



Title	酵母のカタラーゼに及ぼす低温の影響 : 第2報 酵母カタラーゼの分離精製について
Author(s)	小川, 忠人; OGAWA, Tadato
Citation	低温科学, 10, 187-189
Issue Date	1953-03-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/17555">https://hdl.handle.net/2115/17555</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	10_p187-189.pdf



## 酵母のカタラーゼに及ぼす低温の影響

### 第2報 酵母カタラーゼの分離精製について\*

小 川 忠 人

(低温科学研究所 醫學部門)

(昭和27年9月受理)

#### 緒 言

多くの酵素の中でも、カタラーゼは比較的早くから分離精製が試みられており、従つてまた多くの精製法が發表されている。材料としては肝臓<sup>1-4)</sup> 血液<sup>5-6)</sup> 等が用いられ、之等をアルコール、エーテル等で處理して、酵素を随伴する蛋白と共に沈澱させるか、或はまた三鹽基性カルシウム、水酸化アルミニウム等に吸着せしめて抽出し、更に之等を吸着或は透析等の方法を繰返して精製するという方法がとられている<sup>7)</sup>。

一方細菌及び酵母がカタラーゼを有することも古くから知られているにも拘らず、之等からカタラーゼを抽出する試みは割合に少ない。例えば Jakoby (1918)<sup>8)</sup> は硫酸アルミニウム、硫酸マグネシウム、硫酸水銀等によつて細菌カタラーゼを沈澱せしめて良質の材料を分離し、また Isajew 1904<sup>9)</sup> は醸母菌よりカタラーゼを分離することに成功しており、最近には Herbert and Pincent (1947)<sup>7), 11)</sup> は *Micrococcus lysodeikticus* から結晶を得ているといわれている。また松山氏 (1933)<sup>10)</sup> は酵母カタラーゼについて多くの検索を行つているが、その試料には壓搾酵母から吸着法によつて精製して得たカタラーゼ液を用いた。

私は今回次報に述べるような實驗に供するために、先人の方法を參照しながら比較的簡単な方法で酵母カタラーゼの分離を試みた。

#### 結 晶 分 離 法

材料には壓搾酵母 (ニッテン・イースト、含水量70%) を用いた。酵母1kgに對して1000ccの水及び100ccのトルオールを加へ、20°Cに6時間保つた後一夜0°C附近に放置した(a)。之を低温のまま遠沈し、上清液(b)にその80%容量の冷却したアセトンを攪拌しながら徐々に注加する。一時間0°C附近に放置後に、生じた遠心沈澱を最初の抽出液(b)の約0.25容の水に

\* 北海道大學低温科学研究所業績 第153號

溶解し、更に遠沈して不溶物を除く (c)。前と同様に溶液をその量の 0.8 容の冷アセトンで処理し得られた沈渣を最初の抽出液 (b) の 0.1 容の水に溶解、不純物を除く (d)。次で M/10 磷酸緩衝液 (pH 7.2) を加へて pH を 6.8 に調整した後、硫酸を 0.43 飽和になるように加える。生じた沈渣を遠心分離し、極く少量の水に溶解し速かに遠沈 (3~4 分) して不溶物を除き (e)、一夜氷室に放置すれば結晶が析出する。かくして得られた結晶の Kat. f. は 24200 であつた。

肝臓及び血液からのカタラーゼの抽出については多くの試みがなされているにも拘らず、微生物からの分離精製があまり行われていないのは、抽出液の困難さによるよりも材料に供すべき微生物を極めて大量に要することによるものと思われる。即ち上記の抽出操作過程に於ける壓搾酵母 kg 當りの各抽出液の量及びその 1 cc 當りのカタラーゼ活性度は表に示す通りで、純粹なカタラーゼ結晶の Kat. f. を 32000 と假定しても、抽出過程で最高活性度を示した b 液についてみても酵母 1 kg 當り約 40 mg、私の得た結晶の Kat. f. 24200 から計算しても 52 mg が b 液中に含まれているに過ぎない。

第 1 表 分離操作過程に於ける抽出液の量とその Kat. f. (壓搾酵母 1.0 kg 當り)

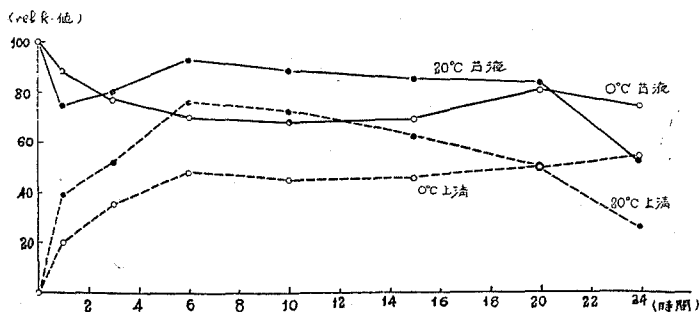
	抽出液量	Kat. f. (1 cc 當り)	total Kat. f.
酵母浮游液*	ca. 2000 cc	0.2818	563.6
a 液	ca. 2000	2.145	4290.3
b 液	ca. 1000	1.260	1260.0
c 液	250	4.380	1095.0
d 液	100	11.43	1143.0
e 液	10cc に溶かした物	99.1	991.0

\* 等量の溜水を加え浮游液とした無処理のもの。Kat. f. の測定は  $\text{KMnO}_4$  による滴定法。

尚、本抽出を行うに先だつて、酵母液を浸出する際の温度並びに時間によるカタラーゼ量の變化を示せば第 2 表、第 1 圖の通りである。この豫備實驗は壓搾酵母を細搾し、同量の水及び 5% 相當量のトルオールを加へ 0°C 及び 20°C に保ち、カタラーゼ量の變化を時間的に追求したものである。

第 2 表 壓搾酵母浮游液を加温した場合のカタラーゼ量 (rel. k 値)

温度	放置時間	0	1時間	3	6	10	15	20	24
0°C	菌液	100	88.4	76.9	70.2	67.9	68.8	81.5	74.6
	上清	0	19.6	34.6	47.5	45.2	46.2	50.2	54.7
20°C	菌液	100	74.6	79.3	93.1	88.4	84.7	83.6	54.3
	上清	0	39.1	52.4	76.5	72.0	62.1	50.3	27.2



第 1 圖

懸液酵母を加温した場合のカタラーゼ活性度の時間的變化

文 献

- 1) Agner, K. 1938 The preparation and properties of a highly active catalase from horse liver. *Biochem. J.*, **32**, 1702.
- 2) Sumner, J. & B. A. L. Dounce 1937 Crystalline Catalase. *J. Biol. Chem.*, **121**, 417.
- 3) Kitagawa, M. & M. Shirakawa 1941 A method of isolation of crystalline beef liver catalase. *J. Biochem.*, **33**, 201.
- 4) 白川正治 1948, 1950 結晶カタラーゼの研究  
第2報 分離再結晶法の改良について. *日農化.*, **22**, 115.  
第7報 再び結晶分離法の改良について. *日農化.*, **23**, 361.
- 5) Tsuchihashi, M. 1923 Zur Kenntniss der Blutkatalase. *Biol. Z.*, **140**, 63.
- 6) 菊池源三 1930 血液カタラーゼ知見補遺. *福岡醫大誌*, **23**, 185.
- 7) 日野精一 1949 カタラーゼ. *酵素化学の進歩* (共立出版株式会社), **1**, 92.
- 8) Jakoby, M. 1918-1919 Über Bakterienkatalase. *Biochem. Zs.*, **89 92, 95**.
- 9) Isajew, W. 1904 Über die Hefeoxydase. *Hoppe-Seyler Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **42**, 132.
- 10) Matsuyama, M. 1933 Untersuchung über die Hefekatalase. *J. Faculty Agr. Hokkaido Imp. Univ.* **32**, 109.
- 11) Herbert, D. & Pincent, A. J. 1947 *Nature*, **160**, 125.

Résumé

A method for separation and purification of catalase from yeast cells was described.