobiose，lactose，rhamnose，mannitol，sorbitol，inositol は阻害を示さなかった。

基質および拮抗的阻害剤の立体的構造および阻害を示さなかった d-mannose，d-galactose，cellobiose の立体的構造から酵素と基質の結合様式を推論した。酵素と基質が結合する場合に，次の模式図の如く，基質の α-glucosyl 基の pyranose 面が酵素表面と平行になる様に配位し，α-glucosyl 基の C_1 の酸素原子と C_2 および C_4 の hydroxyl 基の 3ヶ所で酵素内の ＞C＝O 又は ＞N－H 基との間に水素結合を作って3点結合をするものと考えられる。



以上松島君はタカマルターゼの基質特異性を明らかにし，且つその作用様式に関して重要な示唆を与えたもので酵素化学の進歩に貢献する所大である。

この論文は理学博士の学位論文として十分の価値あるものと認める。