

多糖類の集成機構に関する研究 (第11報)

馬鈴薯フオスフォリラーゼによる澱粉の合成

Studies on the Mechanism of the Formation of Polysaccharides. XI

Synthesis of Starch by Potato Phosphorylase

井上吉之・小野寺幸之進・木咲 弘

Yoshiyuki Inoue, Konoshin Onodera and Hiromu Kizaki

馬鈴薯フオスフォリラーゼによる澱粉の合成作用は Hanes¹⁾, Green and Stumpe²⁾, Hily and Day³⁾ 等によつて報告されているが、夫等の研究に於ては主として精製フオスフォリラーゼが用いられている。フオスフォリラーゼは精製途上に於て不活性化され易く、その上精製の程度も的確に判定する事は困難である。合成澱粉を多量に得るためには或る程度の精製を行つたフオスフォリラーゼを使用するのが便利であると考えて、著者等は部分的精製を行つた馬鈴薯フオスフォリラーゼを調製し、それを用いて澱粉合成の條件を検討した後合成澱粉を調製した。

1. 酵素液調製方法による酵素力の變化

フオスフォリラーゼの精製法としては粗汁液を活性炭の層を通して濾過し、濾液を酵素液として使用した。(a)粗汁液*, (b)粗汁液を直に活性炭層で濾過した液, (c)(a)液を一夜放置し活性炭層を通して濾過した液の3者を用いて實驗を行つた結果は次の如くである. (*この場合の粗汁液は馬鈴薯を磨碎し布で濾過し遠心した上澄液を云ふ)

酵素液	0 分		10 分		20 分		30 分		45 分		60 分		90 分		120 分	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
(a)	黄 0%		藍 37.0%		紫 90.3		紫 93.5		—	—	赤紫 50.3		赤紫 33.3		淡褐紫 15.5	
(b)	黄 0		淡青 2.4		青 11.3		藍 33.5		濃藍 77.8		紫 88.6		赤紫 88.6		茶紫 66.5	
(c)	黄 0		黄 0		淡青 7.6		淡藍 22.1		藍 44.3		濃藍 77.8		濃藍 88.2		紫 88.6	

A: ヨード呈色反應, B: 遊離される無機磷と全磷との割合, 反應液 10cc, 中 glucose-1-phosphate (K 鹽) 50mg, 酵素液 5cc., 溫度 25°C, pH 6.0~6.2

活性炭層を通過させる事により酵素力はあまり失われていない。又部分的精製を行つた酵素液は粗汁液と澱粉合成の狀態が異つている。

2. 溫度の影響

(b)處理による酵素液を使用して(1)と同様にして 13°, 25°, 33°C に於て澱粉合成作用を行わせた。無機磷の遊離される最高は 33° では45分, 25° 60~90分, 13° 120分に於て見られ、その脱磷率は夫々 87.1%, 88.6%及び 88.6%であつた。

3. 酵 素 量 の 影 響

反應液 10cc 中の酵素液を 2.5cc, 1.25 cc として澱粉合成作用を行わせた. ヨード反應の發現は夫々30分, 60分後に於て初めて見られた. 酵素液が少いと無機磷の遊離される速度は徐々であるが最高は共に85%であつた.

4. Glucose-1-Phosphate の量による影響

反應液 10cc 中酵素液 5cc を用い, glucose-1-phosphate を夫々 50mg, 100mg 及び酵素液2.5 cc で 100mg を用い, 溫度 21°C pH 6.0~6.2 にて實驗を行つた結果 glucose-1-phosphate が多くても(3)の實驗と同様澱粉の合成は徐々であつて, 無機磷の遊離の最高點は遅く現われるがその率は何れの場合に於ても殆んど同程度であつた.

5. 酵素液を比較的少量使用した場合

活性炭層で濾過した酵素液は氷庫に 2~3 日貯藏すると白色沈澱を生じ, 濾過により透明なる液が得られる. この酵素液を少量使用して澱粉を合成させた, 反應液 20 cc 中 glucose-1-phosphate 及び酵素液を夫々 (a) 100mg, 1cc, (b) 100mg, 2cc, (c) 300mg, 2cc, (d) 300mg, 5cc を用いて實驗した. (a), (b)共に48時間に於て白濁を生じ澱粉の沈澱を生じはじめる. (c) (d)に於ては夫々 48, 12 時間にて相當量の澱粉の沈澱を認めた.

6. 酵素液中のフォスファターゼ及びアミラーゼの試験

反應液中 NaF の存在に於て Glucose-1-Phosphate 及びグリセロ磷酸ソーダより無機磷が遊離され, 又 Glucose-1-Phosphate より澱粉が生成され, 一方 NaF によつて酵素作用は阻害を受けない事によつて無機磷の遊離されるのはフォスファターゼによるのでない事が確認される. 又 Ling 氏法によつてアミラーゼの存在は認められなかつた.

7. 合成澱粉の調製

基質に對して比較的少量の酵素液を用いて澱粉の合成を行つた.

glucose-1-phosphate 3.75g, 酵素液 25cc [(6)の酵素液], 水 125cc, 溫度 21°C pH 6.4 toluene 少量を加え反應させた.

	0 分	24時間	36時間	48時間	72時間	96時間
反 應 液 の 状 態	透 明	透 明	透 明	少し混濁	白色沈澱 沈降	〃
ヨード反應	黄	青 藍	濃 藍	濃 藍	濃 藍	濃 藍
無 機 磷 / 全 磷	0 %	11.9%	17.6%	23.4%	35.4%	70.6%

白色沈澱を濾取しアルコール, エーテルで洗滌し真空乾燥する. 收量 0.49 g, 白色の粉末である. 尚又濾液にアルコールを加えて66%とし放置すると白色沈澱を生じた. 上と同様にして糊様物質 0.53g を得た.

文 献

- 1) C. S. Hanes; Proc. Roy. Soc., B **128**, 421 (1949).
- 2) D. E. Green and Stumpe; J. Biol. Chem., **142**, 355 (1942).
- 3) D. H. Hidy and H. G. Day; J. Biol. Chem., **160**, 273 (1945).

(昭和 24 年 2 月 28 日 受理)