

刀豆の種類と含有ウレアーゼの性質(第一報) : 主として稀アセトンに対するウレアーゼの溶解性に就て

北川, 松之助
九州帝國大學農學部

船津, 勝
九州帝國大學農學部

<https://doi.org/10.15017/20924>

出版情報 : 九州帝國大學農學部學藝雜誌. 8 (3), pp.192-203, 1939-06. 九州帝國大學農學部
バージョン :
権利関係 :



刀豆の種類と含有ウレアーゼの性質(第一報)¹⁾

主として稀アセトンに對するウレアーゼの溶解性に就て

北 川 松 之 助

船 津 勝

(昭和十三年二月六日受理)

結晶性ウレアーゼ研究第一報(1)に記載せる如く、日本産刀豆より SUMNER 氏法に依りて結晶性ウレアーゼの得られざりしは主として試料として用ゐし刀豆市販品が蔓性刀豆なりしたためにして、日本には未だ廣く栽培されざる倭性刀豆を用ふれば結晶性ウレアーゼの得らるゝ事明かとなれり。因に SUMNER の酵素材料として用ゐし刀豆は其文献に依れば *Canavalia ensiformis* (Jack bean) なり。

上記の我々の研究發表と殆ど時を同じうして久内氏(2)は植物分類學の見地より日本に於ける刀豆屬(*Canavalia*)分類命名の混亂を指摘せる論文を發表せるが、其結論は著者等の酵素學的研究より爲せる考察とよく一致するものあるを認むるなり。

即ち日本産刀豆に最初學名を附せる牧野富太郎氏は蔓性白刀豆を *Canavalia ensiformis* DC var. *alba* MAKINO と記載せり。我々も從來蔓性刀豆をウレアーゼ分離の材料としての刀豆(Jack bean, 學名 *Canavalia ensiformis*)と解釋して之を用ゐて實驗を試みしも SUMNER 法に依るウレアーゼの結晶分離には成功するを得ざりき。然るに漸次研究を進めるに連れて蔓性刀豆は *Canavalia ensiformis* と種を異にする *Canavalia gladiata* (sword bean) なる事明かとなり、従て *Canavalia ensiformis* に相當するものは未だ我國に分布少なき倭性(無蔓性)白刀豆なる事明かとなれり。

抑も刀豆屬は一般荳類其他の植物に比して特異的に多量の酵素ウレアーゼを含有するものにして其意味に於てウレアーゼは刀豆の成分として特異的位置を占むるものと謂ふ可きなり。然して既に報告せる如く同一刀豆屬に於ても種の異なるに従ひて其ウレアーゼ含有量は相當異り野生種に比して栽培種の方含有量多く改良の進めるもの程愈多きを認め、結晶性ウレアーゼを分離し得る *Canavalia ensiformis* (久内氏に従ひてタチナタマメ)に於て最も多く、*Canavalia*

1) 九州帝國大學農學部生物化學教室 邦文報告 127 號

gladiata var. *alba* (シロナタマメ), *Canavalia gladiata* (アカナタマメ) 順次之に次ぎ野生種の *Canavalia lineata* (ハマナタマメ) に至りては其含有量激減すれどもなほ古くよりウレアーゼ試料として用ゐられし大豆の夫に比しては遙に多量含有せらるゝを知る。

更に同一 *C. ensiformis* に於ては吟味せる範圍に於て産地を異にするも其全ウレアーゼ含有量は變化著しからざれども稀アセトン易溶性ウレアーゼ量は相當異なるものあるを認めたり。従て此結晶性なる稀アセトン易溶性ウレアーゼの外に刀豆には稀アセトン難溶性の非結晶性ウレアーゼの含有され居る事を推定し置けり。然して氣候土質其他の影響を受けて此兩種ウレアーゼ含有の割合は同一種刀豆に於ても種々變化し得る事を論じ置けり。

本研究は上記研究より出發して刀豆の種類及栽培の際外界より受くる影響と刀豆の特有成分とも言ふ可きウレアーゼの性質との關係を一層研究する意味に於て先づ兩種ウレアーゼの分離測定法の吟味を試みたり。

刀豆ウレアーゼを不均等なるものとなす見解は別個の立場より GRABER (3) も唱ふる所にし、同氏等は度外濾過法に依りて刀豆ウレアーゼは粒子の大きさより見て不均等なるものと結論し居れども其論文簡單にして詳細を知るを得ざるなり。

今本研究を進めるに先立ち著者等の刀豆ウレアーゼを不均等とせる主なる根據は其稀アセトンに對する溶解性の著しき差異にありしなれば此アセトンに對する溶解性の問題を先づ一層検討する必要あるを感じり。

ウレアーゼは現在認めらるゝ所に依れば一種の蛋白質なり。然るに蛋白質は有機溶媒其他熱等に對して極めて不安定にして容易に變性を受くる事は廣く知らるゝ所なり。今アセトンは有機溶媒中蛋白質を變化すること最少きものなれどなほ其溶解性等に影響無しと斷定するを得ざるなり。従て稀アセトンに對する溶解性の差異を以て二種ウレアーゼの存在を推定し居れども果して斯る差異が始めより刀豆ウレアーゼに存在せるものか、或は刀豆を種々處理する間に二次的變化に依り生ぜしものか是等の點に關して吟味を試みる事とせり。

他方純粹に分離されし酵素は多く蛋白性を示すものにして且酵素試料をアセトンにて處理する事は酵素研究上屢ば行はるゝ所なれば此意味に於てもアセトンの酵素に對する影響を吟味し置く事は必要なる事と謂ふ可きなり。

實 驗 之 部

第一節 異種刀豆に於る稀アセトン易溶性ウレアーゼ量に就て

(1) SUMNER 氏原法に依る 31.6% アセトン易溶性ウレアーゼ量の吟味

前報告 (1) に於てアセトン可溶性ウレアーゼ量の比較試験に採用せる SUMNER 氏原法 (4) は刀豆粉末に五倍量の 31.6% アセトンを加へ四分間浸出せる後濾過して目的とする稀アセトン浸出酵素液を得るものにしてウレアーゼの結晶は此液より直接析出するものなり。今ウレアーゼは蛋白の一種なるグロビユリンなり。然してアセトンに依る浸出の際刀豆より溶出さるゝ鹽類の量は刀豆の種類に依りて異なる事無しとせず。然りとすればグロビユリンの性質として其浸出量も含有鹽類の量と共に變化する事ある可ければ SUMNER 氏原法に依りアセトン浸出量を比較するに當り此點を考慮する要あり。依て其用ゆる 31.6% アセトンに 5% NaCl を含ましめて浸出せるものと反對に鹽類含有量の當然低かる可き六十五倍量の 31.6% アセトンにて浸出せるものとを原法に依る夫と各種刀豆に就て比較せり。酵素量は作用力 (0.1 n NH₃ cc にて表す) を以て表し作用力の測定法は前報告 (1) に記載せる方法を用ひたり。なほ日本産 A 及 B とは共に市販品にして産地不明なるものなり。

刀豆種名	全ウレアーゼ量 (5g 刀豆粉末)	五倍容 31.6% アセトン		五倍容 31.6% アセトン (5%NaCl 含有)		二十五倍容 31.6% アセトン	
		浸出量	浸出率(%)	浸出量	浸出率(%)	浸出量	浸出率(%)
<i>C. ensiformis</i> (米國産)	3885	2156	56	2339	60	2433	63
<i>C. ensiformis</i> (日本産 A)	3839	1047	27	1333	35	1717	45
<i>C. ensiformis</i> (日本産 B)	3465	382	11	778	23	1004	29
<i>C. gladiata</i> (白)	3014	496	16	—	—	—	—
<i>C. lineata</i>	660	112	17	—	—	—	—

SUMNER 氏原法に於ける溶媒に鹽類を加ふるか、或は溶媒の量を多量に用ひしものは浸出量増加し同時に産地を異にする刀豆の浸出率の差も或程度減少するものなれども、なほアセトン易溶性ウレアーゼ量は同一種の *C. ensiformis* に於ても産地の差に依りて相當異なるものあるを認む。なほ有機溶媒に依る浸出に當り鹽類の影響は初めに豫想せる如く簡單なるものに非ざる如し。

(2) 35~37% アセトンに依り反覆浸出せる場合の易溶性ウレアーゼ量の吟味

(1) の實驗より明かなる如く、前研究第一報 (1) に採用せる SUMNER 氏原法に依る稀アセトン浸出ウレアーゼ量は未だ浸出不完全にして易溶性ウレアーゼの全部を示すものに非ざるを知る。

依て易溶性ウレアーゼを比較的完全に浸出し以て異種刀豆間の易溶性ウレアーゼ量を比較す

る目的を以て先づウレアーゼを相當量溶解し得るアセトン濃度の最高限界を決定し、斯る高き濃度のアセトンを用いて浸出すれば難溶性即ち非結晶性ウレアーゼの浸出混入する事愈少なかる可し。次に斯る濃度のアセトンを用いて數回反覆浸出し易溶性ウレアーゼを充分溶出すれば兩種ウレアーゼを可及的に完全に分離定量するを得可きなり。

米國産及日本産 *C. ensiformis* の粉末 1g 宛を各種濃度のアセトン 10 cc にて 28° 15 分間浸出し其濾液の作用力を測定し粉末 1g に相當する酵素量を求めたり。

<i>C. ensiformis</i> (米國産)			<i>C. ensiformis</i> (日本産 B)		
アセトン(%)	浸出酵素量	浸出率(%)	アセトン(%)	浸出酵素量	浸出率(%)
30	492	63	35	28.0	4.0
33	383	49	40	1.9	0.3
36	225	29	41	1.6	0.2
40	43	6	42	1.4	0.2
45	14	2	43	1.2	0.1
50	9	1	45	0	0

全酵素量 …… 米國産 777, 日本産 693

刀豆粉末よりウレアーゼを比較的浸出し得るアセトン濃度の限界は大體 35% 前後なり。

次に斯くして決定せる限界濃度のアセトン(米國産に對しては 37%, 日本産に對しては 35% を採用)を粉末 1g に對し 10 cc 加へ 28° 15 分間浸出し然る後残渣を同一濃度のアセトン 5 cc にて洗ひ洗液は浸出液に合し残渣は再び同様に浸出を繰返す。今斯る浸出法を 5 回繰返し各浸出液及残渣の酵素量を測定せるに次の如し。

	米國産(粉末 1g)			日本産 B(粉末 1g)		
	浸出酵素量	全酵素量に對する割合(%)		浸出酵素量	全酵素量に對する割合(%)	
第一回浸出	256	33	57	52	8	28
第二回浸出	128	16		81	11	
第三回浸出	36	5		32	5	
第四回浸出	12	2		18	3	
第五回浸出	11	1		11	1	
残渣酵素量	172	22		297	43	
全酵素量	777	100		693	100	

上記實驗の示す如く、充分に易溶性ウレアーゼを浸出せる場合に於ても産地を異にする *C. ensiformis* に於ては其の含有さるゝ易溶性ウレアーゼ量は兩者に於て相當異なるものあるを認め

らる。且本實驗に明かなる如く全浸出酵素量と残渣中の難溶性酵素量の和は全酵素量に比して 21~29% 少なきを認む。之浸出操作中に於ける損失及び酵素の不活性化に歸す可きものなり。

(1) の實驗と比較するに 35~37% アセトンを十倍量用ゐて五回反覆浸出せるものと 31.6% アセトン二十五倍量にて一回浸出せるものと殆ど同一浸出量を示すを認む。之に依れば 37% アセトンを以て數回浸出するのと 31.6% アセトンの相當量にて一回浸出するのとは其浸出の效果は殆ど變らざるを知るなり。

第二節 刀豆種子より粉末調製時の諸操作のウレアーゼの稀アセトン溶解性に對する影響

以上の實驗に依り刀豆中には稀アセトンに對する溶解性を異にする少くとも二種のウレアーゼが存在し、兩者の割合は異種刀豆或は産地を異にする同一種刀豆に於て各異となす前報告(1)の結論を再び確むるを得たり。且其測定法として 31.6% アセトン二十五倍量にて浸出すれば略完全に易溶性ウレアーゼの溶出さるゝを認めたり。斯る浸出條件下に於てはウレアーゼの變化は著しく起らざるものと推定さる。

然れども本來酵素の理化學的性質例ば溶解性或は結晶性の如きは外部よりの影響に依り變化し易ければ SUMNER の如きも刀豆より結晶性ウレアーゼを分離せんためには種子より粉末調製に細心の注意を拂ふ可きを附言し居れり。依て以下項目に分ちて粉末調製に際しウレアーゼの溶解性に對し影響する恐れある諸事項に就て吟味する事とせり。

(1) 刀豆粉末加熱の影響

先づ第一に考慮す可き點は刀豆を粉に挽く際の摩擦熱の影響にして SUMNER も此點を強調し居れるなり。今米國産 *C. ensiformis* を SUMNER 教授の教室に於て粉末とせる稀アセトン易溶性ウレアーゼを多量に含むものを 50° 1 時間處理せるものと然らざるものに就て 31.6% アセトンを十倍用ゐ 28° 10 分間浸出せるものゝ浸出酵素量を比較せるに次の如し。

刀豆粉末	全酵素量(粉末 1g)	浸出酵素量	浸出率(%)
加熱處理	717	366	51
無處理	721	362	51

50° 1 時間加熱する程度にては 31.6% アセトンに對する溶解性には變化無きを知る。

(2) 石油エーテルに依る粉末脱脂處理の影響

粉末調製に於て次に問題となるは石油エーテルに依る脱脂操作なり。上記實驗に使用せる米國産刀豆粉末を室溫(28°)に 10 分間等量の石油エーテル(片山製化學用純沸點 40~60°)にて

振盪脱脂後石油エーテルを吸引濾別す。斯る脱脂操作を三回繰返せる後よく乾燥せるものに就て SUMNER 氏原法に依りて 31.6% アセトン浸出量を測定せるに何等影響を受けざる事次に示す如し。

刀 豆 粉 末	全酵素量(粉末 1g)	浸出酵素量	浸出率(%)
石油 エーテル 再処理	777	518	67
無 處 理	777	518	67

(3) 粉末粒子の大きさの影響

次に考慮す可きは短時間の浸出なれば粉末粒子の大きさが問題なり。依て普通に石臼挽きにて調製せる稀アセトン易溶ウレアーゼ量の少き日本産 *C. ensiformis* (B) の粉末を更に瑪瑙の乳鉢にて充分微粒化し極めて微粒状態なる SUMNER 教室調製のものに比して異ならざる微粒状態に到らしめ、之の SUMNER 氏原法に依る 31.6% アセトン浸出量を檢せるに微粒化の影響殆ど認め難き事次の如し。

刀 豆 粉 末	全酵素量(粉末 1g)	浸出酵素量	浸出率(%)
微 粒 化 處 理	693	91	13
無 處 理	693	84	12

(4) 米國産 *C. ensiformis* より粉末調製實驗

以上の實驗に依り粉末調製の操作が二次的にウレアーゼの稀アセトンに對する溶解性を變化する事無きを確認たり。従て同一 *C. ensiformis* に於て米國産のものと日本産のものとの間に全ウレアーゼ含有量に大差無きも、稀アセトン易溶性ウレアーゼ量に於ては相當異なるものあるは二次的原因に依りて生ぜしものに非ずして産地に依る環境の影響に依り初めより存在せるものと考ふ可きなり。

なほ以上使用せる米國産 *C. ensiformis* 粉末は結晶性ウレアーゼ分離の目的にて SUMNER 教授の研究室に於て調製せるものなるが幸同教授より同時に得たる米國産刀豆種子のあるあれば之を本教室に於て日本産 *C. ensiformis* (A) と共に粉末に調製し其浸出量を吟味せり。但同種子は收穫後少くとも數年經過せるものにして且同じく米國産なれども粉末と産地を同じうせるや否や明かならざるものなり。

先づ外皮を除き室温(25°)にて徐々に石臼にて粉末とし粗粒を篩別し微細粉末を四回片山製石油エーテルにて振盪脱脂す。斯る當教室製米國産 *C. ensiformis* 粉末と SUMNER 教室製米國産粉末を SUMNER 氏原法に依りアセトン浸出量を比較せるに次の如し。

刀豆粉末	全酵素量(粉末 1g)	浸出酵素量	浸出率(%)
<i>C.ensiformis</i> 米國產, SUMNER 教室製粉	638	327	51
" " , 當 教室製粉	616	152	25
" 日本産A, " "	583	159	27

同一米國產刀豆に於て上に示す如く全酵素量に大差無きも其浸出率の著しく異なるは如何なる原因に依るか明かならず。粉末調製操作の影響無き事は既に確めし所なれば送附されし粉末と種子が同一産地のものに非ざるか或は收穫後種子のまゝ數年經過せるため變化せるものか其原因明かならず。

第三節 稀アセトン浸出法に依る二種ウレアーゼの分離

刀豆中に存在すると考へらるゝ兩形態のウレアーゼ中稀アセトン易溶性のものは所謂 SUMNER の結晶性ウレアーゼにして其性質も種々研究されし處なれども、難溶性のものは未だ文献に記載無く従て其性質未だ知られざれば是等を研究せんため先づ兩形態のウレアーゼを可及的に完全に分離せんと試みたり。其分離法としてアセトン浸出法を用ゐしが此際最も考慮す可き問題は蛋白質としてのウレアーゼの有機溶媒に依り變性さるゝ事なり。

(1) 稀アセトン反覆浸出法に依る分離法

稀アセトンに依る五回反覆浸出の結果に就ては既に第一節に論ぜし所なり。夫に依れば其五回反覆浸出するもなほ残渣には少量の易溶性ウレアーゼを殘存し然も酵素の損失 25% に達せるなり。従て、完全に兩種ウレアーゼを分離せんため残渣に易溶性ウレアーゼを殘さざる迄反覆浸出せんとせば當然酵素の相當量の不活性化さるゝを考慮する必要あり。

日本産 *C.ensiformis* (B) 粉末 3g を第一節の實驗を參考として 37.5% アセトン 30cc にて低溫度 (5°) に 15 分間浸出し吸引濾別し残渣を更に各新なる溶媒にて同様反覆浸出する事 12 回は等浸出液は全部合して 376cc となり之を (I) とす。同様 30cc アセトンにて二回浸出し之を (II) 及 (III) とす。斯して得たる三浸出液及残渣中の酵素量を測定せるに次の如し。

	粉末 1g 相當量	全酵素量に對する割合 (%)
浸出液 酵素量 (I)	264	} 39
" " (II)	2	
" " (III)	0	
殘渣 酵素量	203	30
全 酵 素 量	682	100

實驗に示す如く完全に易溶性ウレアーゼを浸出せんためには相當浸出を反覆する必要あり、從て低溫度に之を行ふもなほ酵素の損失量 31% に達せり。

今 37.5% アセトンに依り上記と同様の條件のもとに八回迄浸出を反覆し全浸出液を合して (I) とす。次いで最後に一回同様浸出して (II) とす。斯くして得たる殘渣に就て SUMNER 氏原法による 31.6% アセトン浸出量を檢せるに次の如し。

	粉末 1g 相當量	全酵素量に對する割合 (%)
浸出液 酵素量 (I)	175	27
" " (II)	3	
殘渣 酵素量	292	44
殘渣中の 31.6% アセトン浸出酵素量	8	1
原粉末中 " "	127	19
全 酵 素 量	667	100
損 失 量	—	30

浸出殘渣中には 31.6% アセトン易溶性ウレアーゼは極めて微弱に存するのみなり。

(2) 含磷酸鹽稀アセトン反覆浸出法

SUMNER に従へばウレアーゼはグロブユリンに屬する一種の蛋白なれば溶媒に依る浸出を反覆する内に粉末より自然に溶出する鹽類の量は漸次低下して浸出の進むに従ひ酵素の浸出を困難ならしむる恐れ無しとせざれば本實驗に於ては浸出溶媒の pH を最初の浸出液の示す pH 6.1 に保ち他方一定量の鹽類を溶媒に含まして浸出を反覆せんとするものなり。先づ溶媒に含有さる可き鹽の最適濃度を決定せんため日本産 *C. ensiformis* (B) 3g を種々なる濃度の磷酸加里 (pH 6.1) を含む 37.5% アセトン 30cc 宛にて 5° に 10 回反覆浸出し其全浸出量を檢せるに次の如し。

磷酸加里濃度		浸出酵素量 (粉末 1g)	浸出率 (%)
モル	%		
0.077	1.00	121	18
0.038	0.50	174	26
0.019	0.25	237	35
0.008	0.13	282	41
0.000	0.00	178	27
全 酵 素 量 …… 667			

今最高浸出量を示せる 0.008 モル磷酸鹽含有アセトン浸出殘渣を無水アセトンにて乾燥し其の

1 g の全酵素量を測定せるに 226 にして結局操作中の損失 24% なり。今此残渣を 10 倍量の水に依り浸出せるに溶出する酵素量は 101 にて其浸出率 45% なり。

因に刀豆粉末をそのまま水にて処理すれば殆ど全部の酵素を溶出するものなり。従て上記の如きアセトン処理に依りて残渣に残りし稀アセトン難溶性酵素の約半分は水にも不溶解性に變化せるを認め得。今水の代りに 0.1~0.7% 磷酸鹽 (pH 7.0) にて浸出するも其浸出率 35~44% にて極めて低きを知る。

以上の實驗に依り適當濃度の鹽を含有する稀アセトンにて浸出すれば浸出量の増加し其割合に酵素の不活性化大ならず。然れども酵素の變性を受けて一部不溶解性に變化するは之を避ける能はざるなり。

(3) アセトン處理に依るウレアーゼの溶解性の變化

以上の諸實驗を通覽するに稀アセトン殊に含鹽稀アセトンに依り反覆浸出すれば易溶性ウレアーゼは充分浸出さるゝものなれども同時に酵素の相當量は不活性化され他方残渣中の酵素の一部は作用力は保持するも水に對する溶解性を變化するものあるを認むるなり。

茲に於てアセトン處理に依り刀豆粉末中のウレアーゼは其溶解性を如何に變化さるゝや吟味するの必要を生じ日本産 *C. ensiformis* (B) 粉末を 5° の無水アセトン中に任意時間放置し然る後水溶性酵素量を吟味せるに此場合に於てはアセトン處理の影響は全く認めざりき。

5° アセトン處理時間	全酵素量 (粉末 1g)	浸出酵素量	浸出率 (%)
無 處 理	809	761	94
一 時 間 處 理	726	733	100
五 時 間 處 理	702	712	100

結局先きの實驗に於て水に對する溶解性の著しく變化せるはアセトンに依りて十回も反覆浸出せるためならんか。

(4) 含磷酸鹽稀アセトン低温浸出法

以上諸實驗を總括して不活性化に依る損失及變性に依る溶解性の變化を可及的に避けんため反覆浸出する代りに從來粉末の 10 倍量用ゐしに對し 75 倍量の 37.5% アセトン (0.1% 磷酸鹽含有 pH 7.0) を用ゐ零下 13° に 25 分間二回反覆浸出せり。斯る場合殆ど完全に易溶性ウレアーゼは浸出され残渣をアセトンにて乾燥し其酵素量を計りしに損失量は著しく減退し、残渣中のウレアーゼ即稀アセトン難溶性ウレアーゼの溶解性の變化することも幾分防ぐを得たり。然れども斯る低温度に處理するもなほ有機溶媒に依り蛋白質としてのウレアーゼは變性を受け

相當溶解性の變化を受くるものなり。

	日本産 <i>C. ensiformis</i> (B) (粉末 1g 相當量)	全酵素量に對 する割合(%)
稀アセトン易溶性酵素量 (37.5% アセトン浸出液)	456	56
稀アセトン難溶性酵素量(殘渣)	267	33
全 酵 素 量	809	100
損 失 量	—	11

稀アセトン難溶性酵素量 267 中水溶性酵素量は 141 にして全難溶性酵素量の 53% なり。結局稀アセトン易溶性酵素を完全に浸出せんとすれば難溶性酵素の變性は避け難きものなり。

第四節 稀アセトン難溶性ウレアーゼの性質

(1) 稀アセトン難溶性ウレアーゼの非結晶性に就て

稀アセトン難溶性ウレアーゼの濃厚水溶液を得んため上記改良法にて日本産 *C. ensiformis* (B) 粉末 5g より調製せる難溶性ウレアーゼ含有殘渣を五分分して其第一分を 10 cc の水にて浸出濾別し同一浸出液にて更に第二分を浸出し斯くして同一溶液にて重ねて殘渣の各分を全部連続浸出せるに第一回浸出液 1 cc の酵素量 7.8 第五回目の浸出液の酵素量 38.0 にして其浸出されし酵素量は殆ど浸出回数に比例して増加せるを認めたり。

今前報告 (1) に示せる如く結晶性ウレアーゼならば 31.6% アセトン浸出液 1 cc の酵素量 40 に達せるものは正八面體のウレアーゼ結晶析出するを常とせり。依て今 14g の刀豆粉末より易溶性ウレアーゼを除去せる稀アセトン難溶性ウレアーゼ含有殘渣を 11 等分し 11 回同一浸出液にて順次浸出せる難溶性ウレアーゼ濃厚水溶液を作り之を SUMNER 氏ウレアーゼ再結法に準じてアセトン及磷酸鹽を加へて pH 6.1 アセトン 31.6% ならしめ、所謂ウレアーゼの結晶條件を與へて冷所に放置せるに析出せる沈澱を吟味せるに全く結晶を認むる能はざりき。

是に依れば稀アセトン難溶性ウレアーゼは SUMNER 氏に依る結晶條件を與ふるも全く結晶せざるものなるを知る。

(2) 兩形態ウレアーゼの粒子の大きさに就て

稀アセトンに對する溶解性に依りて區別さるゝ二種ウレアーゼの示す性質の内前述の結晶性の有無の問題について、前報告 (1) に於て述べ置きしものは其粒子の大小なり。即易溶性のものに比して難溶性のものは其粒子の大なるを豫想せり。

今エルフオード氏度外濾過法 (5) に依り 0.2~0.3 μ の孔徑を有するコロヂオン膜を透過するウレアーゼ量を米國産 *C. ensiformis* と日本産 (B) の夫に就て比較せるに透過量の全酵素量に對する割合は前者の 74% に對し後者は 52% なりき。是等の結果は大體に於て稀アセトン易

溶性酵素量の全酵素量に對する割合とよく平行するものなり。度外濾過法に依る粒子の大きに關する吟味は第二報に於て述ぶる事とす。

總 括

他の植物に比して刀豆種子に特有的に多量含まるゝ酵素ウレアーゼは其刀豆の種の異なるに従ひて含有量を變化するものなり。然して同一條件下に於て各種刀豆の稀アセトン浸出ウレアーゼ量を比較するに著しき差異あるを認め從て刀豆に含有さるゝウレアーゼは其性質上同一なるものゝみに非ざるを確めたり。即ちウレアーゼは刀豆中に少くとも二形態に於て存在するものにして SUMNER に依りて發見されし結晶性ウレアーゼは其一にして他は非結晶性乃至難結晶性なるものにして之に關しては未だ文獻に記載無きものなり。然して此の兩種ウレアーゼの刀豆に於て含有さるゝ割合は同一種の刀豆に就ても栽培環境に依りて著しく變化するものなる事を知れり。

本報告に於ては各種刀豆或は栽培環境を異にする同一種刀豆に就て兩種ウレアーゼの割合を檢定すべき方法として提案せる稀アセトン浸出法の意義を種々論究せり。本定量法は稀アセトンに對する兩ウレアーゼの溶解の難易を利用せるものなるが、蛋白質としてのウレアーゼは有機溶媒に對し不活性化並に變性を受け易ければ先づ製粉並に浸出に於る各種條件のウレアーゼに對する影響を種々吟味して最後に二種ウレアーゼの完全分離法を提案せり。即刀豆粉末に對し 37.5% アセトン (0.1% 磷酸鹽含有) の 75 倍量を用ゐる零下 13° にて二回反覆浸出する法にして結晶性ウレアーゼは全部アセトンに溶解し來り、非結晶性ウレアーゼは殘渣に残るものなり。然れども斯る條件下に於てもなほウレアーゼの相當量は變性さるゝを認めたり。

前報告に推定せる稀アセトン難溶性ウレアーゼは非結晶性にして粒子も結晶性のに比して大なる事を確めたり。

終りに臨み奥田教授の御助言を深謝す。且本研究の一部は日本學術振興會よりの補助に依りて行ひしものなる事を附記するものなり。

引 用 文 献

- (1) 北川松之助・藤井實：日本農藝化學會誌, 13, 621 (1937).
- (2) 久内清孝：植物研究雜誌, 13, 390 (1937).
- (3) P. GRABAR, A. Riegert: *compt., rend.* 200, 1795 (1935).
- (4) J. B. SUMNER: *Jour. biol. chem.*, 69, 435 (1926).
- (5) W. J. ELFORD: *Jour. Path. Bact.*, 34, 505 (1931).

ON THE NATURE OF THE DIFFERENT FORMS OF UREASE
FOUND IN THE SEEDS OF VARIOUS *CANAVALIA*

(Résumé)

Matsunosuke KITAGAWA

Masaru HUNATZU

Urease is found in at least two forms in the seeds of *Canavalia*; one can easily be extracted by a dilute solution of acetone, and the other is scarcely extractable by the same solvent.

The former corresponds to Summer's crystalline urease, and the latter was assumed to be non-crystallizable in our previous paper.

The ratio of the quantity of these two ureases in *Canavalia* varies with the species of *Canavalia*, and also, in the case of the same species, with the growing-environment.

The soluble urease is contained in the largest amount in *Canavalia ensiformis*, which is suitable as material for the isolation of crystalline urease.

Owing to isolating two kinds of urease, the meal of *Canavalia* is extracted at -13° twice by seventy-five times its quantity of 37.5% acetone which contains 0.1% phosphate. The non-extractable urease remaining in the residue was ascertained to be non-crystallizable.
