



酵素研究法

1

森田四郎著



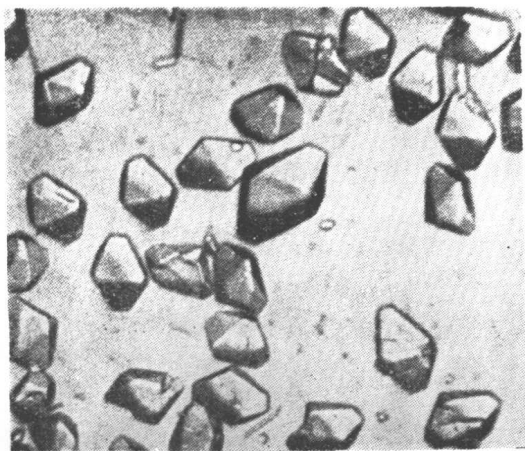
酵素研究法

第1卷

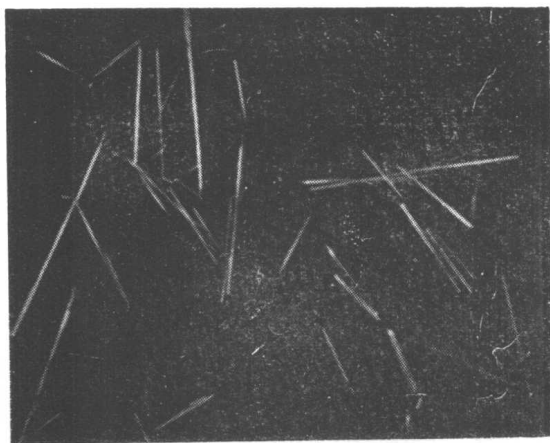
赤堀四郎編



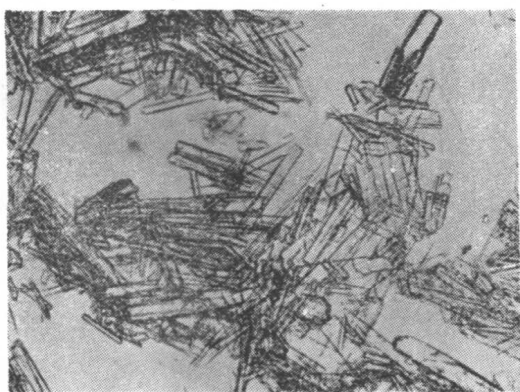
朝倉書店



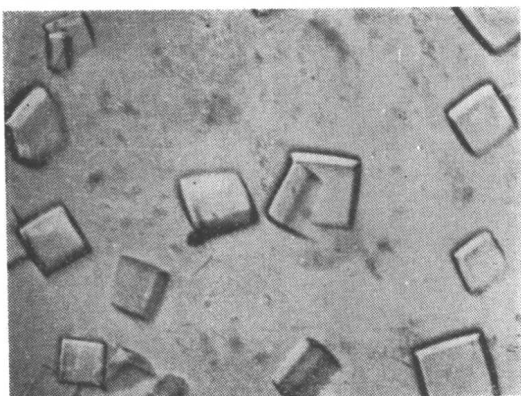
1. *B. subtilis* の α -Amylase (特定条件結晶)
(萩原)



2. *B. subtilis* の α -Amylase (急速結晶化)
(萩原)



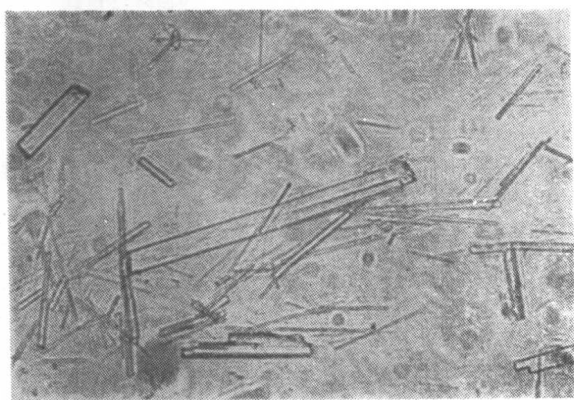
3. *B. subtilis* の Proteinase (徐々に結晶化)
(萩原)



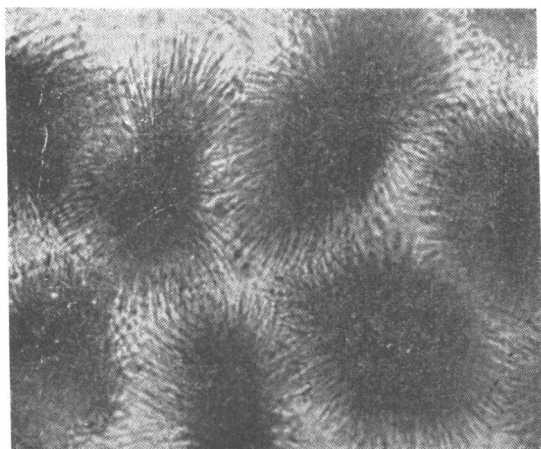
4. Taka-amylase (赤堀・池中・萩原)



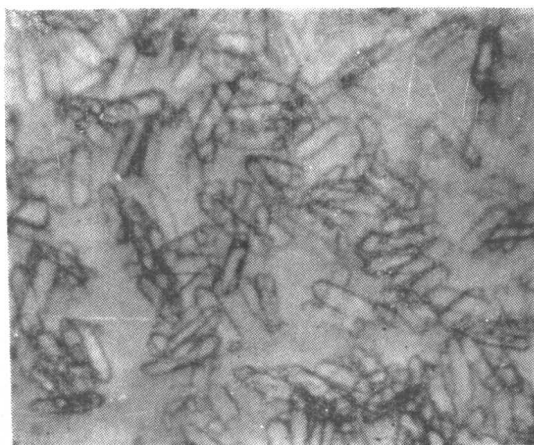
5. 牛肝臓の Catalase (白川)



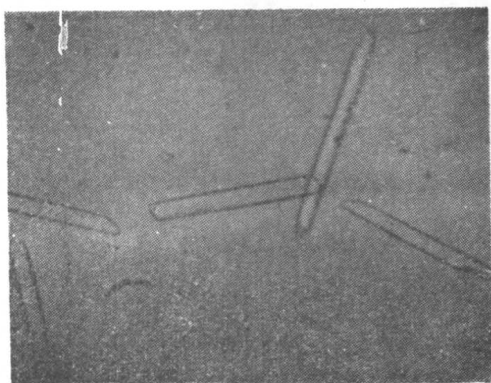
6. 鶏卵白の Lysozyme (大野)



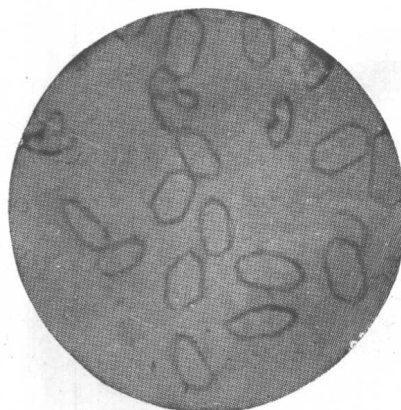
7. Taka-proteinase
(赤堀・萩原・池中・迫田)



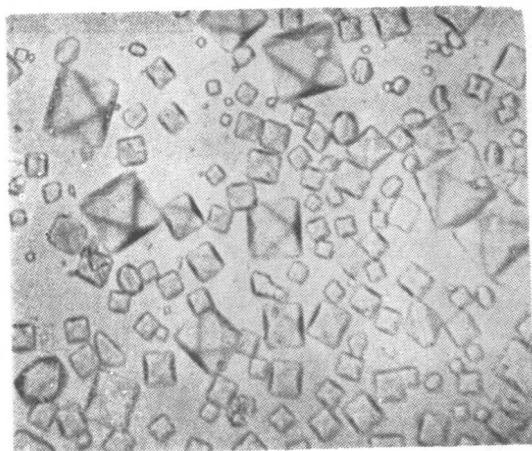
8. 牛膵臓のCarboxypeptidase (草間)



9. Glucamylase (酸処理) (福本)



10. Glucamylase (福本)



11. 甘藷の β -Amylase (伊藤)



12. 大豆の β -Amylase (福本)

序 文

およそいずれの自然科学でもそうであるが、大學で一通りの基礎教育を受けた後に、研究的な仕事を始めようとする人は、まずどこか設備の整った研究室に入り、そこで優れた指導者について研究を始めるのが最もたしかな道である。しかしこのような望みは日本の若い學徒のほんの一部のものにしかかなえられないことである。これは酵素學に限らず、日本の科學のあらゆる分野における嘆かわしい現状でもある。特に酵素學は歴史の新しい科學であるだけに、指導者も少なく、また設備に至つてはさらに少なく、貧弱であることはいうまでもない。

このような困難を排しても、なお勇敢に酵素の研究に進もうとする人々、あるいは酵素學的手法で生物學、醫學あるいは農學を研究しようとする人々にとつては、優れた研究指導書が、どうしても必要になると思う。

酵素學の實驗的技術に關する限りでは、從來から、日本にも、歐米にもかなりよい書物が出版されている。しかし、私の考えでは實驗的技術の知識だけあつても、それで研究ができるとはいえないのである。科學的研究といわれるものは大體次のような段階を経て實現されるものであらう。

1. 研究題目の選定。
2. 材料の選擇。
3. 實驗裝置の考案、組立て。
4. 實驗、測定。
5. 實驗、測定結果の整理。
6. 研究報告の作製と發表。

從來の實驗法の書物では、主として第3、第4の問題のみが取り扱われ第1の點に關しては全然といつてよい位、また第2の問題についても僅かの考慮しか拂われていなかったように思われる。この「酵素研究法」ではその點を特に重要視し、單なる「實驗法」でなく、「研究法」としての性格を有つものとして企劃されたのである。第1巻の初めにある田宮、植村兩教授の書かれたものは研究題目の選定に當つて大いに參考になると信ずる。また反應速度論がかなり詳しくなつてゐるのはこれが酵素學の一部であるとともに研究手段としての性格が強いからである。

研究の最後の段階である「報告の作製と發表」も日本人が歐文で發表しようとする場合にはかなりやつかいな問題になる。しかし、そのための特別の書物も出版されているので本書ではそこまでは觸れていない。

酵素學は1833年の Payen-Perroz による麥芽 Amylase の抽出と1837年の Liebig-Wöhler による Emulsin の研究によつて始められたといえる。その後 Buchner, Sørensen, Willstätter

等の研究によつて大いに進歩したが1920年代までは酵素の作用力だけが知られていてその本質については全くわからなかつた。1926年 Sumner が Urease を純粹な結晶として分離し續いて Northrop 等によつて Pepsin, Trypsin 等も結晶化され、それらが皆蛋白質にほかならないことが證明されて以來酵素學は新たな段階に入つた。

現在ではすでに 100 種に近い酵素がほぼ純粹な結晶蛋白質としてその本質が把握されるようになり、同時に酵素學が精密科學の一分科として確立されるに至つた。

純粹な酵素が容易に得られるようになった必然的な結果と新しい實驗、測定方法の發見とが相俟つて第二次大戰後は「酵素の物理化學的構造に基づく作用機作の解明」というような研究が急速に發展しつつある。ところが一方ではまた、酵素の問題をより生物學的に取り扱おうとする動きも活發になりつつある。酵素の生體內における生成分解や、從來純粹な生物學的問題と考えられていた種々の生命現象まで酵素系として研究しようとするような傾向が著しい。極端に言えば生物學の全體が酵素學あるいは生化學になりつつあるようにさえ見える。

私は酵素學もやはり一方では Physical Science として、また他方では Biological Science として扱うべきものとする。本書の各項目の内容も、執筆者の過去の經歷や業績にしたがつておのずから二つの傾向がうかがわれると思う。しかし、研究者が問題を選定する場合にも、また實驗結果の意義を考える場合にも、一方だけの立場で考えるのでは、發展性が乏しくなると思う。一つの實驗研究の目的はもちろんそのいずれか一つに偏つて差支えないのであるが、業績の批判や、將來それをいかに發展せしむべきかを考える場合には、立場を替えて考えて見る必要がある。それによつてわれわれは新たな問題を發見することが容易になると信ずる。

私は本書が酵素研究者のために實際に役に立つことを願ひ、またそれを信ずるものではあるが研究の構想、手段など本書に捉われることなく研究者自らが大いに創意を働かされ、むしろより多く本書の缺點を指摘されんことを願うものである。本書の内容は現在においては最高水準を示しているものとは信ずるが、最近の數年間のうちに、めまぐるしいほど進歩の速やかな時代には、數年を出でずして古いものになつてしまふかも知れない。しかしもしそうなつたとしてもそれは酵素學の速やかな進歩を示すものであつて學問の進歩のためには大いに喜ぶべきである。逆説的ないい方ではあるが本書の内容が速やかに古くなるために本書は出版されたともいいうるのである。ただそのような速やかな酵素學の進歩のために日本の酵素學者が大いに貢獻されんことを切に祈るものである。

昭和30年10月

赤堀四郎

編 集 委 員

(A B C 順)

あか ぼり し ろう
赤 堀 四 郎

大阪大學教授 (理學部)
東京大學教授 (應用微生物研究所・理學部)
理學博士

ふじ しげ ひろし
藤 茂 宏

東京大學理學部植物學教室
理學博士

まる お ぶん じ
丸 尾 文 治

東京大學助教授 (應用微生物研究所)
農學博士

ささ かわ たい じ
笹 川 泰 治

立教大學助教授 (理學部)
理學博士

さ たけ かづ を
佐 竹 一 夫

東京大學助教授 (理學部)
理學博士

せき ね たか みつ
關 根 隆 光

順天堂大學助教授 (醫學部)
醫學博士

執筆 者 一 覧

(執筆 順)

たみや 田宮	ひろし 博	東京大学教授 (理學部) 徳川生物學研究所々長 理學博士	せきね 關根	たかみつ 隆光	順天堂大学助教授 (醫學部) 醫學博士	ふじた 藤田	あきじ 秋治	京都府立醫科大學教授・ 理學博士
うらむらていじろう 植村定治郎		東北大学教授 (農學部) 農學博士	たかはし 高橋	ひろつね 泰常	群馬大学助教授 (醫學部)	やま 八木	くにお 國夫	名古屋大学助教授 (醫學部) 醫學博士
あぐれ 奥貫	かづ 一男	大阪大学教授 (理學部) 理學博士	えはし 江橋	せつろう 節郎	東京大学醫學部藥理學教授・ 醫學博士	とのむら 殿村	ゆうじ 雄治	北海道大学助教授 (滿洲 研究所)
いしもと 石本	まこと 眞	東京大学理學部化學教室 理學博士	はなや 細野	ゆうじ 雄二	大阪市立大学教授 (醫學部) 醫學博士	こばやし 小林茂三郎	さぶろう 三郎	東京醫科齒科大學助教授 醫學博士
のじま 野島	とくきち 徳吉	東京大学傳染病研究所	つかた 塚田	やすぞう 裕三	滋賀縣立大学助教授 (醫學部) 醫學博士	かわで 川出	としみ 由己	東京大学理工學研究所
ささき 佐々木	まこと 眞	東京大学教養學部化學教室	きつかわ 吉川研究室		大阪大学醫學部遺傳學教室	まるま 丸尾	ぶんじ 文治	東京大学助教授 (應用微 生物研究所)・農學博士
さたけ 佐竹	かづ 一夫	東京大学助教授 (理學部) 理學博士	やまむら 山村	ゆういち 雄一	大阪市立大学助教授・大 阪市立大学刀根山試驗研 究所・國立復美所刀根山 病院・醫學博士	たかはし 高橋	はじめ 甫	東京大学助教授 (應用微 生物研究所)
あさかわ 笹川	たいじ 泰治	立教大学助教授 (理學部) 理學博士	あかお 岡崎	ひろし 浩	三菱株式會社高橋研究所	のぎ 野崎	みつひろ 光洋	大阪大学理學部生物學教室
たみや 田宮	のぶ 信雄	東京大学助教授 (理學部) 理學博士	うえはら 上原喜八郎	きちろう 八郎	大阪大学助教授 (理學部) 理學博士	まつか 松岡	としたか 芳隆	名古屋大学醫學部法化學 教室
たにぐち 谷口	しげひこ 茂彦	名古屋大学理學部化學教室	はらばら 萩原	ぶんじ 文二	神戸山手女子短期大學教授・ 理學博士	せくす 瀬屑	いちろう 一郎	大阪大学理學部生物學教室
あまの 天野	つねひさ 恒久	大阪大学教授 (醫學部) 醫學博士	あした 追田	なかつ 直一	株式会社大日本醫藥研究所 研究次長兼企業次長	ふなはし 舟橋	さぶろう 三郎	東京大学教授 (農學部) 農學博士
かとうけいじろう 加藤慶二郎		大阪大学醫學部	かげやま 影山	しげあき 成章	京都府立醫科大學・醫學 博士	まきの 牧野	かたし 堅	東京慈恵會醫科大學教授 醫學博士
はらばら 長谷川弘道	あきひろ あきひろ	東京大学理學部植物學教室	たかみや 高宮	あつし 篤	東京工業大学助教授	こいけ 小池	まさひこ 正彦	熊本大学講師 (醫學部) 醫學博士
いとう 伊藤	りょうじ 良二	日本大学教授 (理學部) 醫學博士	こが 古賀	しょうぞう 正三	東京大学助教授 (應用微 生物研究所)	せきぐち 關口	とよぞう 豊三	東京大学醫學部放射線教 室・榮譽學教室
あさだ 淺田	とし 敏雄	東京大学助教授 (醫學部)	く 久保	ひで 秀雄	大阪大学教授 (醫學部) 醫學博士	くろいわ 黒岩	としろう 芳郎	滋賀縣科學研究所長・大阪 市立大學講師・農學博士
こいけ 小池	ごろう 五郎	女子傳道短期大學教授・ 醫學博士	いわつば 岩坪	もとひろ 源洋	徳島大学助教授 (醫學部) 大阪大学講師 (醫學部) 醫學博士	なかわら 中村	みちのり 道德	東京大学助教授 (農學部)

酵素研究の進め方 I

田 宮 博

酵素研究の進め方にある特定の "型" や "秘訣" があるはずのものではないだろう。以下に書き綴ったのは、この老書生が 30 年の研究生活の間に、折にふれて考えたこと、見聞きしたこと、自分自身にいつて聞かせたことなどの、取りとめもないメモの一つに過ぎない。

○

酵素の研究はどこまでも実験による研究である。実験のうまい人と下手な人がある。うまくても下手でも実験が嫌しいのでなければ酵素の研究はできない。"失敗もまた愉し" というほど実験を愛するのでなければいけない。

○

しかしただ楽しく実験をしているというだけではよい研究は産まれない。よい研究とは獨創的な研究のことである。しかし研究は獨創的である前に、まず論理的でなければならない。

○

論理的に仕事を進めるにはどうすればよいか。実験にとりかかったその日から、毎日頭の中で論文を書くことである。実験が進むにつれてその論文の内容は次々と變つて行くことであろう。最後に頭の中でまとまつた論文が、実験の最初の日にかえたものと異なつていればいるほどその仕事は面白いものである。

○

頭の中で論文がまとまつたら、一日も早くそれを書き上げて發表することである。僕はこれを "お通じ" と呼んでいる。"お通じ" はできるだけよくしなければならない。でないと悪い腸内酸酵が起つたり、食欲が減じたりする。

○

実験しながら考え、考えながら実験している間に獨創的なものが——もし産まれるものなら——産まれる。それは無意識的にどこからともなくできるもので、いくら意識的に力んで見ても來ないときには來ないのである。

○

仕事の最中に獨創的なものが産まれる場面は、演奏家が舞臺の上で無我の境になつて演奏している時の場面に似ている。聴衆に深い感銘を與えるほどの演奏家は、日常絶えず練習曲で腕をきたえている。しかしそれは決して單に指さきばかりの鍛練ではない。高い藝術への "祈り" を込めての修業なのである。このような不斷の修業があつてこそ、演奏家は、抜きさしならぬ舞臺の上で名演奏がでる。著者は抜きさしならぬ実験活動のさ中に獨創的なものに恵まれるのである。

○

尤者の場合、"祈りを込めた修業" とは何か、音樂の練習曲が一般に舞臺で演奏される曲と同じ

ではないように、研究者の勉強の対象も必ずしも彼が現在研究している事柄に直接関係したものでなくてよい。否、かえつて直接関係しないような雄大で、軌範的な先人達の業績を學ぶのがよいと思う。この老書生が若かりし頃の練習曲は熱力學と反應速度論であつた。

○

ものごとを知り過ぎては獨創性はにぶり勝ちである。しかしものを知らなくては何も産み出すことはできない。自分で何も仕事をしないで他人の論文をあまり澤山読むのはいけない。人の論文を読むことも、上に述べた修練を積むことも、何か自分自身で獨自の仕事をやりながらすべきである。自分の中に創意の渦巻きが生まれだすことが第一である。そうなれば他人の仕事はいくら読み聞きしても、獨創的な渦巻きの榮養とはなれ、獨創性をにぶらせることにはならない。

○

昨年 Berlin Dahlem で Otto Warburg に再會したとき、ちょうどスウェーデンの Theorell が來合せていた。彼が誰かの仕事をほめた時 Warburg がいつた。“その研究は重要なものかも知れないが、僕には興味がない。何故ならそれは僕の發見した事實ではないから”と。このような言葉が吐ける人は當代 Warburg をおいてはないであろう。

○

その Warburg も Emil Fischer を己れの師として深く崇めている。しかし“自分はどこまでも生物學者であつて、化學者ではない”と彼はいう。“Wieland は秀れた有機化學者であり、J. Franck は立派な物理學者であるが、ひとたび問題が生き物に關することになると、いかに彼等が幼稚なことをいうかを見給え”とも彼はいつた。

○

僕がはじめて研究生活にはいつた頃、生化學における新しい大問題の一つは生體系に對する水素イオン濃度の影響ということであつた。卒業論文に恩師の柴田桂太教授から戴いた課題も“麹菌の生育と水素イオン濃度”というような問題であつた。水素電極の實驗を、さも大實驗のような氣持ちで行つたものである。今の人はどうであろう。水素イオンの理論など物の數ではないし、 pH はガラス電極で何の苦もなく測つている。理論も技術も進歩したし、修得し易くもなつた。しかし獨創的な仕事を産むということは少しも易しくなつてはいない。

○

われわれがアルコール醗酵の機作について學んだ頃は Harden や Neuberg の時代であつた。今の人々は（外國でも同様であるが）、それらは殆んど知らずに、一足飛びに Meyerhof, Parnas, Warburg 等による Schema を學ぶ。過去のまわりくどいぎさつを知らないことは研究者にとつて大きい強味である。しかしわれわれが、當時 Neuberg 等の説を確定的なもののように考えがちだつたのと同じように、もし今の人々が現在の Schema を最終的なものと思い、研究が生々流轉するものであることを忘れたとしたら、よい研究を産むことはできないであろう。

○

なまじい頃から過去を知つているためか、それとも腦細胞の硬化のためか、われわれ老書生の間にか新しい技術や理論を修得するのに抵抗を感じるようになってつた。偉い學者の業績を見ても、

年のものには若い時代にやつたことの反芻のようなものが多い。それにつけても若いうちにできるだけ澤山のよい仕事をやりとげておくことの必要が痛感される。

○

島崎藤村の言葉に「若いうちに少々キザな位の方がよい。そのような人でないと年とつてからよい老人にはなれないという意味のものがある。若いうちのキザさとは「自己過剰」の現われであろう。問題はその自己過剰がどのような方向にはけ口を見出すかにある。

○

都會のキザな青年の一種にレコード音楽の通人というのがある。本格的に音楽を修得したというのでなしに、レコードを通じて、やたらに音楽家や曲目の名を暗んじ、盛んに音楽批評をする人達である。ただしその批評は單なるうけうりもので、彼自身のものでない。その證據には全く新しい作曲や演奏に對してはひと言も意見が述べられないのである。

これに似たような「レコード學問」(文獻學問)の通人が科學の世界にいないければ幸いである。

○

ある新しい事實を僕が発見し、その後同じようなことをドイツ人やアメリカ人が觀察したという場合に、アメリカの文獻にはアメリカ學者の名が最初にあげられ、ドイツの文獻にはドイツ學者の名が最初にあげられて、肝心の発見者たる僕の名が最後になつたり、甚だしい時には全くオミットされていることが時々あつて憤慨する。それがそのまま、日本の文獻にも蹈襲されているのを見るときは憤慨するよりも情けなくなる。

○

大分以前の話になるが、二科の展覽會にポーランド人やチェコ人と思われる名の出品畫があつた。あまりよい作とは思えないのに、その前には大勢の人が集つて感心していた。ところが後になつてそれがある日本人が變名を使つて出品したものと判り問題になつたことがある。僕も一度 Tamiawitsch とでもいう名を使つて論文を書いて見ようかと思つている。

○

上の話をある外國學者にしたら「それは程度の差こそあれ、どこの國にでもあることだよ」といつて慰めてくれた。僕も Tamiya という日本名のために得をしていることがあるのかも知れない。

○

文獻偏重、外國崇拜の弊風もさることながら、何よりも改めなければならないことは我國學界のセクショナリズムであろう。戦後一時その反省が強まつたように思われた時期もあつたが、最近はまだ元に戻つたようである。學界に存在する大小さまざまないわゆるボスがその禍の根であることは明らかだが、若い人達にも責任がないわけではない。

○

何々學の泰斗といわれるような權威的な教授は元來ドイツに多かつたといわれるが、戦後のドイツにはそれが非常に少なくなつたのを見て驚いた。むしろ今ではフランスの方に多く、アメリカにもそろそろ出はじめているようである。

○

弟子が師匠の衣鉢をつぐという言葉があるが、衣鉢をつぐような弟子はろくな弟子でなく、そのような弟子しか作らない師匠はよい師匠ではないだろう。息子にとって親爺が競争目標であるように、弟子にとって師匠は競争目標でなければならない。僕の師匠柴田先生は弟子の仕事を仲々褒めない人であつた。今度こそは褒めさしてやろうと思つて——しかも先生とは違つた行き方で——次々と仕事をしたが、とうとう褒められたことは一度もなかつた。僕の力がおよばなかつたのである。

○

死んだ Cambridge の生化学教授 Hopkins は Oxford の出身者であつた。早稲田出身の人が、慶應や東大の教授になつている例があるであろうか。

○

この老書生がもう一度生れ變つて生化学を勉強するとしたら、Cambridge へ行きたいと思う。

○

ある外國の學者が日本の研究室を參觀して "日本人の住居は實に清潔で整頓しているのに感心するが、どうして研究室がこうも不潔で不整頓なのか" といふかつた。僕は少々憤慨して、"食いものの旨いフランスや支那の臺所がきたないので有名なのを知らないか" といつてやつたが、これはどうも辯解にはなつていなかつたようである。

○

アメリカの Woods Hole で 20 年ぶりで再會した Szent-Györgyi が僕にこういつた。"アメリカの研究室は綺麗だが、どうも頭が落ちつかない。科學者は精密器械を使うとき、できるだけ動揺しないように注意して取扱うが、あらゆる精密器械よりも遙かに精密微妙な腦髓を大事にすることには餘り努力しない。科學も藝術もすべてこの精密器械の最良のコンディションの時でなければ産まれないのだ"

○

死んだ老優尾上松助はよくこういつたそうである。"役者つてものは、いつも生きがよくなくつちやいけねエ"

○

われわれの研究の對象は無數にある。その中から何を選びだし、それについてどのような命題を彫り上げるかが問題である。そのときの身心の活動はまさに彫刻家のそれに似ている。アトリエは働きよいように常に清潔に整頓しておこう。そして身心をいつも生きよく保とう。命のつづく限りよい仕事が生み出せるように。

酵素研究の進め方 II

— 酵素と微生物の代謝 —

植村定治郎

*Nicht die Konstanz des natürlichen Enzymsystems ist das Gesetzmässige,
sondern seine Veränderlichkeit.*

R. Willstätter

現在の知識によると生物の代謝は主に酵素を通じて行われるとされているが、私どものように微生物の代謝を主な研究対象としているものには酵素はこれらの代謝を理解する點で當然に重要な關心事である。それで私も酵素に關係する研究を行つたのであるが、私どもの主要な題目はいわば酵素の作用する場としての生細胞の機能を檢索することであるから、今までの私の酵素に關係する經驗も酵素そのものには長く踏みとどまらず、むしろそれに觸れた程度の内容しかない極めて貧弱なものであることもやむをえないであろう。しかし近年は酵素の生物的意義ともいふべきものが特に酵素を檢索する場合に重視されているし、またたくみに利用されている事情を考えると、生細胞の機能を中心として檢索を進めた私のささやかな經驗や知識も何ほどかの参考になるのではないかと思う。

私の學校を卒業した 1932 年前後は他の科學の諸部門と同じように酵素の領域でも一時期を劃した時代である。〔何よりも重要なことは Warburg, Keilin, Meyerhof, v. Euler その他の人々のすぐれた業績を通じてこの頃に始めて醗酵とか呼吸のような生物にとつてはより本質的な機能であるエネルギー代謝の面にまで酵素檢索の道が開かれたことである。それまでの酵素の主要な研究領域は周知のように Willstätter 一門の人々で主導されていた加水分解酵素に關するものであつたからまさに新しい研究面が大きく開かれたといえよう。その他有名な Sumner あるいは Northrop らによつて相ついで結晶酵素標品が分離されたり、また Warburg あるいは v. Euler らにより補酵素因子が発見されたり、その化學構造が明らかにされたので酵素の本質的な化學的組成も知られるようになった。またこれに伴つて酵素の研究技術の面も大いに進み、特に Warburg らの考案適用した檢壓計や分光々度計は今日では最も重要な研究技術となつている。これらの成果からここで特に指摘されねばならないことは、從來の一般的な概念を打破つて生細胞をそのまま使用しても、すなわち動植物組織の「slice」あるいはバクテリアなどの *cell suspension* などを使つてもエネルギー代謝に關與する酵素系を檢索し得ることが始めて一般に承認されたことである。そしてこれらの酵素系の檢索には阻害劑が特異的な効果をあげることが知られるに至り、その後の代謝機作の檢索にも重要な役割をするようになった。〕

しかし 1930 年前後における酵素研究面のこのような飛躍的な發展もわが國では柴田、田宮一門を除くと殆んど大きい影響を與えなかつたようである。もちろん私自身も當時はこの方面になんらの知識もなく、研究室に入つてまもなく高橋偵造先生から麹菌によるアミノ酸の分解という研究題目を戴き、當時の常識にしたがつて今日でいえば *growing cell* によるアミノ酸の分解生産物をしらべ、その分解經路の檢索に着手した。その前に高橋先生の命により Übung として F. Ehrlich (1911) の *Oidium lactis* によるアミノ酸分解の業績を追試したが、Ehrlich はこの *Oidium* のほかに諸種

の糸状菌について研究しており、そのうちで *Aspergillus* 属または *Penicillium* 属の菌株ではアミノ酸から代謝生産物の分離に成功してはいなかつた。その後古武彌四郎一門を除いては糸状菌によるこの種の研究が殆んど行われていなかったもので、當時糸状菌のアミノ酸分解経路はこの Ehrlich の説にしたがい加水分解的に行われるとし、 α -オキシ酸がまず脱アミノ生産物として分離されるというのが定説となつていたし、また一般の成書にもそのように記載されていた。當時の *growing cell* による方法といつてももちろんまだ *cell suspension* というものと充分に對比検討された上で施行されたものではなく、後者の検索法はまだまだ一般化されていなかった。代謝経路の検索に當つても通常長期間にわたつて菌を培養し、培地に與えた基質の分解生産物をできる限り多種類に分離するというのが普通の方法であつて、得られた分解生産物のうちで中間物質と假定されたものを再び培地に加えて終末生産物に移行するかどうかをみるというように、殆んど *growing cell* に終始して検索が行われた。したがつてこうした検索方法ではなんらかの分解生産物が得られなければ、解析のための手引きも引きだし得ないわけであるが、私は *Oidium lactis* で F. Ehrlich にしたがつて 40 日以上 of 長期間これを培養した際彼と同様にアミノ酸に相當する α -オキシ酸を分離し得たのに反して麴菌ではこれまた彼と同じくなんらの分解生産物が得られず、その失敗は約 1 カ年半も續く始末であつた。そこで私はこの失敗の原因が使用する麴菌の種類であると考えて、それまで使つていた酸化力の強い花麴種の麴菌をやめて酸化力の弱い白麴種のもを使用したところ、漸くそれぞれのアミノ酸に相當する α -ケト酸の分離に成功することができた (1935~37)。結局その後の検討からそれまでの失敗の原因は菌株の差異にあるのではなく、單純に長期間培養すればよいというその時分の、特に糸状菌代謝の検索の場合の一般的な常識にそのまま支配されてなんら培養条件などを検討せずに實驗をくり返したことにあることがわかつた。しかしその當時は一般に培養条件の菌の代謝におよぼす影響などについては單に現象的にのみ觀察される程度で深くは省みられず、また培養条件と菌の酵素能との相關関係などはむしろ無視するのが支配的傾向であつたために、私自身この場合培養条件の影響を認めながら、殆んどこれを重視しなかつた。とはいへここに得た成果は H. Krebs (1933) が動物組織についてアミノ酸々化的脱アミノ酵素を発見して以來多くの人々によつて 1935~36 年に見出されたバクテリアの該作用に續くもので、特に加水分解的脱アミノ説の最初の提唱者である F. Ehrlich の根拠を反駁するものとして多少の注目を浴びることができた。今から思えば不思議のようであるが、1911 年に F. Ehrlich と Neubauer 等との間に始まつた生物におけるアミノ酸脱アミノ作用に関する酸化説と加水分解説との間の論争が Krebs の上述の酸化酵素の発見で殆んど決定的となるまでには約 20 年以上の歳月を必要としたことになり、ひろく生体内の酸化還元系に関する酵素について主に Warburg 等の業績によつて相當の知識とまた研究技術がつくり出されるまでまたねばならなかつたのである。こうしてふり返つてみると Warburg 等の業績がいかに偉大であるかをしみじみ味わうことができる。Krebs は肝臓または腎臓に L-アミノ酸以外に D-アミノ酸をも酸化的に脱アミノする強力な酵素を見出したが、後者の酵素は容易に生体外に抽出され得るのに反して前者の L-アミノ酸酵素に反しては無細胞標品をつくり得なかつた。D-アミノ酸酵素に関してはその後 Das (1935) の未知の補酵素因子の発見につづいて、1938 年に Warburg と Christian あるいは Straub がこのものが Flavinadeninedinucleotide (FAD) であることを見出し、Euler 等の diaphorase の発見

と相まつて單にアミノ酸酵素のみならず、いわゆるフラビン酵素系が確立されるに至るのである。

しかし他方に Krebs の発見以來 L-アミノ酸酵素の無細胞標品を得ることが一般の課題ともなつた。私も折角、酸化説の根據となるべき α -ケト酸を分離し得たのであるから、これを酵素反應として確認しようと考え、まず無細胞標品の前段階ともいふべき絲狀菌の菌蓋懸濁液で試験したが、短時間では α -ケト酸が集積されず充分に經時的な追跡ができなかつた。Warburg 檢壓計や Thunberg 管を使用しても確實な成績が得られず、要するに表面培養法による麴菌の菌體は非常に不安定で、種々の組成の培地を使用したり、生育時期をかえたりなどいろいろと試みたが、いずれも失敗に歸した。しかもこの種の菌體はしばしば糖に對しては檢壓計でよく酸素を吸収するので L-アミノ酸を基質とした場合の失敗の連續はいたずらに焦慮の念をつのらせたが、しかし前の場合とちがつて今度の失敗では酵素檢索の技術の面でいろいろと勉強することができた。

こうした失敗をつづけていた 1937 年頃に坂口謹一郎先生の命でともに酵素に關する一書を執筆することになつた。私自身としてはまことに申譯のないことながら自分の研究の行詰まりを打破したいとも考えたので、以後の約 3 年間夜はこの勉強にあてて成書や文献の涉獵に興味をもつて没頭した。しかしそのおかげで、一方では Warburg の偉大さをますます痛感したが、他方では酵素に對するその取扱ひ方に重要な缺陷のあることがわかつた。何よりも私は Oparin 一派によつてなされた。生細胞の酵素能が種々な環境因子によつて量的にも質的にも變化するという研究成果を知つたときは今ではおかしいと思われるほどに驚いたのである。また 1930 年頃から行われた Bamann, Rhodewald および Willstätter 等の細胞内における酵素の存在の仕方を主要對象とした研究も私には大いに教えられるものがあつた。Warburg 一派を頂點としてその當時確立されていた酵素檢索のいわば分析的な方法、すなわち生細胞→無細胞標品→精製酵素蛋白と補酵素因子の分離→酵素連合系の再合成という方法は酵素に關する最も基本的な解析方法であるが、しかしこの場合には生細胞における酵素の存在または生成の仕方についてはなんらの考慮も拂われてはいないし、細胞を同時に單なる酵素集積體とみなしている缺陷が認められるわけである。これらの酵素は疑いもなく細胞というまとまつた形の中に組織されているし、またその組織づけられた機能を通じて例えば栄養の攝取、消化、分泌、生長、適應、遺傳などの生物の一般的法則が構成される。したがつて當然に生細胞内の酵素は環境條件の影響をうけて變化すべきであるにもかかわらず、上述の分析的な方法にあつては殆んどこれを無視し、檢索の出發點となるべき試料も單にあれやこれやの動植物組織や酵母あるいはバクテリアなどを適宜に使用しているにすぎない。換言すればこの分析的な傾向にあつては酵素への追求が急なるあまり、酵素が生物に由來しているという事實が完全に忘失され、むしろ無視されているのである。そこでこのような傾向に對しては當時 Thunberg あるいは Dixon を先頭とする Cambridge 學派の人々の批判があつたが、業績を通じての批判としてかつまた私の當面する分野に關係するものとして私に大いに参考になつたのは Marjory Stephenson や E. F. Gale のアミノ酸に對する脱アミノ酵素または脱炭酸酵素（いずれも *E. coli*）に關する研究であつた。兩者ともにこれらの酵素の生成におよぼす培地中の糖の影響を取扱つたものであるが、ちょうどその頃（1938）、*Ergebnisse der Enzymforschung* 上にあらわれた Karström の適應酵素に關する提唱とともにいずれも私には酵素檢索法にその生物的意義をとりいれた具體的な業績と考えられたのである。私自身はさきに述べた

ように培養条件が菌のアミノ酸分解に影響することを観察していたので Stephenson らの業績を再検討しようと考えたが、當時は糸状菌脱アミノ酵素の検索には全く行詰まっていた上に私以外に糸状菌に関してこの方面の文献は全く見當らないし、また培養条件の検索には當時の糸状菌の培養技術では極めて不充分であることをも認めたので、こうした理由からバクテリアについて検索を行うことにした。折柄 F. Bernheim らが 1935 年に、*Proteus vulgaris* のアミノ酸酸化酵素能の強いことを見出したのに着目してこれを採用することにしたが、この *Proteus* 菌については古く 1920 年頃に Raistrick あるいは平井等がアミノ酸に作用させてそれに相當する不飽和酸を分離しているので、研究にはまずこの點から検索することにした。これは當時瀬良等がヒスチダーゼの研究成果を擴大してアミノ酸の脱アミノ酵素に関して不飽和酸生成説を提唱した事情もあつたからである。研究は大體 1939 年の始めから着手して 1942 年の終り頃まで約 4 年間つづいたが、その間 1940 年に武田薬工研究所にうつり中澤亮治先生のもとで醗酵研究室をつくるのに参劃したので約半年ほど停滯した。しかし幸にもその後も中斷されずに研究を續行することができた。この點當時の副社長であつた武田二郎博士に深甚の謝意を表したい。使用した *Proteus* 菌は Král Museum (第一次大戦前ウィーンにあつた菌種保管所) から分與されて當時の坂口研究室に少なくとも 20 年以上にわたつて保存を續けられたものであるが、試験してみると Bernheim 等と全く一致して L-アミノ酸に對して強い酸化的脱アミノ作用を示した。したがつて通常のグイヨン培地に植えつがれたこの菌のアミノ酸酸化作用は遺傳的に全く安定且つ強力であるとみうけられる。この *Proteus* 菌は平井の使用した基質である L-チロシンに對して *growing cell* でも *cell suspension* でもそれに相當する不飽和酸をつくらず、常に α -ケト酸をつくり、その酸素吸収量、 NH_3 、並びに α -ケト酸の生成量は化學量論的な關係がみられたから、Bernheim 等と同様に酸化的に脱アミノすると認められた。しかし 2% 加糖グイヨン培地よりの菌體は Marjory Stephenson 等の *E. coli* の成績と一致して殆んど酸化能を示さなかつた。糖のこの種の阻害的效果については、Stephenson 等は酵素の生成に及ぼす直接的な影響に歸して糖より導かれる培地の酸性化には歸因しないとしたが、*Proteus* 菌では加糖培地に培養した際の最終 pH と同じ値である pH 5.2 に 37° で 2 時間放置するとその作用能の大半が失われたし、また加糖培地でも CaCO_3 を加えて随時に中和し得るようにして置くとその作用能も相當程度に保たれることを認めた。他方に加糖培地に培養した菌體でも L-ヒスチジンに對してはかえつて無糖培地のものよりもよく酸素を吸収することを見出したが、結局、L-ヒスチジンに對する酸化的脱アミノ作用は通常のアミノ酸酸化酵素の最適 pH である 8.0 前後では pH 5.2 よりも、かえつて不安定で (*cell suspension* による pH 影響試験の成績から)、その最適 pH が 6.0~7.0 の間の微酸性側にあることを認めたのである。また糖に對する分解力が弱くしたがつて糖の影響をうけないにもかかわらず、逆にアミノ酸のみを強く酸化するような性質のある菌を保存菌株のうちからさがしたところ、幸にして *Bac. denitrificans* として保存されている菌株がこの条件に沿うことをみた。そこでこの菌について L-ロイシンあるいは L-ヒスチジンに對する脱アミノ作用におよぼす外圍の pH の影響をみた結果、*Proteus* 菌と全く同様の成績を示した。以上にあげた事實からバクテリアの酸化的脱アミノ酵素生成におよぼす糖の阻害的效果は Stephenson 等とは逆にむしろ糖から導かれる培地の酸性化にその主な原因が求められるし、また少なくともバクテリアにおいては L-ヒスチジン酸化

的脱アミノ酵素は他のアミノ酸酵素と異なり特異性のあることをも推定した。ただし、後者のヒスチジン酵素の特異性については私の場合生菌に終始してこれを認めたのであるから、なお、決定的でないが、ペプシンやトリプシンの特異性から類推しても、酸性または中性のアミノ酸と塩基性のアミノ酸とではそれぞれの脱アミノ酵素蛋白が異なることも推定し得るようである。しかしその後 D. E. Green 等 (1944) が *Proteus* 菌を超音波で処理して始めて L-アミノ酸酸化的脱アミノ酵素の無細胞標品を得た場合もあるいは宇佐美等が該菌からアルミナ磨砕で同酵素標品を得た場合にもヒスチジンに対する特異性はなんら認められていない。他面に、最近土壤細菌について L-ヒスチジンに対して特異的な適應を示す酸化的脱アミノ酵素の存在が認められたが、ヒスチジンに対してはヒスチダーゼ系統以外に検討すべき酸化的脱アミノ酵素が存在するようである。ちなみに、上に述べたようにかねて宿題となっていた L-アミノ酸酵素の無細胞標品の調製も Krebs の発見以来約 10 年を経て D. E. Green 等によつて解決されるに至つたのであるが、糸状菌についてもその後ペニシリンの製造研究で確立された通氣攪拌または振盪による好氣的な培養方法によつて L-アミノ酸をよく酸化する生菌懸濁液が得られるようになり、例えば私は 1947 年にペニシリン生産菌株である *Penicillium chrysogenum* をタンク培養すると強いアミノ酸酸化能を認めたが、同じ頃 Knight 等 (1948) は同菌株の振盪培養菌體から微弱ながらアミノ酸酸化作用を示すアセトン乾燥標品および無細胞標品を得、その後 FAD 酵素であることを認めている。また Krebs 一派の人々は *Neurospora* のある菌株の培養液中に該酵素が分泌されることを見出しているし、したがつて最近の 10 年間に動物組織やバクテリアに次いで糸状菌についても L-アミノ酸酸化的脱アミノ酵素の知識が不充分ながら集積されるようになった。

その後私は戦争が深まるとともに主に舊糧秣廠の仕事を手傳つたり、また 1944 年からはペニシリンの製造研究に着手したが、戦後は周知のように従來のアミロ法の場合とは比較にならないほど激しく通氣攪拌するいわゆるタンク培養の技術が輸入され、ペニシリンの生成機作に興味を感じていた私はこのタンク培養の菌體の糞または市販ペプトンとかアミノ酸に対する酸化能についてしらべた。その結果これらの C 源または N 源に対する菌の酸化能は菌の生育の時期以外に種々な培養條件によつて量的に著しい變化を示すことを知るとともに、他方では菌の酵素能のみならず、その總括的な代謝能も培養条件すなわち菌の置かれた環境にいかに関強く影響されるかを痛感した。このことからまた當然であるが、そして実験室外の工場のタンク培養菌體に觸れた私としてはより當然に、その環境条件については實際の、いわば自然の場の環境にまで考えおよぼさねばならないと考慮するようになった。バクテリアの酵素能におよぼす培養条件の影響については E. F. Gale (1943) が自己の業績を中心としてこれをまとめているが、このように培養条件すなわち実験室で與えられる環境条件と菌の酵素能との相關關係について多くの知識が集積されてくると、今までその複雑性のゆえにいわば見棄てられていた、したがつて一般になんらの關心を呼び起こさなかつた実験室外の、自然的な環境についてもわれわれはこれを重要な検索の對象ともまた手がかりともなし得ることになる。今までの微生物學ではもっぱら純培養の世界のみが取扱われていたが、實際の場ではむしろ菌群の代謝能の純粹性或はこうした菌群の代謝能を發揮させる環境条件が問題である。というのは特定の製造工業分野を除くと他の一般的な自然的環境にあつてはいわゆる純粹培養（ここでは single culture の意味）という