

マウス肝 Acylase 作用に就きて

内野研究室

吉岡 政 七

O. Schmiedeberg (1881)¹⁾ が豚腎及び犬肝に Histozyim を発見せし以來、其後 I. A. Smorodinzew (1923)²⁾ 及び田村 (1924)³⁾ を初め幾多の研究者に依り牛、馬、豚、犬、家兎又家鶏の諸臓器に就き又此等動物の消化管系統の線組織に就きて今井 (1923)⁴⁾、内野 (1928)⁵⁾、河井 (1929)⁶⁾ 又市岡 (1936)¹⁰⁾ の研究報告あり。著者は既にマウス肝臓に Acylase 作用あるを報告せしが茲に其後の研究結果を述べんとす。

先づ各種動物各臓器に於ける Benzoylglycin 及び Benzoylglycylglycin 分解酵素作用の分布状態を比較観察するに、Benzoylglycin 分解作用は豚、犬、家兎又家鶏に就きては、木村 (1929)⁵⁾ の報告と一致する成績を得たり。猫、モルモット、白鼠又マウスに就きては未だ報文を見ず、その研究成績を第1表及び第2表に掲ぐ。

マウス肝臓に依る Benzoylglycin 及び Benzoylglycylglycin 分解値は甚だ大にして、豚と同程度或は其れ以上の分解値を示し、他動物肝臓には殆んどその作用を認めず。

マウス腎臓に就きては豚のそれに比適する著明なる分解値を観察せり。モルモットはこれに次ぐ程度なり。

降臓に就きては、マウス降に依り Benzoylglycin 分解著明にして、豚以外は殆ど陰性結果なり。筋、心筋、肺、脾、睪丸の作用に關してはマウス心筋及び睪丸又豚の心筋及び脾又モルモット、犬或は猫の睪丸に依る極めて輕微なる酸値増加を記載せるも、誤差範囲内と見る可きものもあり。

マウス肝 Histozyim 作用を確定する爲め 0.179g の Benzoylglycin に n-NaOH 1ccm を加へ溶解し、マウス肝乾燥粉末 (Aceton 及び Äther に依り乾燥せしもの) 0.8g を混じ、PH 7.3 の調節液を加へて全量を 20ccm となし、Toluol を重層し 37°C 孵卵器中に72時間消化後、その液の除蛋白を行ひ、鹽酸酸性にて石油エーテル (50—60°C沸點) を以て充分振盪抽出をなす。此の抽出液より融點 120—121°C の Benzoessäure 0.0758g を分離し得たり。對照試験として30分間粉末酵素液を煮沸せしものを作用せしものよりは Benzoessäure を分離し得ず。

マウス肝、腎又脾に依る Benzoyldiglycin の分解は更に著明なり。その分解位置に就きては

今後の分解産物分離に依りて決定さる可きものなるが、肝臓の Benzoylglycin 又 Benzoyldiglycin 分解酵素作用の分別に就きては後述すべし。

第3表には各種水素イオン濃度を考慮しマウス肝に依る Acyl 誘導體の分解を Benzoylglycin, Benzoylglycylglycin, Benzoyl-dl-leucylglycin, Benzoyl-dl-phenylalanin(β), Phtalylglycin に就きて、試験せし成績を掲ぐ。Benzoylglycin 分解は PH 7,0—7,5 又 Benzoylglycylglycin は PH 7,0—8,0 に於て分解最大値を認めたり。

Benzoyl-dl-leucylglycin の抵抗を示せるは注意すべき結果なり。Benzoyl-dl-phenylalanin(β) は分解陰性にして又 Phtalylglycin の分解試験も家兎又豚肝同様陰性結果なり。

Halogenacylase 作用(第4表)に關しては市岡(1937)¹¹⁾の家兎又家鶏肝同様、マウス肝に依りても Chloracetyl-l-phenylalanin は PH 7,3—7,5 に於て分解著明にして、Chloracetyl-dl-phenylalanin(β) は分解微弱なり。Bromisocapranyl-dl-phenylalanin は長時間に於てのみ僅にアミノ窒素増加を示すにすぎず。Bromisocapronylglycin は家兎又は家鶏肝に依りて分解陽性なるも、マウス肝に於ては甚だ微弱にして、Bromisocapronyldiglycin は陽性なり。茲に Chloracetyl 誘導體に比して、Bromisocapranyl 誘導體の抵抗を示せる事又 α -Phenylalanin 誘導體より β -Phenylalanin 誘導體の抵抗ある點を指摘すべく、又 Glycin 誘導體より Diglycin 誘導體の分解され易き成績にも注意すべし。

最後に吸着劑に對する態度を試験し、Benzoylglycin 及び Benzoyldiglycin 分解作用の分別に就きて述ぶ。第5表は Kieselgur, Tierkohle, Kaolin, Tonerde に依る各 PH に於ける吸着殘液の Acylase 作用を示せり。PH 5,8 に於て Tierkohle に依り Benzoylglycin 並に Benzoyldiglycin 分解酵素は、ともに殆んど吸着されし結果を示せり。他の場合には明確なる成績を認めず、木村(1929)⁵⁾の豚腎に於ける PH 3,4 及び前田(1936)¹³⁾の同様腎に就き PH 4,6 にて Tonerde に依り Histozym の吸着を観察せし結果と少しく趣きを異にす。

Tierkohle に依る被吸着相を PH 9,0 の安門水にて溶離せし結果は第6表の如く、その溶離液は Benzoylglycin を分解するも、Benzoyldiglycin の分解能を發揮せず。

本試験成績は内野、中山氏に依り豚腎の該兩酵素作用の分別を報告されし如く、このマウス肝の Histozym 作用と Benzoyldiglycin 分解作用の分別を推論せむとするものなり。

實 験 の 部

(I) 酵素液; 豚, 犬, 家鶏, 家兎, 猫, モルモット, 白鼠又マウス (フランスマウス) の肝, 腎, 脾, 筋, 心筋, 肺, 脾又睪丸を血液の混入を避け、之れを細斷し、よく磨潰す。此の組織粥に

其の重量の3倍容量の 0.05% Essigsäure 含有 Glycerin-Wasser (Glycerin 1 : Wasser 1) を加へ再びよく磨潰し細目篩を以て篩したる潰浸液に Toluol を重層し氷室に貯ふ。此の潰浸液 2ccm を酵素液として基質溶液 20ccm に對して使用する。

(Ⅱ) 基質溶液; 次に使用せし基質の窒素分析量を掲ぐ。

I) Benzoylglycin Ber. N 7,82%. Gef. 7,98%. II) Benzoyldiglycin Ber. N 11,86%. Gef. N 11,95%. III) Benzoyl-dl-leucylglycin Ber. N 9,59%. Gef. N 9,86%. IV) Benzoyl-dl-phenylalanin(β) Ber. N 5,21%. Gef. N 5,17%. V) Phtalyldiglycin Ber. N 10,69%. Gef. N 10,71%. VI) Chloracetyl-l-phenylalanin Ber. N 5,81%. Gef. N 5,97%. VII) Chloracetyl-dl-phenylalanin(β) Ber. N 5,81%. Gef. N 5,45%. VIII) Bromisocapronylglycin Ber. N 5,56%. Gef. N 5,81%. IX) Bromisocapronyldiglycin Ber. N 9,06%. Gef. N 9,51%. X) Bromisocapronyl-dl-phenylalanin(β) Ber. N 4,09%. Gef. N 4,05%.

各基質の分子量の1000分の1瓦に、1ccm n-NaOH 溶液 (Phtalyl 誘導體の場合は 2ccm) を加へたるものに Citratpufferlösung を加へ PH を調節し、全量を 20 ccm とす。即 $\frac{1}{20}$ Mol 基質溶液を調製す。

(Ⅲ) 吸着試験; 酵素液に稀醋酸又稀安門並に水を加へて PH (PH 4,4 5,8 7,2 8,4) を調節し、全量をその2倍量となす。之れに Kieselgur 5%, Tierkohle 5%, Kaolin 2%, Tonerde Al_2O_3 として 0.1% の割合に混和振盪したる後室温 (約15°C) に於て1時間半—3時間静置す。遠心分離器を以て上層液と下層液とに分ち、其の上層液を吸着残留溶液 (殘液) として使用する。次に PH 5,8 に於ける Tierkohle 被吸着相に PH 9,0 安門水を加へて、吸着分離前の容量となし、よく振盪したるものを遠心分離器に依り分離せし上層液を溶離液 (Eluat) として使用する。

(Ⅳ) 分解試験; 各消化基質溶液 20ccm に對し酵素液 2ccm の割合に加へ Toluol 重層の下に 37°C 孵卵器中にて消化せしむ。

消化後24時間、72時間又120時間後の各消化液 4ccm に就き Formoltitration に依り酸値測定をなす。或は消化液 2ccm に就き Van Slyke 法に依り NH_2-N を測定す。對照試験としては基質を含まざる、酵素—調節液を本試験と同條件下に消化せしむ。試験直後値及び酵素液のみの測定値を對照値として引去りたる 0,1n-NaOH の増加酸値 ccm 又は増加 NH_2-N 値 mg を分解値として表中に記載す。

第一表 Benzoylglycin の分解

4 ccm 中の酸値増加 (ccm 0,1n-NaOH) PH 7,3

臓 器	消化時間	マウス	白 鼠	モルモ ット	猫	家 兎	家 鶏	犬	豚
肝	24	0,43	0	0	0,02	0	0,08	0,05	0,45
	72	1,32	0,08	0,02	0,02	0	0,08	0,05	1,32
	120	1,52	0,17	0,12	0,02	0,08	0,29	0,11	1,35
腎	24	0,49	0	0,23	0,15	0,07	0,08	0,02	1,00
	72	1,39	0,03	0,54	0,36	0,07	0,18	0,29	1,40
	120	1,67	0,22	0,93	0,43	0,18	0,29	0,49	1,40
脾	24	0,20	0	0	0	0,02	—	0,04	0
	72	0,70	0	0,02	0	0,02	—	0,05	0,10
	120	0,85	0	0,09	0	0,05	—	0,11	0,24
筋	24	0,05	0	0	0	0	0	0,05	0
	72	0,05	0	0	0	0	0	0,05	0
	120	0,05	0	0,02	0	0	0	0,17	0
心 筋	24	0	0	0	0	0	0,03	0,03	0,07
	72	0,10	0	0	0	0	0,09	0,06	0,12
	120	0,15	0	0	0	0	0,11	0,06	0,27
肺	24	0	0	0,03	0	0	0	0	0
	72	0,02	0	0,05	0	0	0	0	0
	120	0,08	0	0,05	0	0	0,05	0	0
脾	24	0,03	0,03	0	0	0	0,02	0	0,05
	72	0,04	0,05	0	0	0,01	0,05	0,03	0,10
	120	0,04	0,05	0	0	0,02	0,05	0,11	0,17
辜 丸	24	0	0	0,05	0,02	0	0	0,03	0
	72	0,17	0	0,10	0,11	0	0,05	0,10	0
	120	0,22	0	0,17	0,12	0	0,08	0,16	0

第二表 Benzoylglycylglycin の分解

4 ccm 中の酸値増加 (ccm 0,1n-NaOH) PH 7,3

臓 器	消化時間	マウス	白 鼠	モルモ ット	猫	家 兎	家 鶏	犬	豚
肝	24	0,50	0,03	0	0,02	0	0,05	0,08	0,63
	72	1,85	0,17	0,03	0,02	0,06	0,11	0,13	1,62
	120	2,65	0,40	0,10	0,02	0,13	0,18	0,13	2,15
腎	24	0,49	0	0,59	0	0,05	0,21	0,10	1,70
	72	1,65	0,12	1,31	0,08	0,05	0,30	0,10	1,85
	120	2,42	0,67	1,90	0,16	0,08	0,44	0,13	2,75
脾	24	0,25	0	0	0	0,02	—	0,06	0
	72	0,60	0	0,02	0	0,05	—	0,08	0,17
	120	1,17	0	0,09	0	0,05	—	0,32	0,38
筋	24	0,05	0	0	0	0	0	0	0,02
	72	0,05	0	0	0	0	0	0,01	0,02
	120	0,05	0	0,02	0	0	0	0,06	0,02
心 筋	24	0	0	0	0	0	0,02	0,05	0,09
	72	0,10	0,03	0	0	0	0,03	0,06	0,12
	120	0,15	0,05	0	0	0	0,05	0,06	0,13
肺	24	0	0	0,03	0	0	0	0	0
	72	0,04	0	0,05	0	0	0,05	0	0
	120	0,14	0	0,05	0	0	0,07	0	0,02
脾	24	0,16	0,05	0	0	0	0,06	0	0
	72	0,14	0,05	0	0	0,02	0,05	0,04	0,07
	120	0,24	0,05	0	0	0,02	0,05	0,11	0,07
辜 丸	24	0,02	0	0,05	0	0	0	0	0,02
	72	0,03	0	0,10	0	0	0,08	0,01	0,06
	120	0,03	0	0,17	0	0	0,10	0,03	0,06

第三表 マウス肝に依る Acylpeptide の分解

4 ccm 中の酸値増加 (ccm 0,1 n-NaOH)

基 質	消化時間	PH						
		5,0	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	9,0
Benzoylglycin	24	0	0,33	0,61	0,78	0,58	0,57	0,54
	72	0,05	1,08	1,40	1,53	1,40	1,38	1,37
	120	0,04	1,08	1,58	1,65	1,60	1,57	1,34
Benzoylglycylglycin	24	0,20	0,34	0,53	0,75	0,68	0,62	0,62
	72	0,38	0,63	1,40	1,75	1,45	1,45	1,43
	120	0,53	1,08	2,05	2,35	2,15	2,10	1,92
Benzoyl-dl-leucylglycin	24	—	0	0,04	0,03	-0,08	-0,01	—
	72	—	0	0,09	0,03	-0,10	-0,01	—
	120	—	0	0,14	0,03	-0,05	-0,01	—
Benzoyl-dl-phenylalanin (β)	24	—	0	0	0	0	0	0
	72	—	0	0	0	0	0	-0,03
	120	—	0	0	0	0	0	-0,03
Phtalydiglycin	24	—	0,03	0,04	0,02	0,01	-0,05	0
	72	—	0,02	0,06	0,05	0,01	0	0
	120	—	0,11	0,10	0,07	0,01	0,05	-0,03

第四表 マウス肝に依る Halogenacylpeptide の分解

2 ccm 中の増加 $\text{NH}_2\text{-N}$ (mg)

基 質	消化時間	PH					
		5,0	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0
Chloracetyl-l-phenylalanin	24	—	—	—	—	0,648	—
	72	—	—	—	—	1,163	—
	120	—	—	—	—	1,210	—
Chloracetyl-dl-phenylalanin	24	0,018	0,018	0,066	0,067	0,017	0,016
	72	0,039	0,033	0,080	0,204	0,204	0,164
	120	0,040	0,046	0,084	0,259	0,305	0,180
Bromisocapronyl-dl-phenylalanin	24	—	—	—	—	0	—
	72	—	—	—	—	0	—
	120	—	—	—	—	0,156	—
Bromisocapronyl-glycin	24	0,005	0,005	0,038	0,039	0,038	0
	72	0,006	0,010	0,027	0,024	0,043	0
	120	0,005	0,005	0,048	0,044	0,049	0,016
Bromisocapronyl-diglycin	24	—	—	—	—	0,465	—
	72	—	—	—	—	0,746	—
	120	—	—	—	—	0,746	—

第五表 マウス肝 Acylase の吸着試験

4 ccm 中の酸値増加 (ccm 0,1 n-NaOH)

吸着時PH	吸 着 剤 (吸 着 残 液)	24時間		72時間		120時間	
		Benzoyl-glycin	Benzoyl-glycylglycin	Benzoyl-glycin	Benzoyl-glycylglycin	Benzoyl-glycin	Benzoyl-glycylglycin
4,4	nicht adsorbiert	0,25	0,37	0,75	1,32	1,02	2,07
	5% Kieselgur	0,23	0,33	0,68	0,95	1,00	1,68
	5% Tierkohle	0,07	0,35	0,32	1,30	0,57	1,95
	2% Kaolin	0,25	0,33	0,58	0,80	0,75	1,56
	Tonerde(0,1% Al_2O_3)	0,25	0,30	0,70	0,75	0,90	1,48
5,8	nicht adsorbiert	0,40	0,30	0,90	1,15	1,18	2,00
	5% Kieselgur	0,15	0,23	0,52	0,89	0,74	1,50
	5% Tierkohle	0	0,02	0,03	0,08	0,08	0,10
	2% Kaolin	0,28	0,22	0,77	0,70	0,92	1,42
	Tonerde(0,1% Al_2O_3)	0,15	0,12	0,48	0,62	0,63	1,22

7,2	nicht adsorbiert	1,00	0,35	1,55	1,55	1,55	2,35
	5% Kieselgur	0,98	0,33	1,53	1,47	1,53	2,15
	5% Tierkohle	0,75	0,30	1,50	1,50	1,55	2,35
	2% Kaolin	0,95	0,30	1,50	1,33	1,50	2,05
	Tonerde(0,1%Al ₂ O ₃)	0,95	0,30	1,50	1,40	1,50	2,15
8,4	nicht adsorbiert	1,08	0,33	1,45	1,40	1,50	2,10
	5% Kieselgur	0,93	0,30	1,43	1,35	1,48	2,05
	5% Tierkohle	1,00	0,30	1,40	1,40	1,40	2,04
	2% Kaolin	0,95	0,30	1,42	1,30	1,45	2,02
	Tonerde(0,1%Al ₂ O ₃)	0,82	0,30	1,40	1,35	1,42	2,05

第 六 表 マウス肝 Acylase の吸着分離試験 (獸炭末PH 5,8)

4 ccm 中の酸値増加 (ccm 0,1 n-NaOH) PH 7,3

基 質	消化時間	吸着殘液	吸着分離液 (PH 9,0)	nicht adsorbiert
Benzoylglycin	24	0	0,10	0,50
	72	0,03	0,45	1,23
	120	0,03	1,20	1,45
Benzoyl-glycylglycin	24	0	0	0,37
	72	0,03	0,05	1,33
	120	0,03	0,05	2,02
Glycylglycin	3	0,20	0	0,40
	8	0,30	0,05	0,75
	24	0,70	0,05	1,12
Gelatine (1%)	24	0,15	0	0,55
	72	0,22	0	0,62
	120	0,30	0	0,70
Casein (1%)	24	0	—	0,50
	72	0,20	—	0,70
	120	0,45	—	0,90

總 括

(1) 豚, 犬, 家鶏, 家兎, 猫, モルモット, 白鼠又マウスの各臓器に於ける Benzoylglycin 又 Benzoyldiglycin 分解酵素作用の分布状態を検査せり. マウス又豚の肝並に腎に依る分解値最も大なり. 殊にマウス脾に於て他の動物臓器に比し分解強大なるを認めたり.

(2) マウス肝中に強力なる Benzoylglycin (PH 7,0—7,5) 又 Benzoyldiglycin (PH 7,0—8,0) 分解酵素作用を認めたり. その程度は豚肝に比適す.

(3) Benzoyl-dl-leucylglycin, Benzoyl-dl-phenylalanin (β), Phtalyldiglycin はマウス肝酵素作用に對し抵抗あり.

(4) Chloracetyl-l-phenylalanin (α) は Chloracetyl-dl-phenylalanin (β) に比し分解著明 (PH 7,5)にして, Bromisocapronyldiglycin も分解陽性なり.

(5) PH 5,8 に於て5% Tierkohle に依るマウス肝の Benzoylglycin 及び Benzoyldiglycin 分解酵素作用の吸着を観る. 此の被吸着相を PH 9,0 安門水にて離溶したるに Benzoylglycin を分解するも, Benzoyldiglycin を分解し得ざる酵素液を收得せり.

(昭和十四年十二月 化學研究所講演會にて發表)

擧筆に臨み恩師内野教授並に荻生教授の御懇篤なる御指導に對し衷心より謝意を表す。

文 獻

- 1) O. Schmiedeberg, Archiv. f. experim. Pathol. u. Pharm., **14**, 379 (1881).
- 2) I. A. Smorodinzew, Zeitschr. f. physiol. Chem., **124**, 123 (1923).
- 3) S. Tamura, Acta schol. med. univer. imper. in Kioto, **6**, 467 (1924).
- 4) S. Utzino, Journ. of Biochem., **9**, 453 u. 465 u. 483 (1928).
- 5) H. Kimura, Journ. of Biochem., **10**, 207 (1929).
- 6) T. Sô, Journ. of Biochem., **12**, 107 (1930).
- 7) H. Akizuki, Journ. of Biochem., **25**, 43 (1937).
- 8) T. Imai, Zeitschr. f. physiol. Chem., **136**, 205 (1924).
- 9) T. Kawai, Journ. of Biochem., **10**, 277 (1929).
- 10) F. Itzioka, Journ. of Biochem., **24**, 139 u. 267 (1936).
- 11) 市岡冬太郎, 化學研究所講演集, **7**, 224 (1937).
- 12) 内野仙治, 吉岡政七, 化學研究所講演集, **10**, 153 (1939).
- 13) H. Mayeda, Acta schol. med. univer. imper. Kiotoensis, **18**, 205 (1936).
- 14) S. Utzino und M. Nakayama, Enzymologia, **8**, 280 (1940).