

개조개(*Veneridæ Soxidmus Purpuratus Sowerby*)의 消化酵素에 對하여 (第1報)

Amylase 의 酵素의 性質

徐 錫 洙 洪 承 喆 梁 漢 錫

Suk Soo Suh, Sung Chel Hong and Han Suk Yang : Studies on the Digestive Enzymes of *Veneridæ Soxidmus purpuratus Sowerby* I
Some Enzymatic properties of Amylase

(College of Pharmacy, Pusan National University)

The enzymatic activity of amylase which was isolated from a shell fish *Veneridæ Soxidmus purpuratus Sowerby* (Korean name "Gai-jo-gai") was studied and the obtained results were as follows: (1) The optimum pH of the enzyme was Ca. 6.2~6.4. (2) Prohibiting activity of metallic ions for the enzymatic activity was the order of $1/1000M-Mg^{++} > 1/1000M-Sr^{++} > 1/000M-Na^+$, and Ca^{++} ion's prohibiting action was hardly showed. (3) Of 3 specimens of amylase from Heptapancreas, Gastro-intestine and crystalline style, the highest activity was shown by amylase from crystalline style, and the other two showed almost same degree of activity. (4) Heptapancreas Amylase from the shell fish showed remarkably higher enzymatic activity than the pancreas amylase from a pig.

(Received December 1, 1958)

I. 緒 言

高等動物의 消化酵素는 많은 研究者들에 依해서 調査研究되었으나 貝類의 消化酵素에 對하여서는 筆者들이 아는範圍內에서는 거의 研究되지 않았다. 터우기 貝類는 주로 海底에 살고 있음으로 40°C 前後의 高等動物의 體內에서 作用하는 酵素에 比해서 높은 酵素能力이 期待된다. 貝類酵素의 性質을 調査하기 爲하여 爲先 amylase 의 酵素能力和 金屬 ion에 對한 影響을 調査하여서 이 酵素의 一部性質을 얻었음으로 報告한다.

II. 實 驗

1. 酵素液 : 新鮮한 개조개 의 內臟을 아세톤으로 固定한後 heptapancreas, gastrointestine 과 crystalline style 로 各各 分離했다. 分離한 各部位은 乾燥하기 爲하여 約 2倍 容量의 아세톤을 加해서 Homogenizer 로 20分間 處理해서 吸引濾過한다. 이와 같은 操作은 acetone, acetone-ether, ether 의 順位로 各各 2個씩 되풀이해서 乾燥하고 脫脂한 白色粉末의 粗酵素製品을 얻는다. 黃酸데시케이타에 貯藏해 놓았던 粗酵素粉末은 實驗할때마다 20倍容量의 50% 글리세린으로서 30°C에서 2時間동안 酵素를 抽出한것을 吸引濾過해서 얻은 酵素液을 다음의 여러 實驗에 使用하였다. heptapancreas, custrointestine, crystalline style 中에서 heptapancreas 가 比較的 純粹하게 分離할수있고 또 많은量 얻을수있음으로 特別한 境遇를 除外하고는 大部分의 實驗은 heptapancreas 에서 얻은 酵素液을 使用했다.

2. 酵素活性의 測定 : 大體로 Willstätter and Schudel method 에 準해서 測定했다. 7個의 100cc Erlenmyer flask 에 各各 새로히 만든 1% 넥스트린溶液(Merck & Co. reagent) 3cc 와 M/5 磷酸緩衝液(M/5 $KH_2P O_4$ 5.1 : M/5 Na_2HPO_4 4.9) 2cc 을 加해서 incubator 에서 40°C 로 維持시키면서 酵素液 2cc 을 各各 加한다. 10分後에 한 flask 에 N-HCl 2cc 을 加해서 酵素作用을 中止시키고 N/10 요오드 溶液 5cc 을 加해서 잘 混合되도록 數回 혼든다. 即時 N/10 NaOH 10cc 을 加해서 15分後에 10% H_2SO_4 2cc 을 加하여 이때 遊離되어서 나오는 過剩의 요오드를 N/10 $Na_2S_2O_3$ 로서 滴定해서 總還元糖量을 求한다. 30分後, 40分後, 60分後, 120 分後에 남은 Erlenmyer 에 各各 同一한 操作으로 生成된 還元糖을 求한다. 基質과 粗酵素液中에 還元性物質

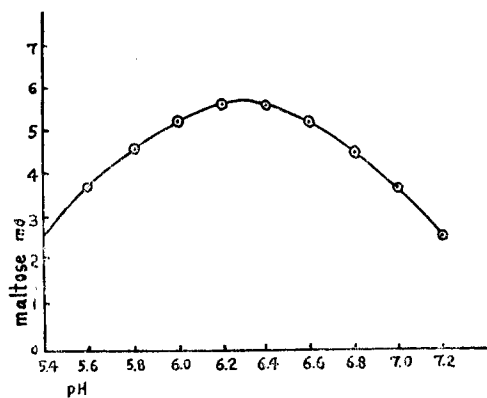


Fig 1. pH Optimum on the amylase extracted from the heptapancreas of the shell fish (*Venerida Saxidomus purpuretus Sowarby*) with glycerol. (第1圖)

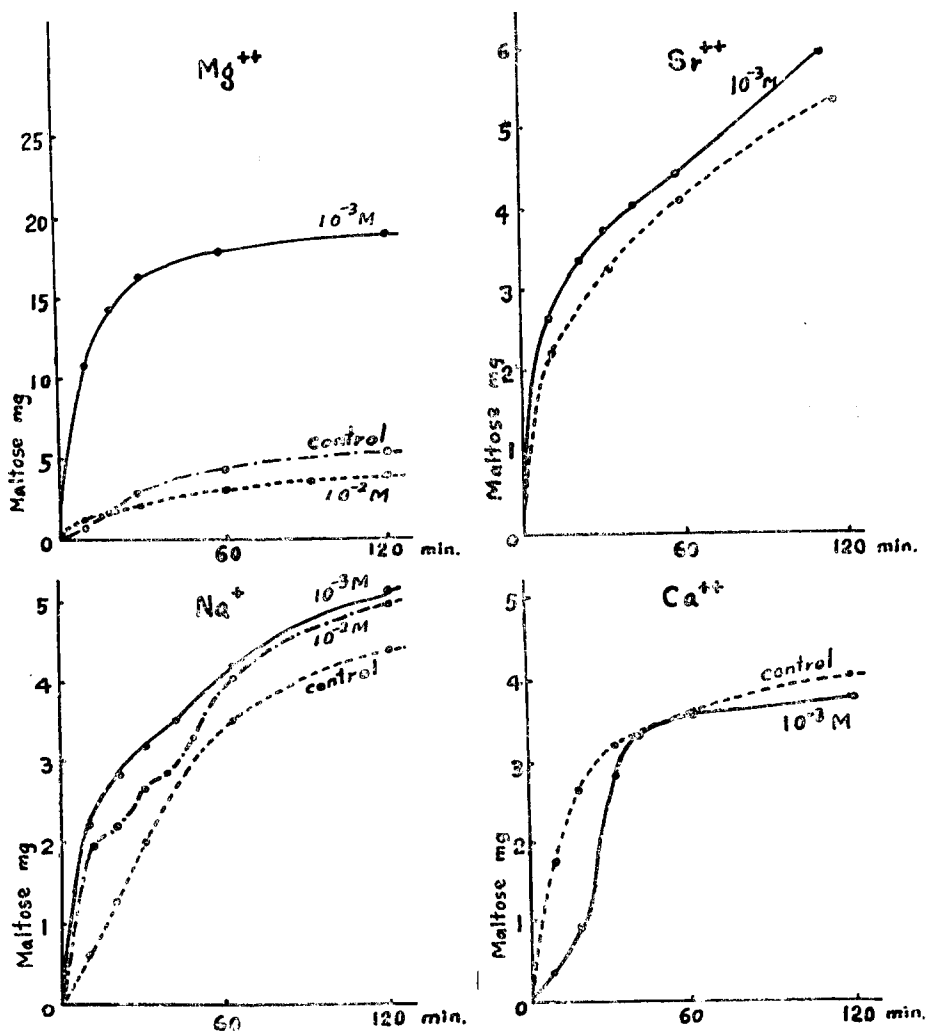


Fig 2: Effects of metal ions on the amylase, extracted from the heptapancreas of the shell fish (*Venerida Saxidomus purpuretus Sowarby*) with glycerol. (第2圖)

이 含有하고 있음으로 同一한 方法으로 測定해서 總還元糖量에서 이량을 빼면 텍스트린에서 아밀라제의 作用으로 生成한 還元糖량을 알수있다. 圖表에는 모나 말토오제로서 表示하였다. (N/10 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 1cc=maltose 17, 15mg).

3. 最適 pH : 위에서 말한바와 같은 操作으로 緩衝液을 使用해서 얻은 여러 pH에서 60分間 酵素를 作用해서 生成하는 말토오제량을 測定해서 第1圖과 같은 結果를 얻었다

4. 金屬 ion의 影響 : 앞에서 말한 測定方法에 依해서 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, SrCl_2 , NaCl , CaCl_2 의 金屬鹽類를 使用하여서 最終濃度가 各各 1/100 M. 1/1000M 이 되게해서 時間經過에 따라서 生成하는 말토오제량을 測定하여서 第2圖과 같은 結果를 얻었다. SrCl_2 의 1/100M 溶液과 CaCl_2 의 1/100M 溶液은 白濁하여서 實驗이 困難했으므로 여기서 除外하였다.

5. Heptapancreas, Gastrointestine, Crystalline Style의 酵素活性의 比較 : heptapancreas, gastrointestine, crystalline style에서 얻은 酵素液을앞에서이든 測定方法으로 얻은 maltose의 生成량은 第3圖과 같다.

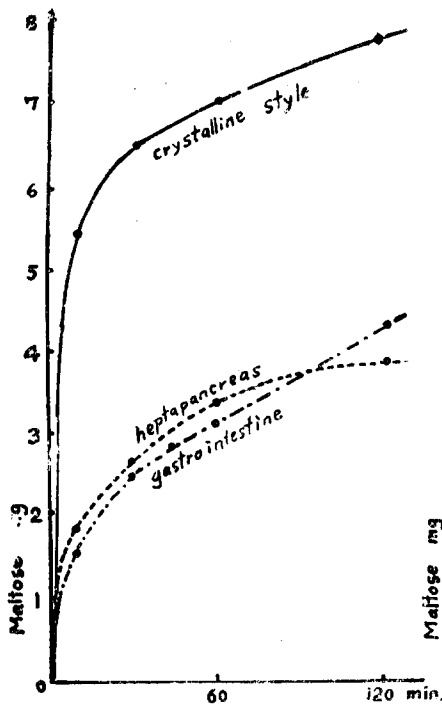


Fig 3: Comparison with the enzymatic activity of heptapancreas, gastrointestine and crystalline style.(第3圖)

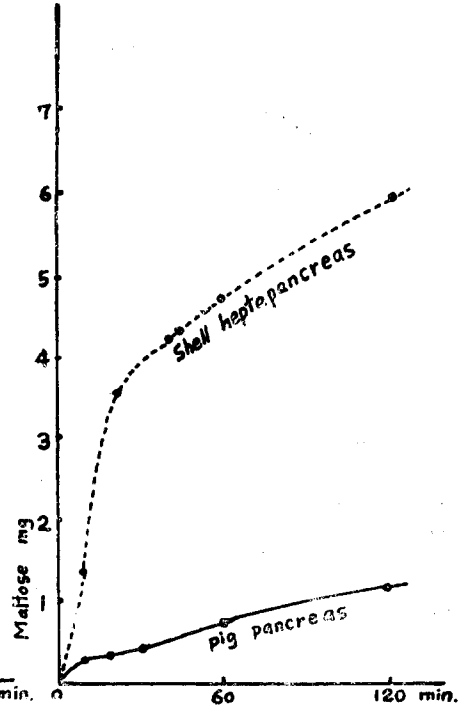


Fig 4: Comparison with the enzymatic activity of shell heptapancreas and pigpancreas. (第4圖)

6. 도야지 腺臟과 개조개 Heptapancreas Amylase의 活性의 比較:新鮮한 도야지 腺臟을 개조개의 粗酵素液의 活性을 測定하여 第4圖과 같은 結果를 얻었다.

III. 考 察

개조개 아밀라제의 性質을 調査하여서 다음과 같은 몇 結果를 얻었다.

1. 이 아밀라제의 最適 pH은 約 6.2~6.4 다.
2. 實驗한 金屬 ion中에서 1/1000 M. Mg^{++} , 1/1000 M. Sr^{++} , 1/1000M Na^+ 의 順序로 아밀라제의 活性作用이 주러지는 것을 볼수 있다. Mg^{++} 가 가장 큰 活性作用이 있고 Ca^{++} 은 거의 影響이 없다. Mg^{++} , Sr^{++} 은 1/100M 보다 1/1000M 이 活性作用이 크고 Na^+ 은 1/1000M 보다 1/100M 濃度가 活性이 더 큰것을 볼수있

다. Na^+ 은 아밀라제 活性에 높은濃度 必要할것 같다.

3. heptapancreas, gastrointestinal, crystalline style 의 酵素活性은 crystalline style 가 가장 크고 gastrointestinal heptapancreas 은 거의 같다. crystalline style 의 酵素活性이 다른 두 部位의 것 보다 約倍 程度活性이 큰것을 볼수있다. 따라서 아밀라제의 主分泌器官이 crystalline style 이고 heptapancreas 가 비록 酵素을 分泌한다해도 그量이 적다는 것을 알수있다. crystalline style 이 gastrointestinal 內에 存在함으로 gastrointestinal 의 消化酵素는 주로 crystalline style 에 起因할것 같이 推測된다.

4. 개조개 Hertapancreas Amylase 의 酵素活性에 도야지 腺臟아밀라제의 것 보다 顯著하게 크며 무려 6배 가차운 活性을 가진것을 볼수있다. 따라서 海底와 같은 低溫에서 充分한 消化가 進行될것이라는 것이 期待된다.

IV. 結 論

개조개 (*Veneridol Soxidmus Purpuratus Sowerby*)의 아밀라제의 性質을 調査하여서 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 이 Amylase 의 最適 pH는 約 6.2~6.4다.
2. 實驗金屬 ion 中 1/1000M- Mg^{++} , 1/1000M- Sr^{++} , 1/100M- Na^+ 의 順序로 Amylase 의 活性作用이 주려 지는것을 볼수있다. Mg^{++} 가 가장 크고 Ca^{++} 은 거의 影響이 었다.
3. heptapancreas, gastrointestinal crystalline style 의 酵素活性中 crystalline style 가 가장 크고 Gastro intestine 과 heptapancreas 는 거의 같다.
4. 개조개 heptapancreas amylase 의 酵素活性이 도야지 腺臟아밀라제의 것 보다 顯著하게 크다는 것을 알수 있다.

(釜山大學校藥學大學)

文 獻

1. Bunji Hagihara: Annual report of Scientific Works(Osaka University vol. 2. (1954)
2. J.B. Sumner and G.F. Somers: Chemistry and Method of enzymes(1953)
3. Biochemical preparation vol.(1955)
4. David Glick: Methods of Biochemical Analysis vol. 2. (1955)
5. 赤堀四郎編 蛋白質化學. vol. I. II. III.(1955)
6. 赤堀四郎編: 酵素研究法. vol. II.(1956)
7. 江上不二夫編: 標準生化學實驗法 (1954) Togasawa
8. 斗ヶ澤宜久, 膝又梯三: 日本水産學會誌 vol. 21~vol. 23(1956~1958)