



Title	塩辛の細菌学的研究：第14報 細菌のL-アミノ酸酸化酵素系の相互転化について
Author(s)	長尾, 清; NAGA0, Kiyoshi
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 7(2), 109-112
Issue Date	1956-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/22955
Type	departmental bulletin paper
File Information	7(2)_P109-112.pdf



塩辛の細菌学的研究

第14報 細菌のL-アミノ酸酸化酵素系の相互転化について*

故 長 尾 清
(北海道大学水産学部水産細菌学教室)

Bacteriological Studies of Shiokara or "Soused Squid"

14. On the mutual transformation of L-amino acid oxidizing enzymes in the isolated bacteria

LATE Kiyoshi NAGAO

緒 言

酵素の研究は周知の様子主として1930年以後生細胞からの抽出精製によつてその実体が解明され、酸化還元系の様に、試験管内で数種の酵素を連結して、再合成的に観察され得るようになったものや、或は1940年前後から明らかにされた如く、高エネルギー含有の磷酸化合物の存在下に、合成反応を試験管内で部分的に再現出来るようになったものもある。これらの成果は酵素の単離から一歩進んで、生細胞内の酵素相互間の連関に近づいたことを示している。

著者は前に塩辛の熟成中の呈味の源と考えられるアミノ酸が生細胞の内外でどの様にして生合成され或は代謝されて行くかと云う問題特に Braunstein 等が提唱したアミノ酸の酸化的脱アミノとアミノ基転移との系について、実際にどのアミノ酸がどの程度にこの機序で酸化されるかを研究し、併せてアミノ酸酸化酵素の形成と云う問題について解析を試みた。

適応酵素が形成される場合、重要な現象は加えられた基質によりそれぞれ特有な lag phase を経過して後酵素が実際に合成され、基質が存在する限り一定の活性を維持する lag phase が見られる事である。本報に於ては未適応菌に A, B, C ……等の基質を同時に与えた場合、同時にすべての基質に対して酵素系が形成されるか否か、酵素形成の時アミノ酸相互間に拮抗作用があるか否か、又一度 lag phase を経て形成された酵素系の相互転化の問題について研究した結果について報告する。

実 験 方 法

使用菌種・培養法・菌浮遊液の調製法・酸化能の測定方法は前報に記載した通りである。

実験結果及び考察

1 二種のアミノ酸混液中に於ける酸化能

著者は前に各種アミノ酸の混合物を加えた培地で发育させた菌は agar-agar 培地に发育した菌に比しアミノ酸の酸化能は弱く、酵素形成の爲の lag phase がやゝ長くなる事を報告した。

Neurospora crassa の場合でもカゼイン加水分解物を培地中に加えるとL-アミノ酸酸化酵素の形成は阻止される。これらの事実は发育時培地中の基質の濃度や基質相互間の拮抗作用及び単一の基質がある時にのみその基質に特異的な酵素が形成される等の理由によるものであらうと思われる。

* 本論文は故長尾清氏の遺稿であつて、木村喬久氏これを整理し、谷川英一氏の校閲を経て出版の運びとなつたものである。(編集委員)

Spiegelman は amino acid analogue を用いて、酵母に於ける酵素形成について実験し酵素蛋白合成は遊離のアミノ酸を primary nitrogen source として用いられる事を明らかにした。この場合 L-glutamic- γ -hydrazide が単に glutamic acid の analogue として作用し、glutamic acid の蛋白への高分子化 (incorporation) を阻害するのみでなく、適応の lag の段階で L-glutamic- γ -hydrazide はアミノ基転移反応の阻害剤として作用し、酵素蛋白の素材アミノ酸の質的量的集約がおさえられる。それで細胞に基質が与えられて、まず諸アミノ酸の集約化が起り、これらが蛋白へ高分子化される段階で、唯一つのアミノ酸の利用が阻害されると例えば唯一つのアミノ酸の analogue の添加等ですべてのアミノ酸の高分子化された物質の形成を意味するものと考えられる。

以上の点及びアミノ酸の種類によつて酸化される速度に差がある事やアミノ酸酸化酵素と基質との結

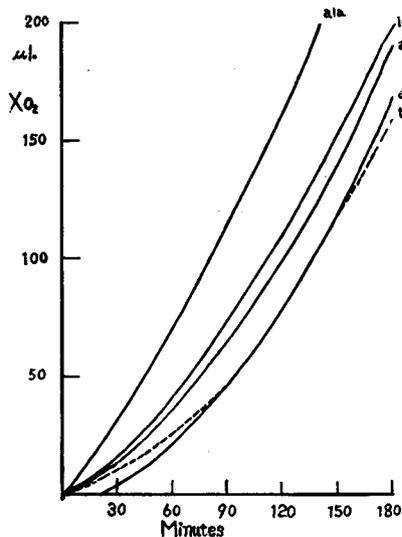


Fig. 1 The effects of the presence of the other amino acids on the oxidation of glutamic acid by cell suspensions of *Bac. subtilis*

Each manometric cup contained 1cc of bacterial suspension (2mg dry weight /cc), 0.5cc of 2.5×10^{-2} M glutamic acid, 0.5cc of 2.5×10^{-2} M amino acid, and 0.5cc of 0.067M phosphate buffer of pH 7.4; 0.3cc of alkali in center well.

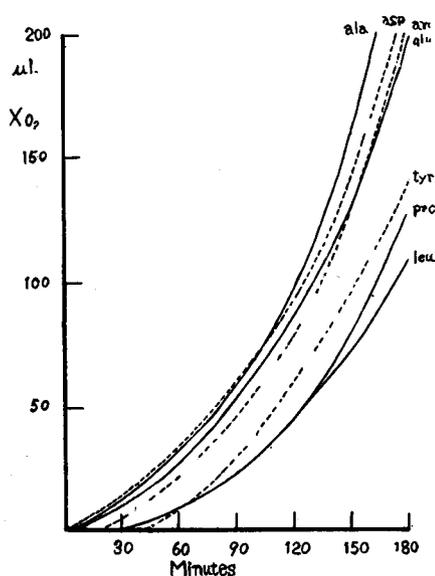


Fig. 2 The effects of the presence of the other amino acids on the oxidation of proline by cell suspensions of *Bac. subtilis* The experimental conditions are the same in Fig. 1.

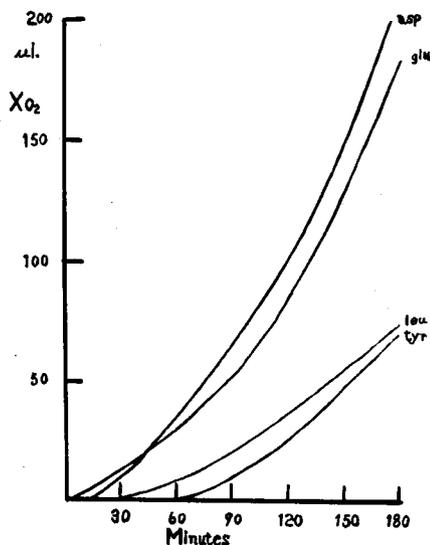


Fig. 3 The effects of the presence of the other amino acids on the oxidation of arginine by cell suspensions of *Bac. subtilis*

The experimental conditions are the same as in Fig. 1.

合等の事を考えるとアミノ酸相互間の拮抗作用が起り得るのではないかと云う事が考えられる。

Bac. subtilis を agar-agar 培地に培養し、常法通り菌浮遊液を作り glutamic acid とそれ以外のアミノ酸の混液, proline とそれ以外のアミノ酸混液, arginine とそれ以外のアミノ酸の混液を基質とした場合の酸化能を測定した結果を Fig. 1, 2 及び 3 に図示した。

Fig. 1 に示した様に glutamic acid + alanine の場合は glutamic acid 単独及び alanine 単独の場合より酵素活性及び酸化酵素形成量は大である。Glutamic acid と alanine 以外のアミノ酸の共存の場合は glutamic acid 単独の場合に比し僅かに酸化能は低下しているが、殆んど差がない。これは酸化され難い leucine, arginine 及び tyrosine と共存していても glutamic acid に対する酸化能には余り影響しない事を示している。Aspartic acid 単独の場合、この菌の浮遊液では最も速かに酸化されるにも拘らず glutamic acid + aspartic acid の場合はそれぞれのアミノ酸の単独の場合に比し活性は低下し約 20 分の Lag phase を要した。

Fig. 2 に示した様に proline とそれ以外のアミノ酸の共存の場合はこれらのアミノ酸の単独の場合とあまり差がない。但し proline + arginine の場合に proline 単独及び arginine 単独の場合に比し酸化能は大となつてゐるが、これはいかなる理由によるか不明である。

Fig. 3 に示した様に arginine とそれ以外のアミノ酸の共存の場合も、それぞれのアミノ酸単独の場合とあまり差がない。

2 酵素系の相互転化

Bac. subtilis の菌体を或るアミノ酸と接触させ、そのアミノ酸の酸化に適応した菌を作り、この菌を水洗して適応菌の浮遊液を作り、この菌に他のアミノ酸を反応させた場合の酸化能を測定した結果を Fig. 4, 5, 6 及び 7 に図示した。

1) Glutamic acid 適応菌の場合

Glutamic acid に対する酸化酵素量は増大し、反応と同時に旺盛な酸素消費が見られる。Glutamic acid

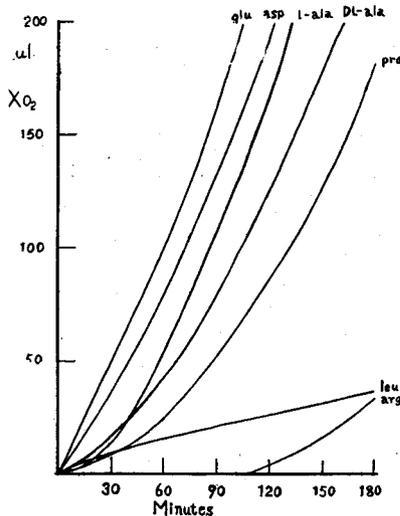


Fig. 4 The velocity of oxidation of amino acids by the cells adapted with glutamic acid

The cells adapted with glutamic acid were prepared by the incubation of glutamate with intact cells at 30° for 100 min., then the cells were washed with distilled water.

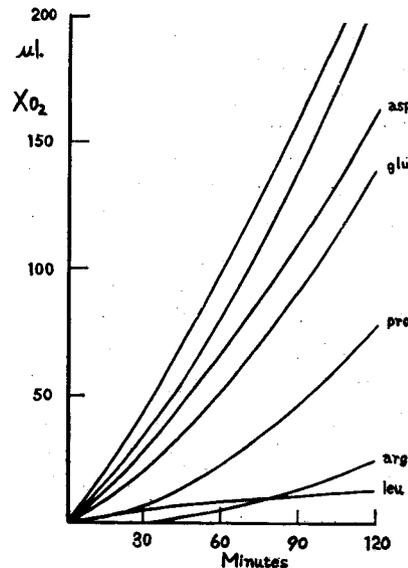


Fig. 5 The velocity of oxidation of amino acids by the cells adapted with DL-alanine

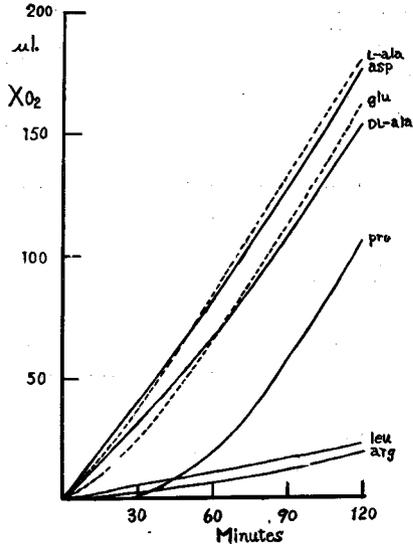


Fig. 6 The velocity of oxidation of amino acids by the cells adapted with L-aspartic acid

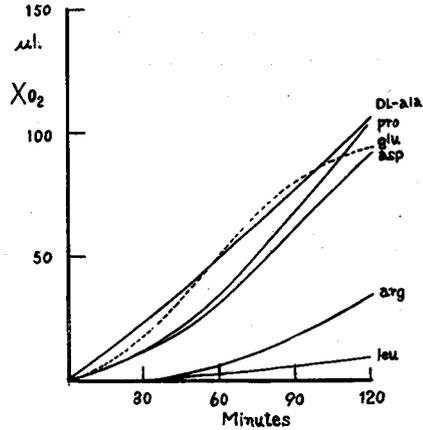


Fig. 7 The velocity of oxidation of amino acids by the cells adapted with L-proline

以外のアミノ酸に対しては Glutamic acid 未適応菌の場合と同様に L-aspartic acid, L-alanine, L-proline 及び L-leucine の順序で酸化される。しかしこれらのアミノ酸に対する酸化能は増大している。Arginine に対する酸化は全然見られず約 100 分の lag phase 後に酸化作用が見られる。この場合未適応菌の場合より lag phase は約 40 分延長されている。

2) DL-Alanine 適応菌の場合

DL-alanine, L-alanine, L-aspartic acid, L-glutamic acid L-proline, 及び L-leucine の順序で酸化され DL-alanine, L-alanine, L-aspartic acid 及び L-glutamic acid に対する酸化酵素量は増大している。L-proline 及び L-leucine に対しては酵素量の増大は見られない。L-arginine に対しては未適応菌の場合と同様約 40 分の lag phase の後酸素の消費が見られ、しかも酵素形成量も未適応菌と変らない。

3) L-aspartic acid 適応菌の場合

L-aspartic acid, L-alanine, DL-alanine, L-glutamic acid, L-leucine 及び L-arginine の順序で酸化され、L-aspartic acid, L-alanine 及び DL-alanine に対する酵素量は未適応菌より増大している。L-leucine に対する酸化能は未適応菌と変らない。L-arginine に対しては微弱ながら lag phase なしに酸素の消費が見られる。

4) L-proline 適応菌の場合

L-proline に対する酸化酵素量は未適応菌よりやゝ増大しているに過ぎない。これは L-proline との接触時間が短かく十分に適応し得なかつた為であろう。然し DL-alanine, L-glutamic acid, L-aspartic acid 及び L-leucine に対する酵素量は著しく抑制され、L-leucine に対しては約 40 分の lag phase を要する。L-arginine に対する酸化は未適応菌と変らない。

要 約

1. 基質が二種のアミノ酸の混合液である場合、単一のアミノ酸が酸化される場合と差がなく、アミノ酸相互間の拮抗作用は現われない。
2. 一つのアミノ酸と接触させ、そのアミノ酸に適応した菌に依る他のアミノ酸の酸化能は未適応菌と差がない。