

Hydroxyproline-Containing Citrus Esterase (第2報) 動力学的性質, 化学修飾, 及び安定性

久保田幸穂*, 庄司 省三*, 船越 崇行*, 塩永 一寛*
 植木 寛

薬学雑誌 (YAKUGAKU ZASSHI), 104 (10), 1070-1074 (1984)

Hydroxyproline-Containing Citrus Esterase. II. Kinetic Properties, Chemical Modification, and Stability

Yukiho KUBOTA*, Shozo SHOJI*, Takayuki FUNAKOSHI*,
 Kazuhiro SHIONAGA*, and Hiroshi UEKI

ABSTRACT The values of K_m and V_{max} of the citrus esterase for the hydrolysis of *p*-nitrophenyl acetate were $1.9 \times 10^{-3} M$ and $250 \mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{mg}$, respectively. The enzyme was stable in the pH range from 4.5 to 6.0 and temperature range from 0 to 30°C but was quickly denatured at pH values below 4.5 or over 6.0. Its activity considerably decreased on lyophilization. The enzyme was completely inactivated by sodium dodecylsulfate. It was also inhibited by cetyltrimethylammonium bromide, Brij-35, Tween 80, and Triton X-100, and the enzymatic activity decreased with their increasing concentrations.

It was strongly inhibited by diisopropylfluorophosphate and HgCl_2 . *N*-Ethylmaleimide, *p*-chloromercuribenzoic acid, phenylmethanesulfonyl fluoride, *p*-bromophenacyl bromide, phenylglyoxal, *N*-tosyl-L-phenylalanyl chloromethyl ketone, *N*-tosyl-L-lysyl chloromethyl ketone, and ethylenediaminetetraacetic acid showed no significant effect on the enzymatic activity at pH 5.5. The enzyme was inactivated with incorporation of 0.96 mol $^{203}\text{HgCl}_2$ per mol enzyme but did not react with *p*-[^{203}Hg] chloromercuribenzoic acid.

抄録 ナツミカンの外果皮から単離したエステラーゼの化学的, 酵素的性質はすでに報告した。本研究では動力学的性質, 安定性及び活性中心について検討を加えた。*p*-ニトロフェニル酢酸水解活性より得た K_m 及び V_{max} 値は $1.9 \times 10^{-3} M$ と $250 \mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{mg}$ であった。本酵素はpH 4.5-6.0 および0-30°Cで安定であるが, pH 4.5以下また6.0以上では急速に失活した。界面活性剤のうちドデシル硫酸塩によって完全に失活し, またセチルトリメチルアンモニウムブロミド, Brig-35, Tween 80, Triton X-100 などによって種々の程度に阻害を受けた。ジイソプロピルフルオロリン酸や HgCl_2 によっても強く阻害された。*N*-エチルマレイミド, *p*-クロロマー

キュリア安息香酸, フェニルメタンスルホニルフロリド, *p*-プロモフェナシルブロミド, フェニルグリオキザル, TPCK, TLCKやEDTAなどは阻害を示さなかった。本酵素1モルは0.96モルの $^{203}\text{HgCl}_2$ の取り込みによって失活したが, *p*-[^{203}Hg]クロロマーキュリア安息香酸とは反応しなかった。これらの結果から本酵素には遊離のSH基あるいは酵素活性に必須なSH基は存在しないことが示唆された。

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University 熊本大学薬学部