

A-107 緑豆発芽体  $\beta$ -nucleotidase の二価金属イオンの影響について  
四天王寺女短大 ○ 龜山真美 増田 勉

目的 緑豆発芽体酸性ホスファターゼの研究中、 $\beta$ -nucleotidase 活性を見出した。冷水抽出、硫酸塩析、セファデックス G-25 ゲル濾過、DEAE-cellulose によるカラムクロマトグラフィーおよび再クロマトグラフィー、そしてセファデックス G-200 ゲル濾過により、基質非特異性酸性ホスファターゼと分離し、Walters らの精製したものと性質を異にしていた  $\beta$ -nucleotidase を得た。緑豆発芽体  $\beta$ -nucleotidase は、L-酒石酸、EDTA などのキレート剤により阻害されるので、本酵素に金属イオンが関与しているように推察される。このことから、本酵素に対する二価金属イオン、特に  $Zn^{2+}$  の効果について検討した。

方法 緑豆は水洗し、50°C の温水に 5 時間浸漬して緑豆が膨潤した後、30°C の暗所において発芽させた。反応条件、酵素活性測定法は、0.1M 酢酸緩衝液 (pH 6.0) 10ml 酵素液 2.0ml および蒸留水 2.8ml を混合し、37°C 5 分間のフォリンキューベーションのうち、基質として 5mM の  $\beta$ -AMP または、p-ニトロフェニルリン酸 10ml を加えて、5 分反応させた。5% トリクロル酢酸 2.5ml を加えて反応を停止し、遊離した無機リン酸量を、Fiske-Subbaro 法で定量した。

結果 1)  $Zn^{2+}$  を強く阻害された。

2) pH 安定性において  $Zn^{2+}$  は酸性側における安定性を高めた。

3) 70°C, 30 分の熱失活に対し、 $Zn^{2+}$  は保護作用を示さなかった。

4) 反応時に  $Zn^{2+}$  を添加しても、至適 pH、 $K_m$  の変動は認められなかった。