



Title	凍結融解による牛肝臓カタラーゼ溶液の活性度の變化について
Author(s)	小川, 忠人; OGAWA, Tadato
Citation	低温科學, 10, 201-204
Issue Date	1953-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17558
Type	departmental bulletin paper
File Information	10_p201-204.pdf



凍結融解による牛肝臓カタラーゼ溶液の 活性度の變化について*

小 川 忠 人

(低溫科學研究所 醫學部門)

(昭和27年9月受理)

緒 言

私はさきに生酵母菌液及び抽出酵母のカタラーゼ溶液について、低溫處理を行つた際のカタラーゼ活性度に對する影響を吟味した。¹⁻²⁾ その際同一試料でも、凍結融解の條件によつて活性度の變化に差異のあることを認めた。今回は更に牛肝カタラーゼを用いて同様の實驗を行い、併せて前のカタラーゼの場合と比較してみた。

實驗方法並びに成績

試料には白川氏の方法³⁾に従い、自己消化せしめた牛肝臓粥より抽出し、アセトン及び硫酸にて處理して得られた粗製牛肝臓カタラーゼ結晶 (Kat. f. = 30160) を用いた。

これを約 100 倍の水溶液とし、その 1 cc を試験管により、ブラインに依つて急速或は緩慢に冷却凍結せしめ、熱電對を用いてその間の試料の溫度變化を詳細に記録した。

融解は +20°C の溫水浴中で急速に行い、融解後試料を更に溜水にて 10 倍に稀釋し、その 1 cc を酵素液として過マンガン酸カリによる滴定法でその活性度を測定した。冷却方法及びカタラーゼ活性度測定法は、前の酵母カタラーゼの場合²⁾と同様である。

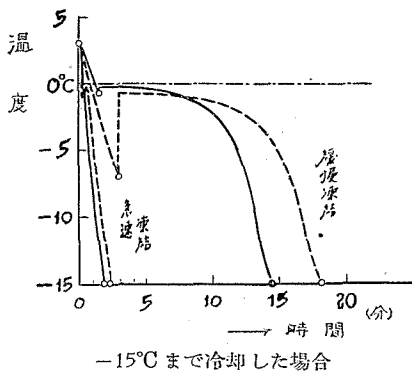
1) 冷却曲線

ブラインで -15°C 及び -30°C まで冷却した場合の溶液の溫度變化は、第 1 圖の冷却曲線に示す通りである。

2) 冷却速度を變えた場合のカタラーゼ活性度の變化

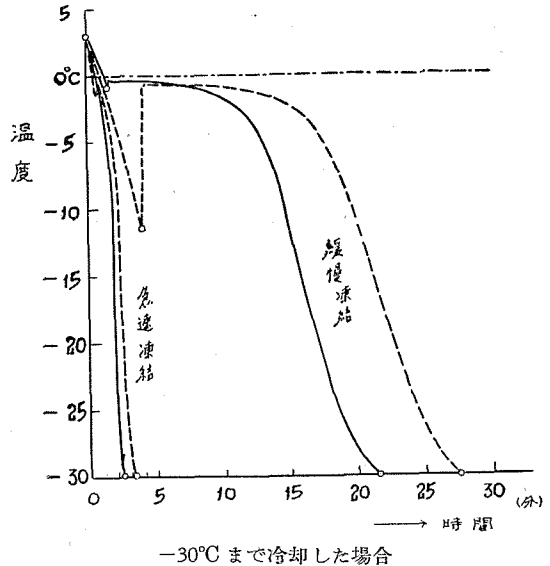
冷却の條件をいろいろ變えながら凍結させた場合のカタラーゼ活性度の變化は第 1 及び第 2 表のようになる。即ちいずれの場合にも常に無處理の對照よりも活性度の低下することがみとめられた。しかも緩慢に冷却したものは急速冷却したものより低下の割合が大きく冷却速度の

* 北海道大學低溫科學研究所業績 第 156 號。



第1圖 冷却曲線

實線：過冷却をさせない場合
破線：過冷却させた場合



第1表 -15°Cまで冷却した場合

実験例	対 照	急 速 冷 却		緩 慢 冷 却	
		過冷却しないもの	過冷却したもの ¹⁾	過冷却しないもの	過冷却したもの ²⁾
No. 1	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ 28.76	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k) 28.02 (97.4)	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k) 26.38 (91.7)	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k) 25.58 (88.9)	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k) 24.50 (86.1)
No. 2	31.19	28.78 (92.3)	28.95 (92.8)	29.50 (94.6)	28.99 (89.8)
No. 3	28.73	27.63 (97.4)	23.10 (81.4)	25.88 (91.2)	19.30 (68.0) ⁴⁾
No. 4	29.74	28.98 (97.4)	26.80 (90.1)	26.87 (90.3)	19.96 (67.1) ⁴⁾
No. 5	26.18	22.73 (96.4)	17.95 (68.6) ³⁾	23.25 (88.8)	19.98 (73.5)
rel. k 平均値	(100.0)	(97.2 ± 0.29)	(84.9 ± 6.40)	(90.7 ± 2.53)	(76.9 ± 4.34)

註 1) 過冷却温度 $-0.3 \sim -0.5^\circ\text{C}$ 2) 過冷却温度 $-7.0 \sim -7.5^\circ\text{C}$ 3) 過冷却温度 -1.5°C

4) -9.0°C 附近で $0.5 \sim 1.0^\circ\text{C}$ の一時的温度上昇を認めたもの

第2表 -30°Cまで冷却した場合

実験例	対 照	急 速 冷 却		緩 慢 冷 却	
		過冷却しないもの	過冷却したもの ¹⁾	過冷却しないもの	過冷却したもの ²⁾
No. 1	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ 30.80	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k) 27.92 (90.7)	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k) 25.61 (83.2)	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k) 22.20 (72.1)	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k) 16.93 (55.0)
No. 2	31.42	27.20 (86.6)	24.07 (76.6) ³⁾	21.90 (69.7)	17.28 (55.0)
No. 3	28.58	25.04 (88.4)	26.73 (94.4) ⁴⁾	26.83 (74.7)	15.40 (54.1)
No. 4	28.33	22.73 (80.3)	23.85 (84.4)	20.78 (72.5)	19.55 (69.0) ⁵⁾
No. 5	28.67	24.90 (86.9)	23.60 (82.3)	22.89 (79.7)	20.10 (70.0) ⁵⁾
rel. k 平均値	(100.0)	(86.6 ± 1.56)	(83.0 ± 3.60)	(73.7 ± 1.51)	(60.8 ± 3.10)

註 1) 過冷却温度 $-0.5 \sim -1.0^\circ\text{C}$ 2) 過冷却温度 $-10.0 \sim -13.0^\circ\text{C}$ 3) 過冷却温度 -1.5°C

4) 過冷却温度 -0.3°C 5) 過冷却温度 7.0°C

同じものでは、 -30°C まで冷却したものは -15°C までのものよりも活性度が落ちた。更に凍結前に過冷却を示したものは、それぞれ過冷却しないものよりも一層活性度の低下することがみとめられた。

3) 凍結融解を繰返した場合のカタラーゼ活性度の變化

-30°C までの緩慢凍結急速融解を繰返すと第3表に示すように、第1回目でかなりの活性度の低下を示し、第2、第3回目は僅かの低下を示すにすぎない。また過冷却を示したものでは過冷却しないものに比べて活性度の低下は大きい、回を重ねるにつれて両者の差は少なくなつて行く傾向にある。

第3表 凍結融解を繰返した場合

実験例		対 照	1 回	2 回	3 回
		$k \cdot 10^3/\text{mg}$	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k)	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k)	$k \cdot 10^3/\text{mg}$ (rel. k)
過な 冷い 却も しの	No. 1	27.83	20.24 (72.5)	18.81 (65.2)	17.69 (63.4)
	No. 2	28.31	20.71 (73.3)	20.28 (71.6)	19.34 (68.4)
	No. 3	28.14	20.83 (73.6)	18.60 (65.7)	18.02 (63.7)
	rel. k 平均	(100.0)	(73.1)	(67.5)	(65.2)
過た 冷も 却の し	No. 1	27.83	19.68 (70.6)	19.02 (68.2)	18.60 (66.8)
	No. 2	28.31	19.69 (69.5)	18.60 (65.7)	17.60 (62.2)
	No. 3	28.14	19.45 (68.7)	18.91 (66.9)	17.02 (60.2)
	rel. k 平均	(100.0)	(69.6)	(66.9)	(63.1)

考 察

牛肝臓から抽出したカタラーゼの溶液を種々の条件で凍結融解した場合、常にその活性度の低下することが認められた。これはさきに酵母より抽出したカタラーゼの溶液に於てみとめられたと全く同一の所見である。そしてまた、急速凍結より緩慢凍結が、及び -15°C 冷却より -30°C 冷却がそれぞれ活性度の低下の甚しいことも酵母カタラーゼの場合と同様であつた。

要するに低温処理によるカタラーゼ活性度の低下は、溶液の凍結状態によつて左右されるもので、結局カタラーゼ溶液中に生成される氷晶が酵素分子の活性基に對して障害を及ぼすものと想像される。

摘 要

粗製肝臓カタラーゼの溶液を凍結融解すると、その活性度は低下する。然もその低下の割合は酵母カタラーゼ溶液の場合と同様、低温処理の条件によつて異なることをみとめた。

終りに臨み、御指導を頂いた根井教授、及び援助、助言を受けた同僚秋元君の御好意に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 小川忠人 1953 酵母カタラーゼに及ぼす低温の影響. 第1報 生酵母菌液のカタラーゼに及ぼす低温の影響. 低温科学, 10, 175.
 - 2) 小川忠人 1953 同上. 第3報 精製酵母カタラーゼに及ぼす低温の影響. 低温科学, 10, 191.
 - 3) 白川正治 1953 結晶性カタラーゼに関する研究. 第7報 再び結晶分離法の改良について. 日農化, 23, 8, 361.
-

Résumé

Raw catalase solution prepared from cow liver lost its activity down to about 60% of normal control value according to the conditions of freezing and thawing. The phenomena thus disclosed were similar to those in the case of yeast catalase.