

개조개(*Veneridae Saxidomus purpuratus* Sowerby)의  
消化酵素에 對하여 (第 2 報)

Proteinase 의 酵素的性質

徐 錫 洙 梁 漢 錫 洪 承 喆

Suk Soo Suh, Hang Suk Yang and Sung Chel Hong : Studies on the Digestive  
Enzymes of *Veneridae Saxidomus purpuratus* Sowerby II

(College of Pharmacy, Pusan National University)

The enzymatic activity of proteinase which was isolated from a shell fish, *Veneridae Saxidomus purpuratus* Sowerby (Korean name "Gai-jo-gai") was studied, and the obtained results were as follows; (1) The optimum pH of the enzyme was around 7.5 (2) The prohibiting activity of metallic ions for the enzymatic activity was the order of  $1/1000\text{ M}-\text{Ag}^+ > 1/1000\text{ M}-\text{Zn}^{++} > 1/1000\text{ M}-\text{Cd}^{++} > 1/1000\text{ M}-\text{Pb}^{++}$ . (3) Of 3 specimens of the enzyme from heptapancreas, gastro-intestine and crystalline style the highest activity was shown by one from crystalline style.

(Received December 1, 1958)

第1報의 趣旨에서 개조개의 Proteinase-을 調査하여서 몇結果를 얻었음으로 報告한다. 酵素製品과 酵素液은 第1報에 準해서 實驗했다.

I 實 驗 之 部

1. Proteinase 의 活性測定 : 大型試驗管에 6% 中性 casein 溶液 10 cc와 2M ammonia-ammonium buffer (2M ammonia 1 cc. : 2M ammonium chloride 32 cc)을 加해서 37°C로 保存한다. 3分 後에 이 混液에 酵素液 9 cc.와 toluene 1~2滴을 加하고 攪混合後 37°C로 保存하면서 一定時間마다(1.5時間後, 3時間後, 5時間後) 그 5 cc.을 Erlenmyer flask 에 取하여 蒸溜水 2 cc.와 abs. alcohol 7 cc. 및 0.5% thymolphthalein 1 cc.을 加해서 0.5 N alcohol 性 KOH(alcohol 90%)로서 滴定하여 微青色을 나타내면 沸騰 abs. alcohol. 60 cc.을 加하고 0.1 N alcohol 性 KOH 로서 微靑綠色을 나타낼 때까지 滴定한다. 空試驗은 같은 方法으로 하나 滴定前에 酵素液을 加한다. 위의 實驗値에서 空試驗値을 減한 0.1 N alcohol 性 KOH 의 cc. 數로서 表示하였다.

2. Casein 의 製法 : 4 l의 round bottomed flask 에 5% 脫脂乳 3 l을 取하고 잘 攪拌하면서 pH 4.8이 될 때까지 0.5 N-HCl을 徐徐히 滴下한다(約 30分間). 이 混液을 10分間 攪拌後 1時間 靜置하여 上澄液을 Siphon 으로 除去한다. 남은 殘液에 蒸溜水 3 l을 加하고 5分間 攪拌後 靜置하여 上澄液을 Siphon 으로 除去한다. 上記操作을 3回 反復後 Buchner Funnel 로 吸引濾過後 殘液에 1 l의 蒸溜水를 加하여 5分間 攪拌後吸引濾

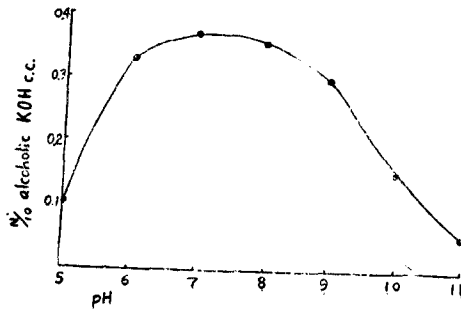


Fig. 1. pH.Optimum on the proteinase, extracted from the heptapancreas of the shell(*Veneridae Saxidomus Purpuratus* Sowerby)with glycerol. (第 1 圖)

過한다. 이 操作을 濾液에서 鹽素 ion 이 나오지 않을 때까지 反復洗滌後 殘渣에 95% alcohol 을 加하여 5分間 攪拌後 吸引濾過한다. 이 操作을 2回 反復後 ether 를 加하여 吸引濾過한다. 殘渣를 蒸發집시에 取하여 ether 를 揮散시키기 爲하여 24時間 放置하면 微細粉末을 얻는다.

6% 中性 casein 溶液은 60 g 의 casein 의 0.45 N NaOH 溶液 70 c.c. 와 適量의 蒸溜水를 加하여 溶解後 蒸溜水를 加하여 1 l 로 한다.

3. Proteinase 의 最適 pH : 위와 같은 測定法에 依하여 第1圖과 같은 結果를 얻었다.

4. 金屬 ion 의 影響 :  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CdCl}_2 \cdot 5/2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{AgNO}_3$  等의 鹽類를 使用하여 最終濃度가 1/100M, 1/1,000M, 或은 1/1,000M 가 되게 하여서 酵素活性을 위의 方法으로 測定하여 第21圖과 第31圖과 같은 結果를 얻었다.

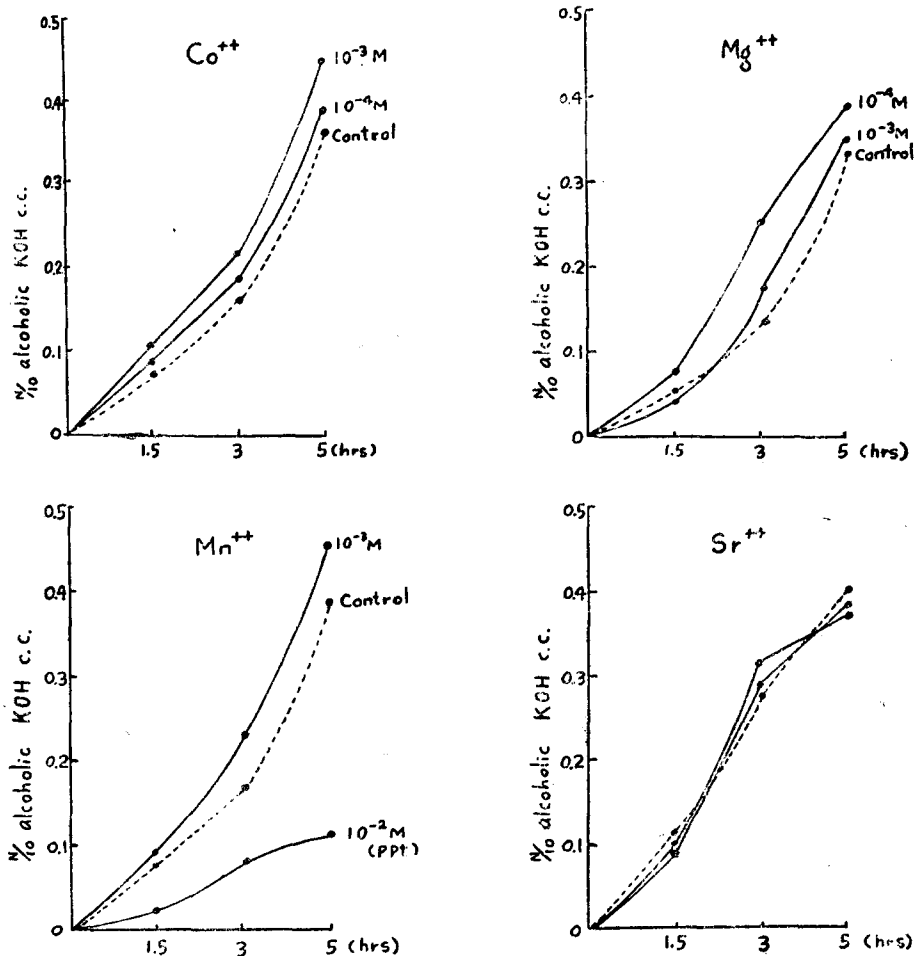


Fig. 2. Effects of metal ions on the proteinase, extracted from the heptapancreas of the shell (*Veneridae Saxidamus purpuratus* Sowarby) with glycerol. (第 2 圖)

5. Heptapancreas, Gastrointestine, Crystalline Style 의 酵素活性의 比較 : heptapancreas, gastro intestine, crystalline style 에서 各各 얻은 酵素液의 活性을 測定하여 第4圖과 같은 結果를 얻었다.

6. 酵素濃度에 依한 影響 : 反應液에 酵素溶液을 2倍 또는 3倍 加하여 酵素活性을 各各 測定하여 第5圖과

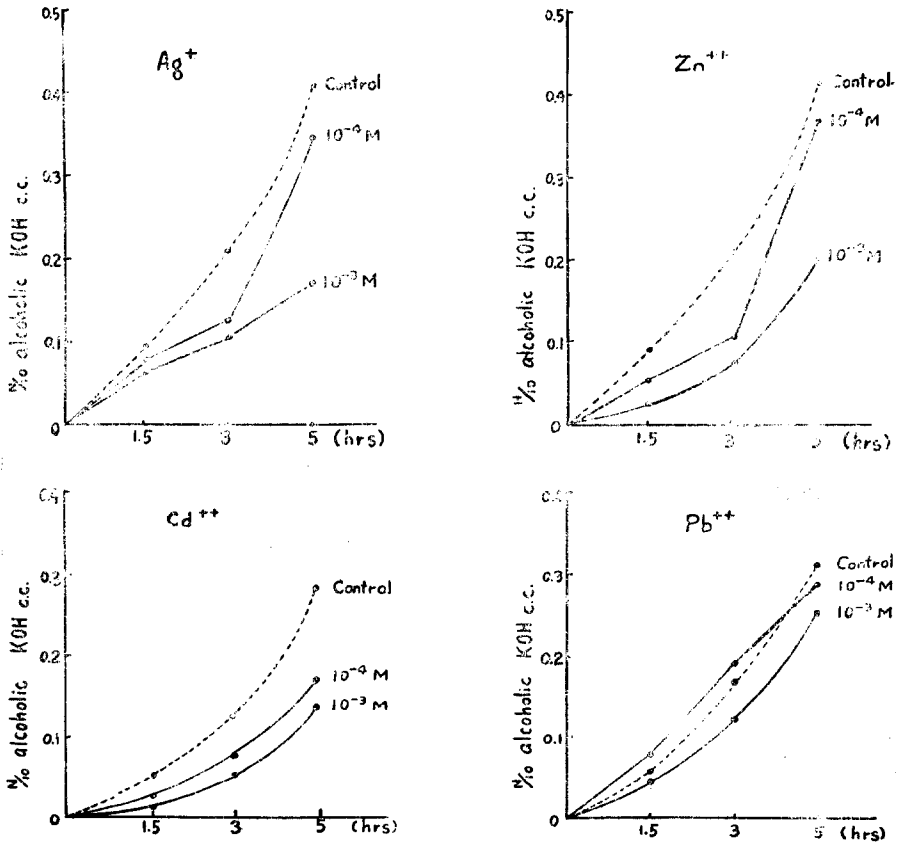


Fig. 3. Effects of metal ions on the proteinase, extracted from the heptapancreas of the shell (*Veneridae Saxidamus purpuratus Sowarby*) with glycerol. (第 3 圖)

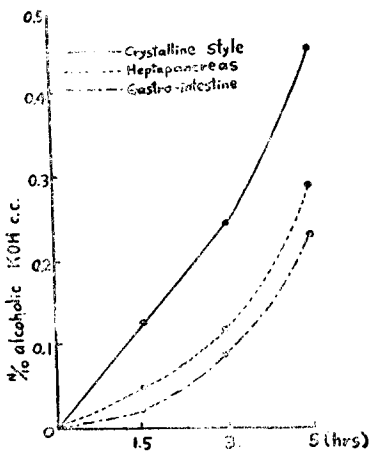


Fig. 4. Comparison with the enzymatic activity of heptapancreas, gastro-intestine and crystalline style. (第 4 圖)

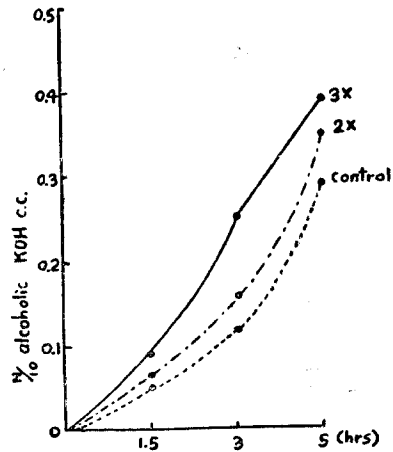


Fig. 5. Comparison with the enzymatic activity of various concentration. (第 5 圖)

같은 결과를 얻었다.

## Ⅱ 考 察

개조개의 Proteinase의 性質을 調査하여서 다음과 같은 몇 결과를 얻었다.

1. 개조개의 Proteinase 最適 pH는 7.5 前後다.
2. 金屬 ion의 活性作用은 1/1,000M  $\text{Co}^{++}$ 가 가장 크고 1/10,000M  $\text{Mg}^{++}$ , 1/1,000M  $\text{Mn}^{++}$ , 1/1,000M  $\text{Sr}^{++}$ 의 順位로 떨러진다.  
 金屬 ion에 依한 阻止作用은 1/1,000M  $\text{Ag}^{+}$ 가 가장 크고 1/1,000M  $\text{Zn}^{++}$ , 1/1,000M  $\text{Cd}^{++}$ , 1/1,000M  $\text{Pb}^{++}$ 의 順位로 떨러진다. 1/1,000M  $\text{Co}^{++}$ 을 除外하고는 活性作用에 있어서는 大體로 먹은 濃度의 金屬 ion의 活性作用이 크다. 反對로 阻止作用은 濃度가 클수록 크다.
3. Heptapancreas, Gastrointestine, Crystalline Style의 酵素活性은 amylase 때와 같이 crystalline style이 가장 크고 다음이 heptapancreas 이고 gastrointestine이 가장 떨러진다. amylase 때와 같이 proteinase도 crystalline style가 主分泌部位로 생각된다.
4. 酵素量을 2배 또는 3배로 增加시켜도 酵素活性은 增加하나 2배 또는 3배로 커지지는 않는다. 이 性質은 proteinase의 一般性質과 같다.

## Ⅲ 要 約

개조개(*Veneridae Saxidamus purpuratus Sowerby*)의 proteinase의 最適 pH와 몇 性質을 調査하여서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 이 proteinase의 最適 pH는 7.5 前後다.
2. 金屬 ion의 活性作用은 다음과 같은 順位로 떨러진다. 1/1,000M  $\text{Co}^{++}$ , 1/10,000M  $\text{Mg}^{++}$ , 1/1,000M  $\text{Mn}^{++}$ , 1/1,000M  $\text{Sr}^{++}$ .  
 金屬 ion의 阻止作用은 다음 順位로 떨러진다. 1/1,000M- $\text{Ag}^{+}$ , 1/1,000M- $\text{Zn}^{++}$ , 1/1,000M- $\text{Cd}^{++}$ , 1/1,000M- $\text{Pb}^{++}$ .
3. Heptapancreas, Gastrointestine, Crystalline Style의 酵素活性中 crystalline style가 가장 크다.
4. 酵素量을 增加시키면 活性이 增加하나 酵素量에 比例하지 않는다.

(釜山大學校 藥學大學)

## 文 獻

1. Bunji Hagihara: Annual report of Scientific Works Osaka University vol. 2 (195)
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. 澤宜久 藤ヶ, 斗又 梯三: 日本水産學會誌 vol. 21~vol. 23(1956~1958)