Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2026-11-30

納豆菌蛋白質分解酵素に関する研究（第二報）：蛋白質分解酵素の結晶型の変化に就いて

三宅，捷
野々口，善隆

(Citation)
兵庫農科大學研究報告．農芸化学編,1(2):45-46

(Issue Date)
1954-12

(Resource Type)
departmental bulletin paper

(Version)
Version of Record

(JaLCDOI)
https://doi.org/10.24546/81008127

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/81008127

KOBE UNIVERSITY

納豆菌蛋白質分解酵素に関する研究（第二報）

蛋白質分解酵素の結晶型の変化に就いて

三宅　捷，野々口善隆　（生物化学講座）

The Studies on *Bacillus natto* Protease. (II)

On the Change of Crystal form of *Bacillus natto* Protease.

Suguru Miyake and Yoshitaka Nonoguchi

緒　　言

最近数種の微生物から蛋白質分解酵素の結晶を分離しているが，結晶型は種々ある．其等の結晶型に関する生成の原因及び結晶型自体の性質並に外的精細なる観察の研究が未だなされていない．先に三宅及び清水等* は，脱脂大豆抽出液を培養基として，之に *Bacillus natto* Sawamura を繁殖せしめ，*Bacillus natto* Protease を結晶型として分離し報告した．この結晶を更に再結晶させる際，其の水溶液中で結晶型の変化する事を認め，其等の結晶型には一連の関係のある事が判明し，これにより，他の微生物の蛋白質分解酵素の結晶型との区別の一因となるので，その結晶型の変化現象を次に報告する．

実　験　の　部

1)　結晶型に及ぼす温度の影響

Bacillus natto Protease の粗針状結晶を真空乾燥し該乾物を少量の蒸溜水に溶解して不純物を除去し，放置すれば結晶する．而して再結晶操作する場合次表の如き結果を得た．

温度 / 水溶液中の結晶型	5℃	14℃	22℃
正四角型結晶	約24時間	約5～6時間	約30　～1時間
正六角型結晶	約5～6日	約10～12時間	約　4～5　時間

即ち粗針状結晶を真空乾燥し，此の乾物を蒸溜水に溶解し，直ちに軽く遠心分離して不純物を除き，常温で約1～2時間位放置すると，四角型結晶を形成し，そのまま放置すると該結晶型の一対応の角が漸次欠け，約5時間後には全部正六角型結晶に変化するのを認む．（此処に用いた乾物は，真空乾燥後4日目のものである．）常温にて，正四角型結晶の一対応の角が，欠け始めより完全に欠け終り，正六角型結晶になるまでに要する時間は大体2～3時間である．即ち次の図の様に進行する．

2)　酵素活性度と各結晶型との關係

粗針状結晶乾物量（10mg）を蒸溜水（5cc）に溶解し不純物を速かに除去し，上澄液（室温14℃）に依つて大島変法で酵素力を測定した．（下記各酵素液5cc中より0.5ccをとり蒸溜水で稀釈して5ccとし，この中の酵素液0.1ccで0.5% Casein 5ccを40℃，1時間で完全に消化せしめた．）

結　晶　型	酵素液全容積	単位活性度	全活性度
正四角結晶状態の場合	5cc	100	500
正六角結晶状態の場合	5cc	100	500

正四角型結晶を含有する水溶液と正六角型結晶を含有する水溶液との単位活性度は，結晶型が変化しても何ら変化なく両者全く同じであつた．

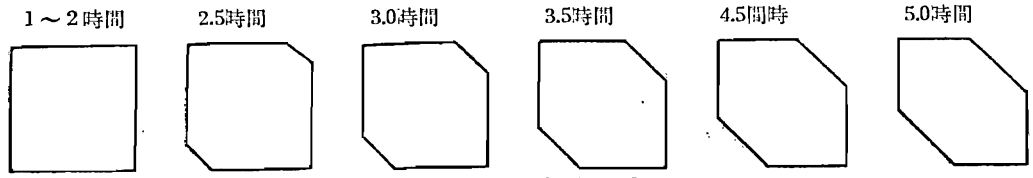
3)　溶媒と結晶型の変化

粗針状結晶乾物を蒸溜水に溶かし，速かに不純物を除去した上澄液では，正四角型結晶を経て正六角型結晶になるが，微アンモニヤ水(pH7.2～7.4)から結晶させる場合は，正四角型結晶を経て長方六角型結晶を形成する．こゝに生ずる正四角型結晶並に六角型結晶は偏光顕微鏡に依つて調べた結果，等軸晶系**に属する結晶であつた．

総　　括

1)　Protease の粗針状結晶乾物を蒸溜水に溶かして不純物を除去した上澄液から再結晶する場合，正四角型結晶より正六角型結晶に変化するのを認めた．

2)　結晶型の移行の速度は温度により異る．



酵素結晶型変化の図

3) 正四角型結晶の形成期間から正六角型結晶形成への変化は，低温（5℃）より高温（22℃）が大であり，高温程四角型結晶の期間は短かく，低温程長い．

4) 正四角型結晶は不安定で，正六角型結晶は常に安定である．

5) 蒸溜水と微アンモニヤ水(pH7.2～7.4)とに乾物を溶かす場合，四角型結晶形成は同じであるが，六角型結晶は微アンモニヤ水の場合は長方六角型結晶を形成する．

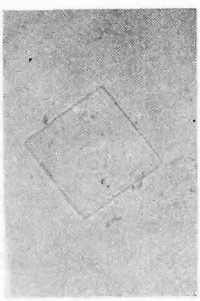
6) 結晶型の変化の原因は未だ確定的でないが結晶水の変化に密接な関係があるのではないかと思われる．これについては目下検討している．

本研究を行うに当り，吉村貞彦教授並に渡辺憲助教授より多大の援助を得た．同教授に対して心から感謝の意を表する．本研究の所要経費の一部は文部省の科学研究費に依る．

(結晶型変化の写真)



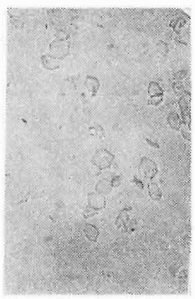
(1)



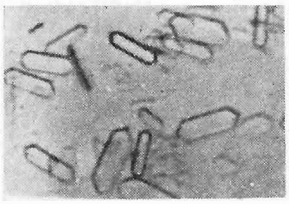
(2)



(3)



(4)



(4)'

Summary

Dried substance (the needle shaped crystal) of the *Bacillus natto* protease was dissolved with distilled water and centrifuged. From the supernatant liquid the recrystallization was carried on. The square form of the protease thus obtained gradually changes its form to hexagonal. The velocity of changing its form is dependent upon the temperature. Higher the temperature, the period of remaining the square form is shorter and the time required to become the hexagonal form is sooner. It seems that the square forms of the protease crystal is unstable and likely to become the stable hexagonal.

When the recrystallization is carried on from the water solution feebly alkaline with ammonia (pH7.2～7.4), the same square form is first obtained, but the hexagonal one is somewhat different and in this case the elongated hexagonal form is obtained.

文　　献

* 三宅捷，清水淳一；兵庫農科大学研究報(農化篇) 第1巻第1号 11頁 (1953)

** 佐伯秀章　　；農業地質学　280頁 (1947)

(Laboratory of Biological Chemistry, Hyogo Univ. of Agr.)