

## 52. *Penicillium notatum* の Protease 作用について

伊 藤 友 喜

黴類の蛋白分解能に関しては多くの報告があるけれども、最近の蛋白酵素分別知見によつて行われたものは甚だしい。只 M. J. Johnson 等は *Asp. parasiticus* その他の黴を用いて詳細に研究し、蛋白質分解酵素系には proteinase の他、dipeptidase, carboxypolypeptidase, aminopolypeptidase 及び diglycine 並に triglycine 分解の 2 酵素の計 5 の peptidase よりなるとしている。しかしながら *penicillium* の protease に到つては、papainase、或は tryptase 又 pepsin の存在を説く者もあつて、この點でも比較酵素學上興味ある問題が残されているので、*Pen. notatum* の protease 作用につき研究した。

P. 176株又は Q. 176株を材料とし、この菌盤の 2 又は 4 倍容グリセリン水(1:1)の潰浸液、又は acetone-ether 乾燥粉末の 2 又は 4% 水浮游液を酵素液として用い、5 cc. 4% 蛋白質溶液又は 0.2 M-peptide 溶液に 2 又は 5 cc. 酵素液を加え、之を緩衝液で全量 20 cc. としたものをトルエン下 37°C に孵置する。一定時間後、4 cc. の消化液中の酸値増加を formol 滴定法によつて 0.1n-NaOH で滴定する。對照として基質を加えない酵素-緩衝液系を同じ條件に孵置し、主實驗値からこの對照實驗値を差引き、その値を分解値として比較觀察し次の成績を得た。

1) Gelatin, casein, peptone は何れも pH 5.0—9.0 範圍で分解を受け、その至適反應は中性から弱酸性側にある。Peptone においては低級分子の多いと思われる peptone (上原又照内等)の方が peptone (Riedel) に比べて分解を受けにくい。5 時間消化後の至適 pH は、gelatin は 6.8, casein は 5.8, peptone (Riedel) は 6.4~6.8 にある。

2) Gelatin, casein, peptone 三者共に、H<sub>2</sub>S, cysteine, KCN によつて、酸性並に滴性側で賦活を受けない。それは酵素液を透析した場合も同様である。又本酵素は 0.02% 以上の濃度の egg albumin で極めて著名に抑制される。この非賦活性と albumin 抑制の點は tryptase にみる所であるが、弱酸性が至適作用點である事は一致しない、これらの成績では既知の動物性又高等植物性 proteinase と趣きを異にするものといえる。

3) 乾燥粉末による蛋白分解度は潰浸液のそれより弱い。潰浸液 proteinase による各種蛋白質の pH 7.0 に於ける分解度を比較すると、Casein > fibrin > gelatin > albumin > edestin の順序にあり、albumin, edestin の分解能は極めて悪く、乾燥粉末によつては分解が認められなかつた。

4) Peptidase 作用については diglycine, benzoylglycine はよく分解を受けたが、benzoyldiglycine は Q. 176 株によつてのみ酸性側で僅かながら分解を受けた事は特徴と思われる。Diglycine 分解の至適反應は pH 7.5 附近に、benzoylglycine は pH 7.0 附近にあり、且つ hippurase 作用の結果生じた安息香酸を結晶として分離した。Dipeptidase 作用に比べて hippurase 作用の方が強く、殊に部分的失活が起つたと思われる乾燥粉末では diglycine 分解能が極めて悪いに拘らず、benzoylglycine は著名に水解されるので、この點兩酵素の獨立性が考えられる。

5) pH 6.0 及び pH 7.5 に於いて、上述の基質以外の蛋白質及び peptide 分解を検討した。Protamin, diglycine, 又 triglycine もよく分解されたが殊に滴性で強く、leucyldiglycine は両側共弱いながら分解されている。Acetylglycine, acetylglutamic acid も分解されているが後者は滴性では極めて僅かの酸値増加を示しているに過ぎない。Chloroacetyl amino acid (Cl-acetyl leucine, Cl-acetyl phenylalanine) の分解も證明出来て、penicillium には廣く acylase 作用の存在する事が分つた。

6) 次に酸及び滴處置による酵素の抵抗性を驗するため、基質として gelatin, peptone (Riedel 及び照内), diglycine, benzoylglycine, benzoyldiglycine を用いて實驗を行つた。酸處置として酵素液を pH 4.0 に5分乃至1時間保置したものは同結果で、pH 6.0 又 pH 7.5 に於ける peptone (Riedel) 及び benzoylglycine 水解能のみ残り、他の水解能は消失し、90分～2時間處理ではこれらの二水解能も減じてしまつた。即ち糸状菌酵素は酸には抵抗が弱い。滴處置として酵素液を pH 9.0 に1～17時間保置したものは抵抗強く、非處置のものと同水解能を異にしない。pH 11.5, 30分處置にして初めて各基質は相當分解度を減じ、60分では遂に gelatin 又 benzoylglycine 分解能は消失し、diglycine の分解能は輕度に認めるのみとなる。2時間處理のものでは peptone 分解能と僅かながら benzoylglycine 分解能を残すのみとなる。即ち本酵素は滴處理には比較的抵抗が強い様に思われ、各酵素作用に特別の影響がない様であるが、更に強滴性に保置すると酵素作用は減弱する。酸並に滴處理を通じて peptone (Riedel) 並に benzoylglycine 分解能は他に比べてかなり抵抗性が大である。

以上の結果 Pen. notatum の protease は、動物性 (cathepsin, ereptase), 又植物性蛋白酶 (papain, ficin) と比較して大いに趣きを異にしていると思われる。

(昭和 24 年 7 月 5 日 受理)

## 53. 芳香族ハロゲン化合物の化學構造と

### 殺虫力に關する研究 (第 5 報)

#### DDT 近縁化合物に就て (2)

濱田昌之, 大野 稔

我々は先に本研究の第 1 報<sup>1)</sup>として DDT 近縁化合物の一部に就て化學構造と殺虫力の關係を論じたが、其の後更に本系統に屬する化合物を合成し之等の殺虫力を比較検討した。我々が今回合成した DDT 近縁化合物の合成方法並びにその融點を略示すれば第 1 表の通りである。

第 1 表に示した様な方法で合成した各化合物に對する殺虫試験は、當研究室に於て飼育した羽化後平均 6 日のイエバエ (*Musca Domestica* L.) を使用した。その裝置は直徑 24 cm, 高さ 46 cm, 内容約 18 l の楕圓筒の上下に圓板をあて(上側中央にスプレー孔を有す), この中に直徑 9 cm, 高さ 10 cm の上面金屬板, 側面下面金屬網の籠を置き, この籠の中に供試虫平均 25 匹を入