

우렁챙이(*Cynthia roretzi* v. *Drasche*)의
消化酵素에 對하여 (第 1 報)

Amylase의 酵素的 性質

徐 錫 洙 · 梁 漢 術

Suk Soo Suh, Han Suk Yang; Studies on the Digestive
Enzyme of *Cynthia roretzi* V. *Drasche*.

I. Some Enzymatic properties of Hmylase.

(College of Pharmacy Pusan National University)

Some enzymatic properties of *Cynthia roretzi* v. (*Drasche* Korean : U-Rung-Shei) was studied by author and obtained the following results;

Amylase

1. The optimum pH of the digestive gland amylase was 6.8~7.0
2. Activity of metallic ion on the amylase showed the following order; $10^{-3}M Mn^{++} > 10^{-3}M Co^{++} > 10^{-4}M Mg^{++} > 10^{-4}M Ca^{++} > 10^{-3}M Sr^{++}$. Inhibition of metallic ion on the amylase showed following order; $10^{-2}M Cd^{++} > 10^{-2}M Zn^{++} > 10^{-2}M Pb^{++}$
3. The digestive gland enzyme inactivated at 70°C.
4. When the enzyme concentration increase 2 times, the enzymatic activity also increase, but not proportionally.
5. The digestive gland amylase showed remarkably higher enzymatic activity than the intestinal amylase.
6. The digestive gland amylase from the ascidian showed remarkably higher enzymatic activity than the heptancreatic amylase from shell fish (*Turbo* (*Batillus*) *Cornutus* *Solander*).

(Received November 1959)

I. 緒 言

高等動物의 消化 酵素에 對하여서는 많은 研究者들에 依하여 調査研究되었다. 海産物의 消化酵素에 對하여는 近間의 魚類와 貝類에 對한 一部 性質이 究明되었으나 海鞘類의 消化酵素에 對하여는 筆者의 調査範圍內에서는 研究되지 않았다. 特히 海鞘類는 魚類 貝類等과 같이 海中에서 生活하나 그 種類 生活狀態 등이 다르므로 40°C 前後의 體內에서 作用하는 高等動物은 勿論 魚類 貝類 等과도 그 酵素的性質이 다를 것으로 생각된다. 그러므로 著者는 海鞘類의 消化酵素中 우렁챙이의 Amylase의 酵素活程度 最適 pH 金屬 Ion에 對한 影響 溫度에 對한 影響 酵素濃도에 依한 影響 digestive gland ("liver")와 gastrointestinal의 比較 우렁챙이의 digestive gland와 貝類[소라 *Turbo* (*Batillus*) *Cornutus* *Selander*]의 消化活性的 比較等을 一部 調査하였다.

II. 實 驗

1. 酵素液 : 新鮮한 우렁챙이의 內體를 digestive gland와 gastrointestinal으로 各各 分離하였다. 分離한 各部位를 乾燥시키기 爲하여 約2倍 容量의 Acetone을 加해서 Homogenizer로써 約5分間 處理해서 吸引濾過한다. 이와같은 操作을 Acetone, Acetone-ether, Ether의 順序로 各各 3回式 되풀이해서 完全히 脫水 脫脂한다. 이와같이 하여 乾燥된 것을 Homogenizer로써 處理하면 digestive gland는 微黃白色粉末 gastro intestine은 白色粉末의 粗酸素品을 얻어 黃酸 desiccator에 貯藏한다.

이 酵素粉末를 實驗할때마다 20倍量의 0.02M Phosphate Buffer pH 6.8(0.02M NaH_2PO_4 5.1 : 0.02M Na_2HPO_4 4.9) 溶液을 加하여 35°C의 incubator에 2時間放置後 吸引濾過하여 이 濾液을 同緩衝液으로 3倍로 稀釋하여 實驗에 使用하였다.

特殊한 境遇를 除外하고는 digestive gland를 使用했는데 그 理由는 內臟에서 純粹하게 分離할 수 있으며 그 酵素活性이 強하기 때문이다. 最適 pH를 求할 時는 10倍量의 0.15M NaCl 溶液으로 抽出하여 同溶液으로 2倍로 稀釋하여 使用하였다.

2. 基質溶液 : (1% Dextrin 溶液) Dextrin(Merck & Co. reagent) 1g을 0.02M Phosphate Buffer. pH 6.8 溶液 100ml에 녹이고 여기에 0.0067M NaCl을 含有토록 調製한다.

3. 試藥

○3.5 dinitro salicylic acid 溶液 : 3.5 Dinitro salicylic acid 1g을 2N NaOH 20ml와 물 50ml에 녹이고 여기에 Rochelle鹽 30g을 加하여 溶解시킨後 물을 加하여 100ml로 量. CO₂와 可及의 接觸치 않도록 保存한다.

○0.02M NaH₂PO₄ : NaH₂PO₄ · H₂O 2.759g을 蒸溜水에 溶解하여 1l로 量.

○0.2M Na₂HPO₄ : Na₂HPO₄ 2.839g을 蒸溜水에 溶解하여 1l로 量.

○2N NaOH : NaOH 80g을 蒸溜水에 溶解하여 1l로 量.

4. 酵素活性의 測定 : Peter Bernfeld method에 依하여 測定하였다. 酵素液 1ml을 試驗管에 取하고 40°C의 incubator內에 約 3分間 넣어 두었다가 여기에 1% Dextrin 溶液 1ml을 加하여 10, 30, 60分間을 作用시킨後 3.5 Dinitro salicylic acid 2ml을 加하여 作用을 中止시키고 正確히 5分間 沸騰水溶中에 넣었다가 冷水中에 放置하여 冷却시킨다. 完全히 冷却된後 蒸溜水 20ml을 加하고 잘 混合시킨後 klett-Summepson photo electric Colorimeter로서 蒸溜水를 標準으로 하여 그 absorbance를 測定하였다. Filter는 No. 54를 使用하였다. 空試驗은 酵素液, 3.5 Dinitro salicylic acid, 基質溶液의 順序로 加하고 같은 操作을 하여 空試驗值를 求하였다.

上記 測定值에서 空試驗值를 除한것이 實際의 測定值이다.

5. 最適 pH : 上記의 測定法으로 pH 5.7 부터 8.0 사이의 여러가지 基質溶液을 만들어 10分間 酵素를 作用시켜서 最適 pH를 求한 結果는 第1圖와 같다.

6. 金屬 Ion의 影響 : 最終濃度가 各各 10⁻²M 10⁻³M 10⁻⁴M가 되도록 下記鹽類를 調製하였다. COCl₂, 6H₂O, MnCl₂ · 4H₂O, MgCl₂, 6H₂O, SrCl₂, 6H₂O · CaCl₂, CdCl₂, PbAc₂, ZnSO₄ · 7H₂O, 이들 鹽類溶液을 加하여 上記方法으로 測定하여 第2圖와 같은 結果를 얻었다.

7. 溫度에 對한 影響 : 酵素液을 50°C 60°C 70°C의 恒溫槽에 各各 5分間 담구었다가 위의 測定法으로 第3圖와 같은 結果를 얻었다.

8. 酵素濃도에 依한 影響 : 基質溶液에 酵素液을 1ml와 2ml을 加하여 酵素活性을 比較한 結果는 第4圖와 如하다

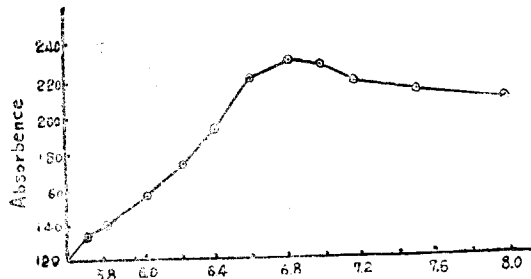


Fig pH optimum on the amylase extracted from the digestive gland (liver) of the escidian (*Cynthia roretz* v. *Drasche*) with 0.15M NaCl solution.

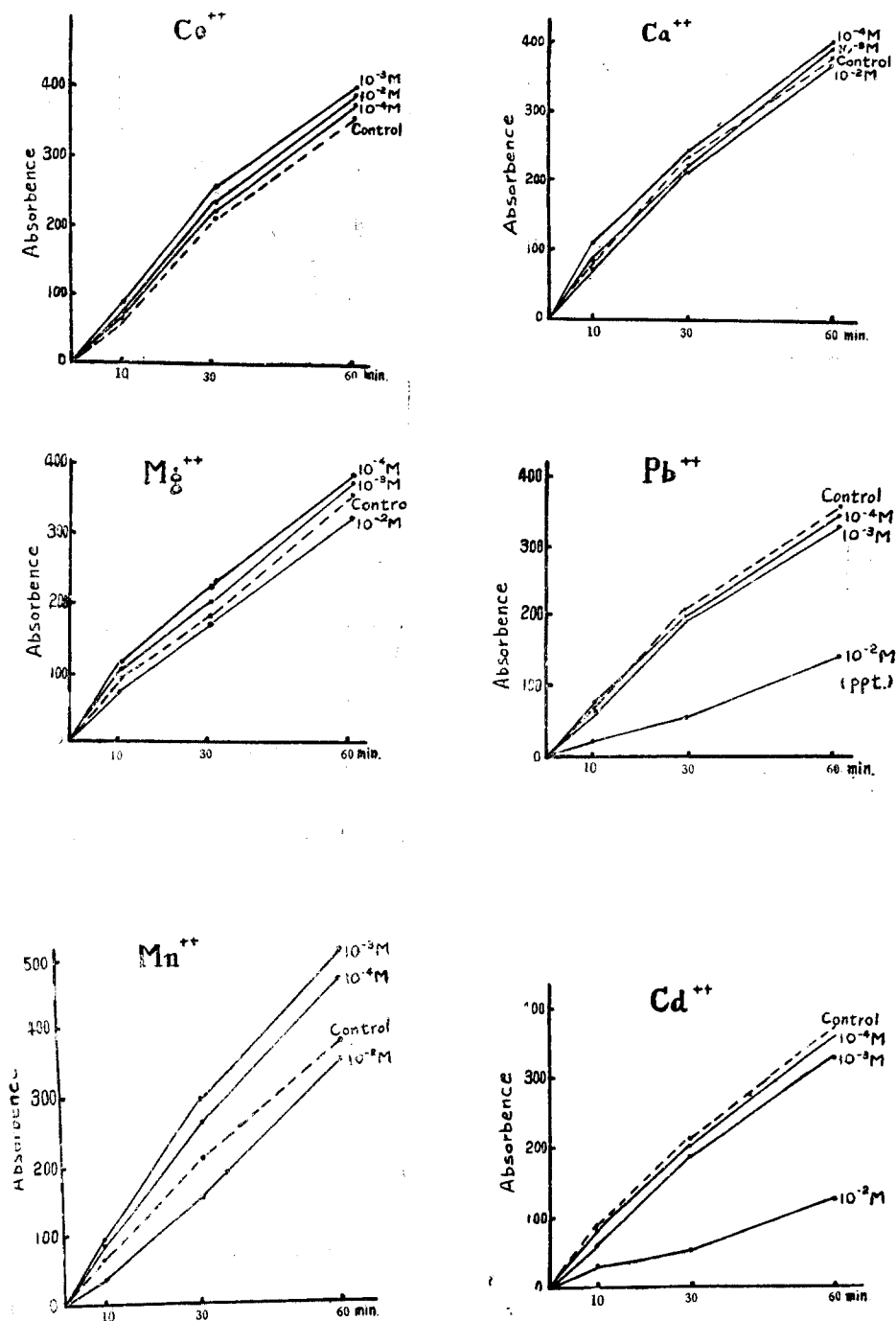


Fig 2. Effects of metal ions in the amylase, extracted from the digestive gland of the ascidian (*Cynthia roretzi* v. Drasche) with 0.02M Phosphate Buffer, PH 6.8.

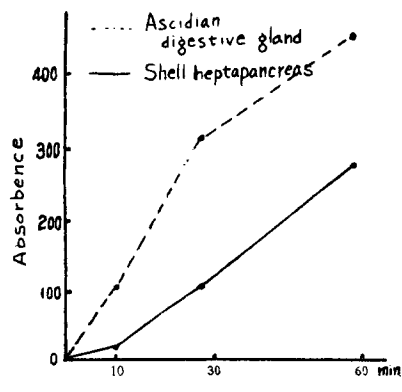
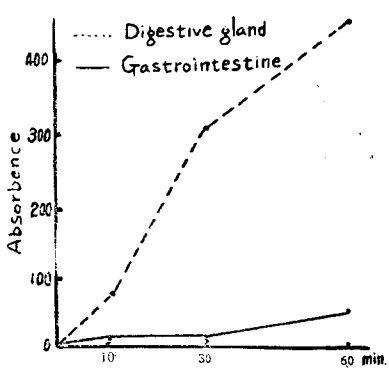
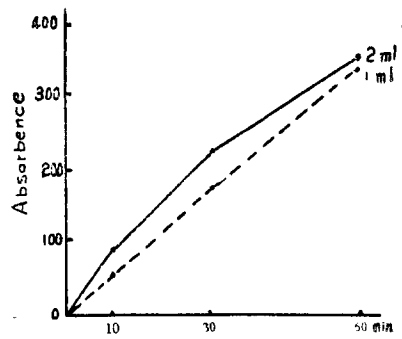
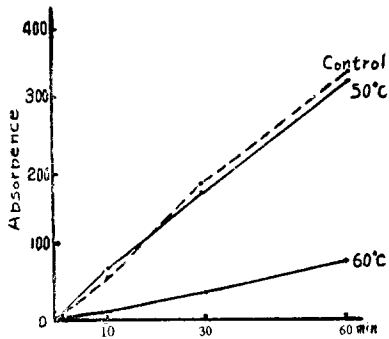
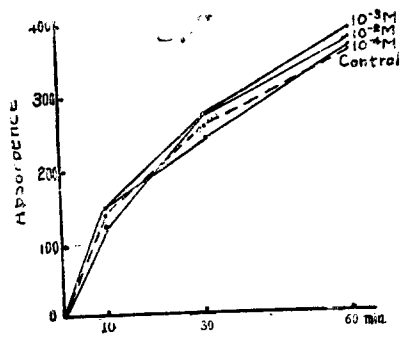
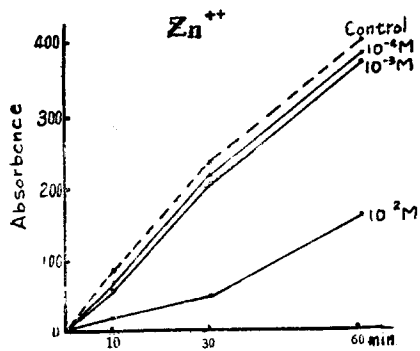


Fig 3, Effects of temperature on the amylase extracted from the Ligessive gland of the ascidian.

Fig 5. Comparision with the enzymatic activity of Ligestive gland and gastroin testine.

Fig 4. Comparision with the the enzymatic activity of Concentration.

Fig 6. Comparision with the enzymatic acti- vity of ascidian digestive gland and shell heptancreas

9. 우렁쟁이의 *digestive gland* 와 *gastrointestine* 의 比較 : 우렁쟁이의 *digestive gland* 와 *gastrointestine* 을 比較한 結果는 第5圖이다.

10. 우렁쟁이와 貝類(소라)와의 比較 : 우렁쟁이의 *digestive gland* 와 소라의 *Heptapancreas* 의 酵素活性 을 比較한 結果는 第6圖을 같다.

Ⅲ. 考 察

우렁쟁이 *Amylase* 의 性質을 調査하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 우렁쟁이 *Amylase* 의 最適 pH 는 6.8~7.0 이다.
2. Co^{++} 는 全體의으로 賦活作用이 있는데 10^{-3}M 가 顯著한 活性作用을 보이며 다음 10^{-2}M , 10^{-4}M 의 順位이다.

Mn^{++} 의 10^{-2}M 는 阻止作用을 나타내나 10^{-3}M 는 顯著한 賦活作用을 나타내며 10^{-4}M 도 相當한 活性作用이 있다.

Mg^{++} 10^{-2}M 도 若干의 阻止作用이 있으나 10^{-4}M , 10^{-3}M 의 順位로 多少의 賦活作用이 있다.

Sr^{++} 10^{-3}M 는 若干의 賦活作用을 보이나 10^{-2}M 10^{-4}M 는 거의 影響이 없는것 같다.

Ca^{++} 는 10^{-4}M 가 相當한 活性을 보이나 10^{-2} 10^{-3}M 는 크게 影響을 주지 않는다.

Cd^{++} 는 全體의으로 阻止作用을 나타내는데 10^{-2}M 가 가장 顯著하며 10^{-3}M 10^{-4}M 의 順位로 들어든다.

Pb^{++} 10^{-2}M 는 若干 白濁을 이루었는데 그대로 作用시켜 測定한 結果 아주 顯著한 阻止作用을 보였다.

10^{-3}M , 10^{-4}M 의 順으로 若干의 阻止作用이 있다.

Zn^{++} 는 10^{-2}M 가 顯著한 阻止作用을 보였으며 10^{-3}M , 10^{-4}M 도 相當한 阻止作用이 있다.

結果의으로 賦活作用은 10^{-3}M Mn^{++} 가 最大이며 다음 10^{-3}M Co^{++} , 10^{-4}M Mg^{++} , 10^{-4}M Ca^{++} , 10^{-3}M Sr^{++} 의 順이다. 阻止作用은 10^{-2}M Ca^{++} , 10^{-2}M Zn^{++} , 10^{-2}M Pb^{++} 의 順이다.

3. 酵素液의 溫度에 對한 影響은 50°C 에서는 크게 影響이 없었는데 60°C 에서는 顯著이 酵素活性이 줄었으며 70°C 에서는 거진 作用이 없다 하여도 過言이 아닐程度로 그 活性이 減하여 졌는데 80°C 에서 不可逆의으로 破壞되는 一般的 性質과 같다.
4. 酵素液을 1ml 와 2ml 의 두가지를 比較하여 볼때 2ml 쪽이 活性이 크나 酵素量에는 比例하지 않는다.
5. 우렁쟁이의 *digestive gland* 와 *gastrointertine* 을 比較한 結果 *digestive gland* 는 顯著히 그 活性이 크나 *gastraintertine* 은 아주 微弱하다.
6. 우렁쟁이의 *digestive gland* 와 소라의 *Heptapancreas* 에서 抽出된 酵素의 活性度를 比較하니 우렁쟁이가 大端히 크다.

Ⅳ. 要 約

1. 우렁쟁이의 *Amylase* 의 最適 pH 는 6.8~7.0 이다.
2. 金屬 Ion 의 賦活作用은 10^{-3}M Mn^{++} > 10^{-3}M Co^{++} > 10^{-4}M Mg^{++} > 10^{-4}M Ca^{++} > 10^{-3}M Sr^{++} 의 順으로 들어들며 阻止作用은 10^{-2}M Cd^{++} > 10^{-2} Zn^{++} > 10^{-2}M Pb^{++} 의 順序로 그 作用이 弱해진다.
3. 酵素液의 溫度에 對한 影響은 50°C 에서는 無關하고 50°C 에서는 顯著히 70°C 에서는 大部分의 酵素活性이 없어진다.
4. 酵素量을 增加시키면 活性이 增加하나 酵素量에 比例치 않음.
5. *digestive gland* 와 *gastrointestine* 을 比較할때 前者는 그 活性이 顯著하나 後者는 아주 微弱하다.
6. 우렁쟁이 *digestive gland* 에서 抽出한 *Amylase* 가 소라(貝類)의 *hepta pancreas* 에서 抽出한 *Amylase* 보다 그 活性度가 顯著히 크다.

(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. Sidney P. Colowick and Nathan O. Kaplan; methods in Enzymology I (1957)
 3. Sidney P. Colowick and and Nathan O. Kaplan; Methods in Enzymology II (1957)
 4. Sidney P Colowick and Nathan O. Kaplan; Methods in Enzymology III (1957)
 5. J.B. Sumner and G.F. Sommers; Chemistry and method of Enzymes (1953)
 6. Tracy I. Stover; General Zoology (1951)
 7. Ralph Buchsbaum; Animals without Backbones (1954)
 8. 赤堀四郎 編; 酵素研究法 Vol. I (1956)
 9. 赤堀四郎 編; 蛋素研究法 Vol. II (1956)
 10. 赤堀四郎 編; 蛋白質化學 Vol. I (1955)
 11. 赤堀四郎 編; 蛋白質化學 Vol. II (1955)
 12. 赤堀四郎 編; 蛋白質化學 Vol. III (1955)
 13. 江上不二夫 編; 標準生化學實驗法 (1954)
 14. 斗ヶ澤宣久, 膝又悌三; 日本水產化學會誌 Vol. 21, 22, 23 (1956~1958)
 15. 徐錫沫; 生物化學 (1957)
 16. 徐錫沫, 洪承喆, 梁漢錫; 本 Vol. 4. 35 (1959)
 17. 徐錫沫, 梁漢錫, 洪承喆; 本 Vol. 39 (1959)
-