

JAERI-M

6 1 8 3

低温放射線重合による α -amylase 固定の研究・I

(α -amylase に対する放射線の照射効果)

1975年7月

吉田 勝・熊倉 稔・嘉悦 勲

日本原子力研究所
Japan Atomic Energy Research Institute

この報告書は、日本原子力研究所が JAERI-M レポートとして、不定期に刊行している研究報告書です。入手、複製などのお問い合わせは、日本原子力研究所技術情報部（茨城県那珂郡東海村）あて、お申しこしてください。

JAERI-M reports, issued irregularly, describe the results of research works carried out in JAERI. Inquiries about the availability of reports and their reproduction should be addressed to Division of Technical Information, Japan Atomic Energy Research Institute, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken, Japan.

低温放射線重合による α -amylase 固定の研究・I

(α -amylase に対する放射線の照射効果)

日本原子力研究所高崎研究所開発試験場

吉田 勝, 熊倉 稔, 嘉悦 勲

(1975年6月24日受理)

低温放射線重合による酵素固定(不溶化)の研究のために, 酵素自体が放射線によってどの程度活性変化などを受けるかを検討した。

特に, *Bacillus subtilis* から得た α -amylase の場合, 放射線に対する酵素的性質を検討したところ次のような事実が明らかになった。この酵素は $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^8$ R の線量範囲で放射線に対し非常に安定であり活性低下は殆んどないこと, また酵素中に含まれる不純物が少ない場合, あるいは適当な添加物を加えた場合などはむしろ照射しない場合に比べ相対的活性は増加する傾向を示した。例えば, 珪藻土, CaCl_2 のような物質が酵素中に存在すると活性低下を引き起すが, CaSO_4 を主成分とするドライライトを添加すると添加量の増加に伴い活性が増加する。また, 照射温度が低いほど酵素は安定であり相対活性も高い値を示す。さらに雰囲気によって活性は変化しない。

これらの結果に基づいて, α -amylase は低温領域において放射線作用に対して安定であることから, 酵素の固定は低温放射線重合が非常に有利であることが推定できる。

Study on the Immobilization of α -amylase by Radiation-Induced Polymerization at Low-Temperature (I)
Radiation Effect on α -amylase

Masaru YOSHIDA, Minoru KUMAKURA and Isao KAETSU

Pilot Scale Research Station, Takasaki, JAERI

(Received 24 June, 1975)

The immobilization of enzymes by radiation-induced polymerization at low temperatures has been studied. It is important to know how the enzymes are affected by irradiation. The radiation effect of enzyme itself before immobilization must thus be investigated.

In radiation effect on α -amylase from *Bacillus subtilis*, interesting results were obtained, as follows. The enzyme is very stable for irradiation in the total dose range of 1×10^4 to 1×10^7 R, and the activity is hardly affected. And further, the relative activity increases by irradiation, when the α -amylase is of high purity or contains some appropriate additive. A certain substance such as diatomaceous earth or CaCl_2 thus decreases the activity, while the addition of DRIERITE composed mainly of CaSO_4 increases the activity.

α -Amylase is then more stable and higher in activity in the irradiation at lower temperatures. The activity is independent of presence or absence of the ambient air.

In conclusion, α -amylase is very stable for irradiation at low temperatures; therefore, its immobilization by polymerization at low temperature is recommended.

目 次

1. 諸 言	1
2. 実験材料および実試方法	1
2.1 実験材料	1
2.2 放射線照射方法	2
2.3 標準酵素反応	2
3. 結果および考察	5
3.1 照射線量の影響	5
3.2 照射温度の影響	5
3.3 照射雰囲気の影響	7
3.4 添加物の影響	8
3.5 照射による pH の影響	8
3.6 照射および未照射酵素の経時的安定性	8
4. まとめ	12

1. 諸 言

最近、酵素を工業的に利用する種々の過程において、酵素を水に不溶化した固定酵素を用い、コスト低減と反応の連続化をはかることが種々検討されている。¹⁻⁶⁾

著者らは、酵素が低温において安定であることに着眼し、2-ヒドロキシエチルメタクリレートのような水溶性単量体を酵素水溶液と混合し、放射線を照射することにより、単量体を重合させ酵素を固定する研究を進めている。この場合、酵素自体が放射線の直接的あるいは間接的作用によって、分子の切断、活性の低下など酵素としての性質の変化を起こすことが考えられる。そこで、まず酵素に対する放射線照射の影響について検討した。

本研究で使用した酵素は澱粉分解酵素の一種である α -amylaseであり、この酵素は澱粉中の α -1,4-グリコシド結合をat randomに加水分解し急速にマルトース、グルコースなどのオリゴ糖を生成する反応をつかさどるものである。

2. 実験材料および実験方法

2.1 実験材料

実験に使用した α -amylaseの酵素源、酵素活性および製造元などを表1に示した。これらの酵素は精製することなく市販品をそのまま実験に供した。

表1 実験に使用した α -amylase 酵素

No	酵 素 源	酵 素 の 性 質	酵 素 活 性	製 造 元
1	Bacillus subtilis	精製細菌(凍結乾燥粉末)	10×10^4 DUN/g	長瀬産業
2	Bacillus subtilis	結晶細菌(精製細菌を3回再結)	150×10^4 DUN/g	長瀬産業
3	Bacillus subtilis	澱粉賦形品(A-D3)	30u/mg	天野製薬
4	Bacillus subtilis	Type III-A, (含珪藻土)	500-1000 u/mg	半井化学
5	Bacillus subtilis	from fungi diluted with diatomaceous earth	—	東京化成

注) units/mg(u/mg)およびDUN/g(Dextrinogenic unit of Nagase)は酵素1mgあるは1gに対して、1%澱粉液10ml(100mg)のBlue valueを40°Cにて1分間に1%低下させる酵素力を1単位(unitまたはDUN)として算出した値。

1. 諸 言

最近、酵素を工業的に利用する種々の過程において、酵素を水に不溶化した固定酵素を用い、コスト低減と反応の連続化をはかることが種々検討されている。¹⁻⁶⁾

著者らは、酵素が低温において安定であることに着眼し、2-ヒドロキシエチルメタクリレートのような水溶性単量体を酵素水溶液と混合し、放射線を照射することにより、単量体を重合させ酵素を固定する研究を進めている。この場合、酵素自体が放射線の直接的あるいは間接的作用によって、分子の切断、活性の低下など酵素としての性質の変化を起こすことが考えられる。そこで、まず酵素に対する放射線照射の影響について検討した。

本研究で使用した酵素は澱粉分解酵素の一種である α -amylaseであり、この酵素は澱粉中の α -1,4-グリコシド結合をat randomに加水分解し急速にマルトース、グルコースなどのオリゴ糖を生成する反応をつかさどるものである。

2. 実験材料および実験方法

2.1 実験材料

実験に使用した α -amylaseの酵素源、酵素活性および製造元などを表1に示した。これらの酵素は精製することなく市販品をそのまま実験に供した。

表1 実験に使用した α -amylase 酵素

No	酵 素 源	酵 素 の 性 質	酵 素 活 性	製 造 元
1	Bacillus subtilis	精製細菌(凍結乾燥粉末)	10×10^4 DUN/g	長瀬産業
2	Bacillus subtilis	結晶細菌(精製細菌を3回再結)	150×10^4 DUN/g	長瀬産業
3	Bacillus subtilis	澱粉賦形品(A-D3)	30u/mg	天野製薬
4	Bacillus subtilis	Type III-A, (含珪藻土)	500-1000 u/mg	半井化学
5	Bacillus subtilis	from fungi diluted with diatomaceous earth	—	東京化成

注) units/mg(u/mg)およびDUN/g(Dextrinogenic unit of Nagase)は酵素1mgあるは1gに対して、1%澱粉液10mℓ(100mg)のBlue valueを40°Cにて1分間に1%低下させる酵素力を1単位(unitまたはDUN)として算出した値。

基質として用いた可溶性澱粉は純正化学(株)市販品である。基質溶液調製は2gの可溶性澱粉を水20mℓ中に添加し、煮沸下、10分間で溶解せしめ、冷却後リン酸緩衝液(pH6.9)を用いて全量を100mℓとした。この基質溶液は2%可溶性澱粉溶液に相当する。

緩衝液⁷⁾はpH2.0~5.0についてMcIlvaine緩衝液、pH6.0~8.0についてSørensen緩衝液、pH9.0~11.0についてMenzel緩衝液を使用した。

その他の実験に使用した薬品、珪藻土(関東化学)、塩化カルシウム(キシダ化学)、ドライライト(硫酸カルシウムが主成分、W. A. HAMOND DRIERITE Co.)、尿素(東京化成)および無水酢酸カルシウム(和光純薬工業)などは市販品をそのまま用いた。

2.2 放射線照射法

照射は日本原子力研究所、高崎研究所の40,000 Ciの⁶⁰Coからのγ線を使用した。酵素に対する照射は次のようにしておこなった。まず、外径10mmφのガラスアンプル内に所定量の酵素を含むリン酸緩衝液(pH6.9)を添加し、照射雰囲気は空気存在下の場合はゴム栓で、真空下の場合は真空ラインを用いて脱気(10⁻³mmHg)を数回おこない封管した。その後、次の温度で照射をおこなった。照射温度は-196℃(液体窒素)、-78℃(ドライアイス-アセトン)、-24℃(四塩化炭素寒剤)、0℃(水)、室温、40℃(恒温水槽)で各々調製した。照射酵素の活性測定は断りのない限り、照射後3時間以内に行った。

一方、pH測定は東亜電波工業、HM-5A型を使用した。

2.3 標準酵素反応

標準酵素反応は図1に示したようにジニトロサルチル酸法⁸⁾により生成したマルトース量を測定しアミラーゼ活性を求めた。基質は可溶性澱粉溶液を用いた。澱粉はα-amylaseによって加水分解されマルトース、限界デキストリンおよびグルコースを生成するが、著者らは生成したマルトース量を測定し、それをアミラーゼ活性とした。図2はマルトース量の検量線を示したものであるが、マルトース濃度が2.0mg/mℓ以上になるとジニトロサルチル酸法では測定不可能になり、また直線性もなくなる。それゆえに、α-amylaseによって澱粉を加水分解した後、生成マルトース量が2.0mg/mℓ以下におさまるよう反応後の原液を希釈調製した。

図3aと図4に、酵素濃度とマルトース生成量および酵素反応時間とマルトース生成量の関係を示したが、この結果より、酵素量200μgまで、また反応時間は60分までマルトース生成量とは直線関係にあることがわかる。一方、図3aにおいて、酵素濃度の増加に伴いマルトース生成量も増加するが、基質濃度とマルトース生成曲線をプロットした場合も基質濃度が5%までなら直線関係のあることが認められた(図3b)。

これらの結果に基づいて、標準酵素反応条件を図1に示したように、基質濃度として2%可溶性澱粉溶液を用い、酵素反応は40℃の恒温槽中で1時間おこなうことに決めた。

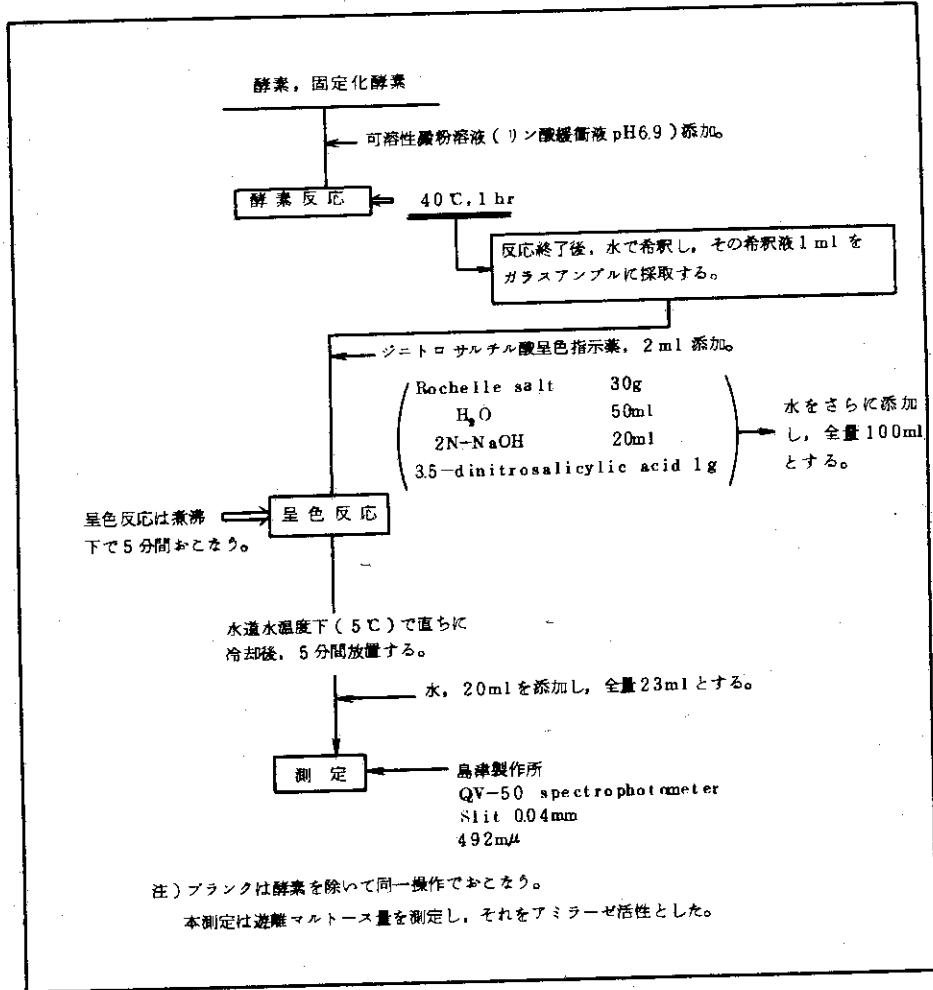


図1 α -amylase の活性測定手順, 標準酵素反応

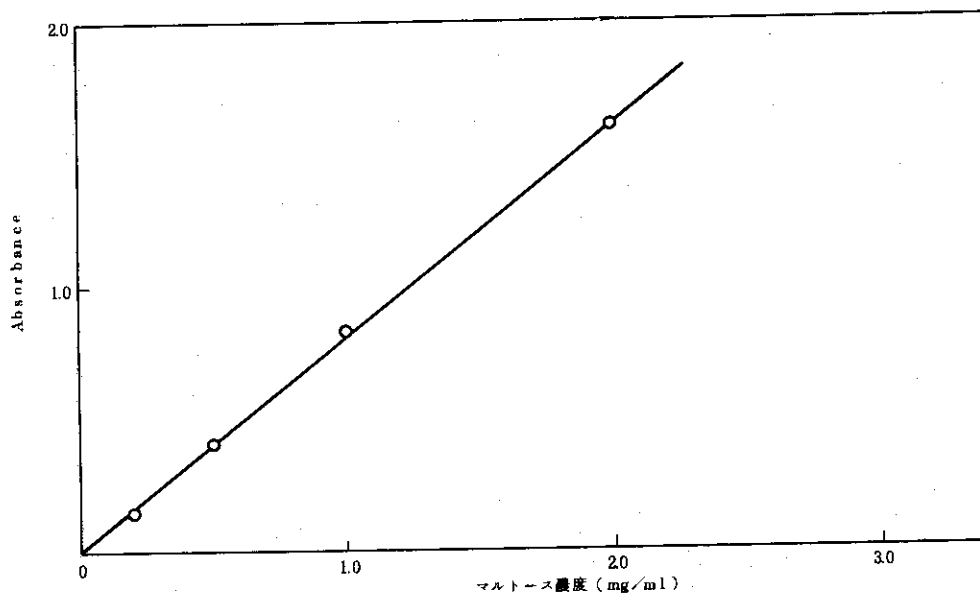


図2 マルトース検量線

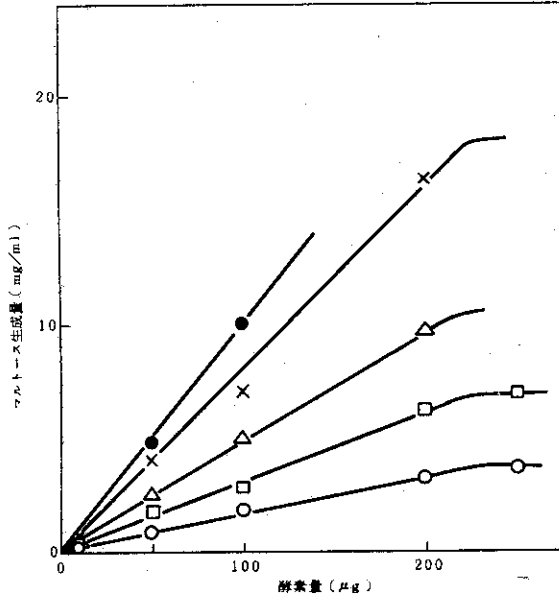


図3 a 酵素量および基質濃度とマルトース生成量との関係

基質：(○)：1%，(□)：2%，(△)：3%，(×)：5%
そして(●)；10%の各基質濃度

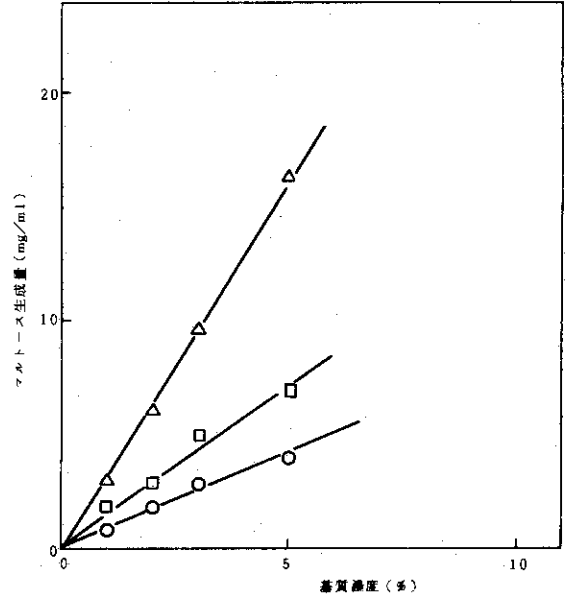


図3 b 基質濃度とマルトース生成量との関係

反応条件は図3 aを参照。

酵素量 (○)：50 μg, (□)：100 μg, (△)：200 μg

酵素反応条件

長瀬産業精製α-アミラーゼ

40℃, 1hr

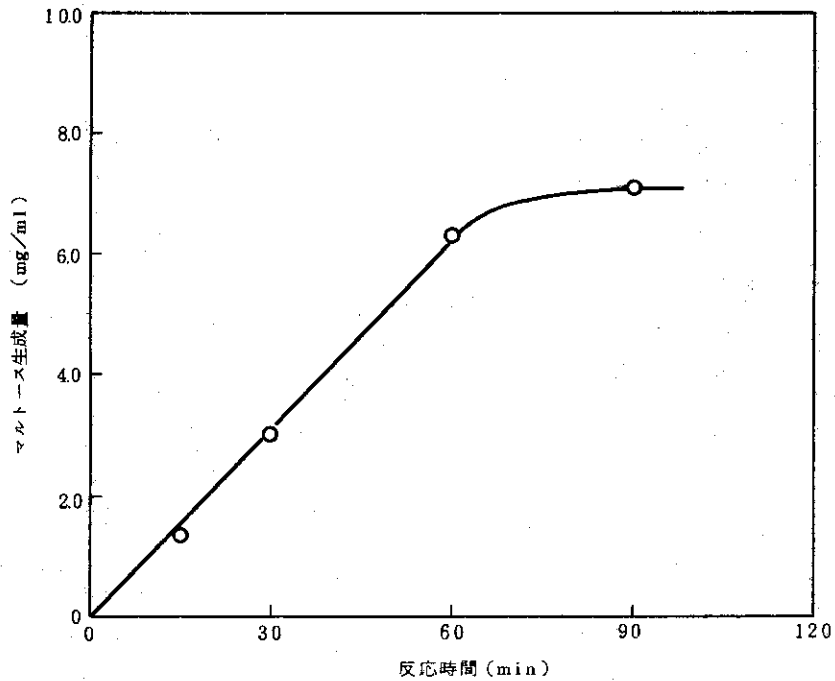


図4 酵素反応時間とマルトース生成量との関係

基質：2%可溶性澱粉溶液, 6mℓ

酵素反応：40℃

酵素：長瀬産業精製細菌, 200 μg

3 結果および考察

3.1 照射時間の影響

α -amylase を低温放射線重合法により固定する場合、酵素自体の性質が放射線により変化することが考えられる。酵素活性に対する影響を調べた結果を図5に示した。照射温度および照射雰囲気は各々 78°C 、空気中で行った。

酵素中に含まれる不純物の比較的少ない α -amylase（長瀬産業市販、精製および結晶細菌共に）は照射により相対活性が100以上に増加する傾向を示した。（相対活性は未照射酵素の活性を100として表わした。）その相対活性は $4 \times 10^4 \text{ R} \sim 1 \times 10^6 \text{ R}$ の範囲内では140~160に達し一定であるが、 $1 \times 10^6 \text{ R}$ 以上の線量域では $5 \times 10^6 \text{ R}$ で最大値(170~180)を示すことがわかった。これらは極めて特異な現象であり、 α -amylase には照射が活性を促進するという意外な効果が認められたことになる。このような酵素活性の増加現象は酵素中に珪藻土などが含有されている α -amylase（東京化成あるいは半井化学市販品）には認められていない。この場合、相対活性は90~100で、照射線量に関係なく一定である。一方、澱粉含有 α -amylase（天野製薬市販品）の場合、相対活性は照射線量の増加に伴い向上し、 $1 \times 10^7 \text{ R}$ でさえも、まだ増加傾向を示している。しかしながら、相対活性は不純物量の少ない α -amylase（長瀬産業市販品）に比べれば顕著に低い値である。

照射によって引き起こされる酵素活性増加は現在までのところ、その原因は不明であるが、この場合、酵素中に不純物（例えば、珪藻土、澱粉など）が混在していると活性増加現象は抑制される傾向が認められた。

次に、リン酸緩衝液を添加した場合と、しない場合における照射効果の比較を図6に示した。相対活性は、照射時にリン酸緩衝液が存在しない場合に比べそれが存在した場合、20~40高い値を示す。この傾向は酵素中の不純物含有量の少ない α -amylase（長瀬産業市販品）および多量の珪藻土が含有されている α -amylase（半井化学市販品）のどちらにも観察することができる。この結果、酵素は照射時、緩衝液によってpHを調整した方が安定であることが明かとなった。すなわち、酵素はリン酸緩衝液によって安定に保護されており、この保護作用は放射線などに対して非常に安定な状態を形成しているため、簡単にその作用をうけないものと思われる。この状態がどのようなものであるかは現在のところ不明である。

3.2 照射温度の影響

酵素は低温に保存すれば長時間安定に存在するが、 $1 \times 10^6 \text{ R}$ 照射した時、照射温度によってどのような影響をうけるかについて検討し、その結果を表2に示した。精製 α -amylase（長瀬産業市販品）と珪藻土含有 α -amylase（半井化学市販品）について調べたところ、照射温度が高いほど酵素は失活しやすいことがわかった。すなわち、 α -amylaseは照射温度が低いほど安定であることがわかる。このことは、酵素を固定する場合、低温放射線重合を行う方法が非常に有利であることを示唆している。2-ヒドロキシエチルメタクリレー

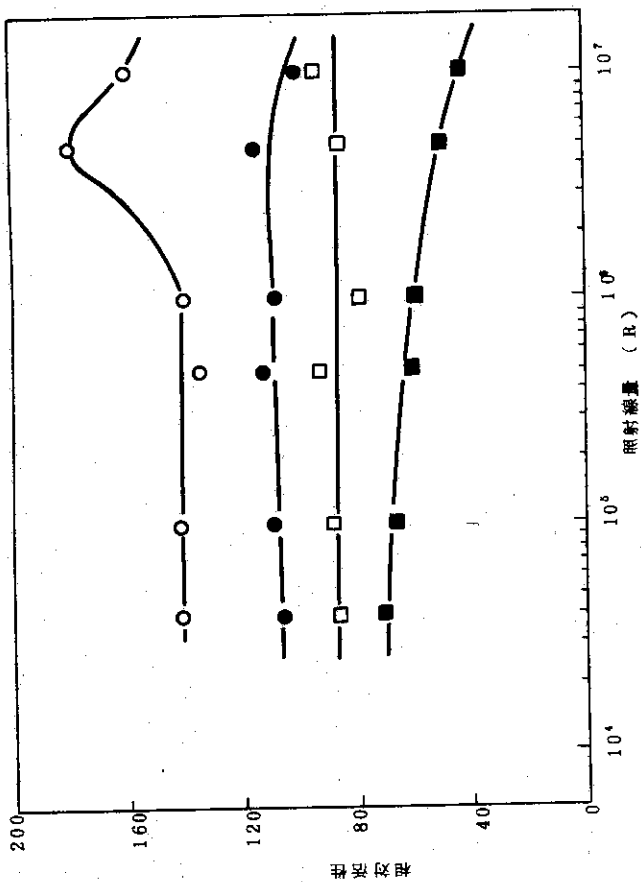


図5 酵素に対する照射線量の影響
 照射条件：照射温度，-78℃
 酵素反応条件：2%可溶性澱粉溶液（100℃, 10分溶解）
 6mℓ, 照射酵素：200μg/mℓ (pH6.9, buffer)
 (○)：長瀬産業精製細菌
 (△)：長瀬産業細菌
 (□)：天野製薬, A-D3
 (×)：半井化学, Type III-A
 (●)：東京化成
 40℃, 1hr

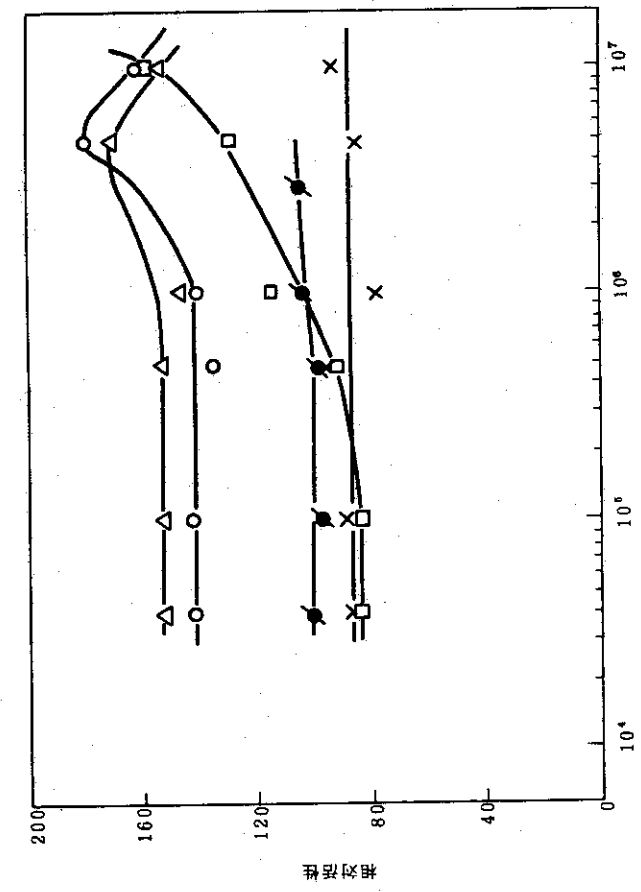


図6 酵素照射時における緩衝液の影響
 照射条件：照射温度 -78℃
 照射酵素：長瀬産業精製細菌
 (○)：200μg/buffer soln., 1mℓ
 (●)：200μg
 半井化学
 (□)：200μg/buffer soln., 1mℓ
 (■)：200μg
 酵素反応条件：2%可溶性澱粉溶液, 6mℓ
 40℃, 1hr

トは、低温領域では -50°C 付近に最大重合速度を有する。⁹⁾

表2 照射温度の影響

酵素: $200\mu\text{g}/\text{buffer soln.}, 1\text{m}\ell$

照射条件: $1 \times 10^6 \text{ R/hr} \times 1\text{hr}$ at various temp.

酵素反応: 2%可溶性澱粉溶液, $6\text{m}\ell$ 40°C , 1hr

No	照射温度	相 对 活 性	
		長瀬産業精製細菌	半井化学
1	-196°C	160	95
2	-78°C	140	80
3	-24°C	121	70
4	0°C	105	61
5	rt	90	54
6	40°C	78	40

3.3 照射雰囲気の影響

照射雰囲気の影響を表3に示したが、この結果より雰囲気の影響は、いずれの照射線量においても観察することができなかった。しかしながら、例えば照射線量($1 \times 10^6 \text{ R}$)を一定にしておき、照射温度を $-196^{\circ}\text{C} \sim 40^{\circ}\text{C}$ まで変化させ、上記同様雰囲気の影響について検討したところ、 40°C のところでは雰囲気の影響が認められた。すなわち、空気中で照射した方が、真空中の場合に比べ、相対活性は20~30低下した。室温以下の温度では顕著な有意差は観察できなかった。

このようなことから、 α -amylase は 0°C 以下の温度において照射するかぎりは、雰囲気の影響はあらわれないことがわかった。

表3 照射雰囲気の影響

酵素: 長瀬産業精製細菌, $200\mu\text{g}/\text{buffer soln.}, 1\text{m}\ell$

酵素反応: 2%可溶性澱粉溶液, $6\text{m}\ell$

40°C , 1hr

No	照射線量 -78°C	相 对 活 性	
		空 気 中	真 空 中
1	$4 \times 10^4 \text{ R}$	142	148
2	$1 \times 10^5 \text{ R}$	142	152
3	$5 \times 10^5 \text{ R}$	135	140
4	$1 \times 10^6 \text{ R}$	140	130
5	$5 \times 10^6 \text{ R}$	180	160
6	$1 \times 10^7 \text{ R}$	162	160

3.4 添加物の影響

種々の添加物が酵素の安定性に影響を与えることが一般に知られているが、¹⁰⁾放射線照射下ではこれが酵素に対してどのように影響するか明らかにされていない。そこで比較的純物含有の少ない α -amylase（長瀬産業市販品）を用いて、放射線を照射した場合の酵素活性に対する種々の添加物の影響を検討した。その結果を図7に示した。

硫酸カルシウムを主成分とするドライライトは添加量の増加に伴い若干活性が増加する傾向がある。無水酢酸カルシウムは添加量が増加しても放射線の影響を殆んど受けないが尿素の場合、若干相対活性は低下する。しかしながら、珪藻土と塩化カルシウムの添加は顕著な活性低下を引き起すことが判明した。放射線照射下における珪藻土による酵素の不安定性は3.1)項でも明らかであるが、このような著しい活性低下作用の原因は不明である。一方、塩化カルシウムは照射によって生ずる Cl^- あるいは塩酸が酵素の活性基を失活させる要因になっているかもしれない。この場合、pHは2.6と照射によって極端に酸性側にシフトしていた。

ドライライト添加物は、上記のように酵素活性を促進させるばかりでなく、1) 吸着剤として優れている、2) Ca^{++} を有するので α -amylaseの耐熱性を向上させることが可能である、3) それ自身耐放射線性を有する物質として働く、などの利点を有することから酵素固定化において、酵素をドライライトに吸着（酵素を含むリン酸緩衝液を吸着）後、それを2-ヒドロキシエチルメタクリレートで固定化すれば固定化効果、耐熱性などの優れた組成物を得ることができる可能性が考えられる。この研究結果は別に報告する予定である。¹¹⁾

3.5 照射によるpHの影響

空気雰囲気下で照射した時のpH変化をしらべた結果を図8に示した。この場合、酵素反応は各種緩衝液のpHを最終的に、標準酵素反応のpH 6.9に調製しておこなった。図8で明らかのように、照射によって、各種pH溶液は酸性側に約0.5程度シフトする。これは空気中の酸素が原因していると考えられる。真空下では照射によるpHシフトは観察されなかった。結果的には、pH 6.9で実験をおこなっている限りは照射によるpHシフトがあっても相対活性の変化は認められない。

一方、緩衝液を使用せず、酵素を水（蒸留水）に溶解後、照射した場合、pHは6.0から4.5になり著しく酸性側にシフトした。この時の相対活性は照射前（pH 6.0の時）95と照射後（pH 4.5の時）63であった。このことからして、明らかにリン酸緩衝液の存在は、照射によるpH変化を抑制していることが認められる。

3.6 照射および未照射酵素の経時的安定性

固定酵素を使用して長時間酵素反応をおこなう場合、酵素自体の安定性が問題になる。図9は未照射 α -amylaseを40℃に保持した時の酵素活性の経時変化をみたものである。

珪藻土含有酵素（半井化学、東京化成市販品）は活性失活が顕著で、100時間で50%にまで減少する。一方、純物含有の少ない α -amylase（長瀬産業市販品）は精製、結晶共に相対活性が50%にまで失活するのに450時間かかっている。しかしながら、澱粉含有 α -amylase（天野製薬市販品）は活性失活が非常に少なく700時間後であっても最初の

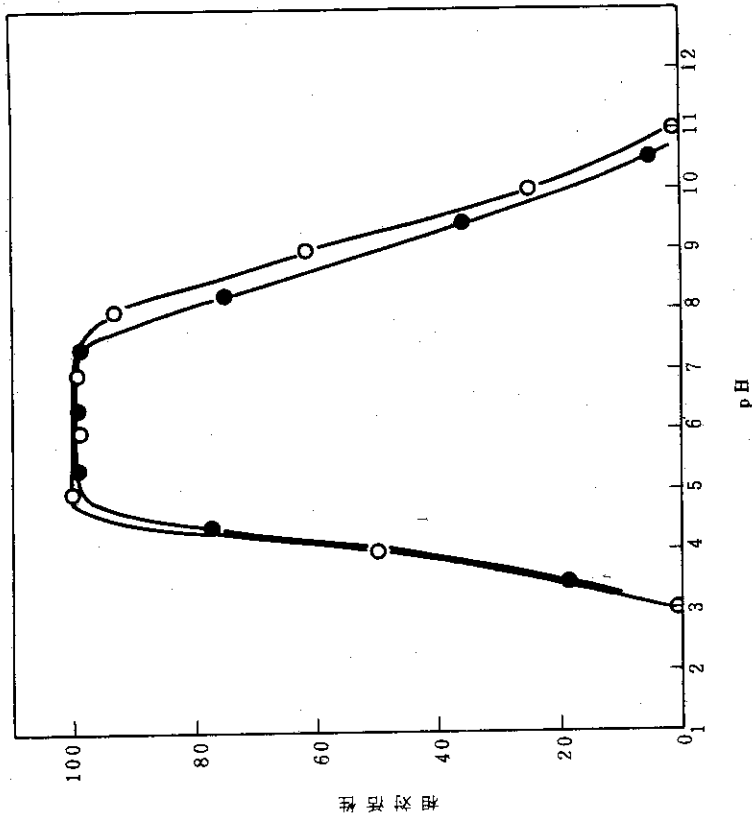


図8 照射によるpHと相対活性の変化

酵素：長瀬産業精製細菌，200 μ g/buffer soln, 1 ml

(○) 未照射

(●) 照射

照射： 1×10^6 R/hr \times 1 hr at -78°C , in air

酵素反応：2%可溶性澱粉溶液，6 ml

40 $^\circ\text{C}$, 1 hr

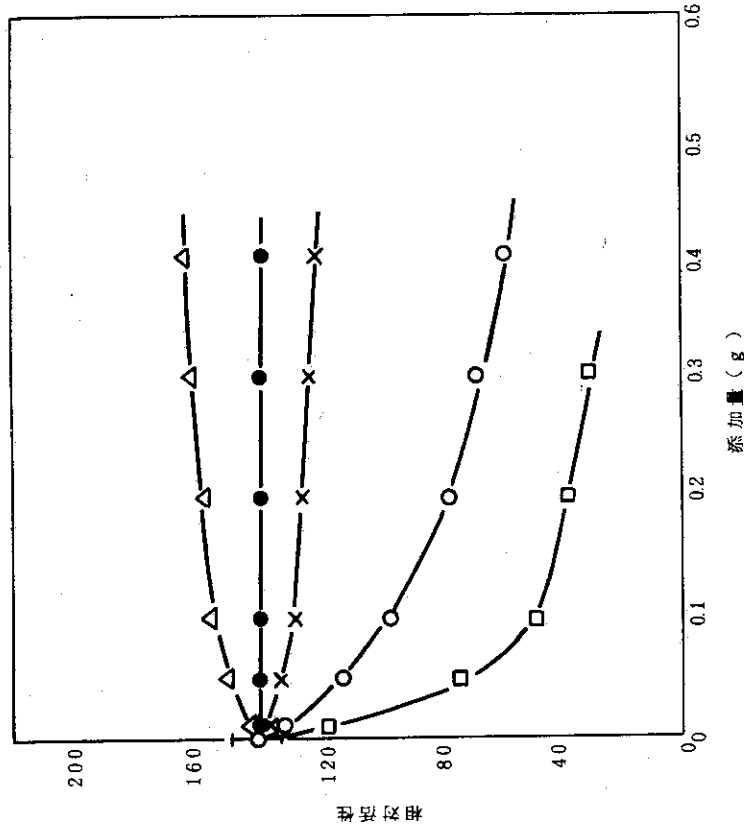


図7 添加物の影響

酵素：長瀬産業精製細菌，200 μ g/buffer soln, 1 ml

照射： 1×10^6 R/hr \times 1 hr at -78°C , in air

添加物：珪藻土(○)，塩化カルシウム(□)，ドライライト(Δ)，

尿素(\times) として無水酢酸カルシウム(●)。

酵素反応：2%可溶性澱粉溶液，6 ml

40 $^\circ\text{C}$, 1 hr

活性の80%を維持している。これは、澱粉が酵素の活性失活を抑制する保護剤として働くためと考えられる。また、酵素を40℃に放置することにより、相対活性の増加現象が観察されるが、これが何によるかは不明である。この現象は酵素中の不純物含有の少ない酵素あるいは澱粉含有酵素に認められ、珪藻土含有酵素の場合はあらわれない。この傾向は3.1) 項の放射線照射効果の場合とよく一致する。

一方、照射 α -amylaseの活性の経時変化は図10で明らかのように半井化学市販酵素を除けば非常に少ないことが判明した。これは放射線の作用により酵素が安定な状態を形成していることを示すものである。また、酵素に珪藻土が含有されている場合、図9で観察されたように活性失活が顕著であったにもかかわらず、放射線照射により、その影響はなくなった。この原因は現在のところ不明である。同じ珪藻土含有酵素でも半井化学市販品の方が東京化成市販品より相対活性の低下が激しいのは前者の珪藻土含有量が後者に比べ多量に含まれているからであろう。他方、不純物などの影響も考えられるがその詳細は解明するに致っていない。

これらの結果は照射 α -amylaseが経時変化に対して安定であることを意味しており、この事実は酵素の固定化をおこなう場合、放射線重合法が有利であることを示唆している。

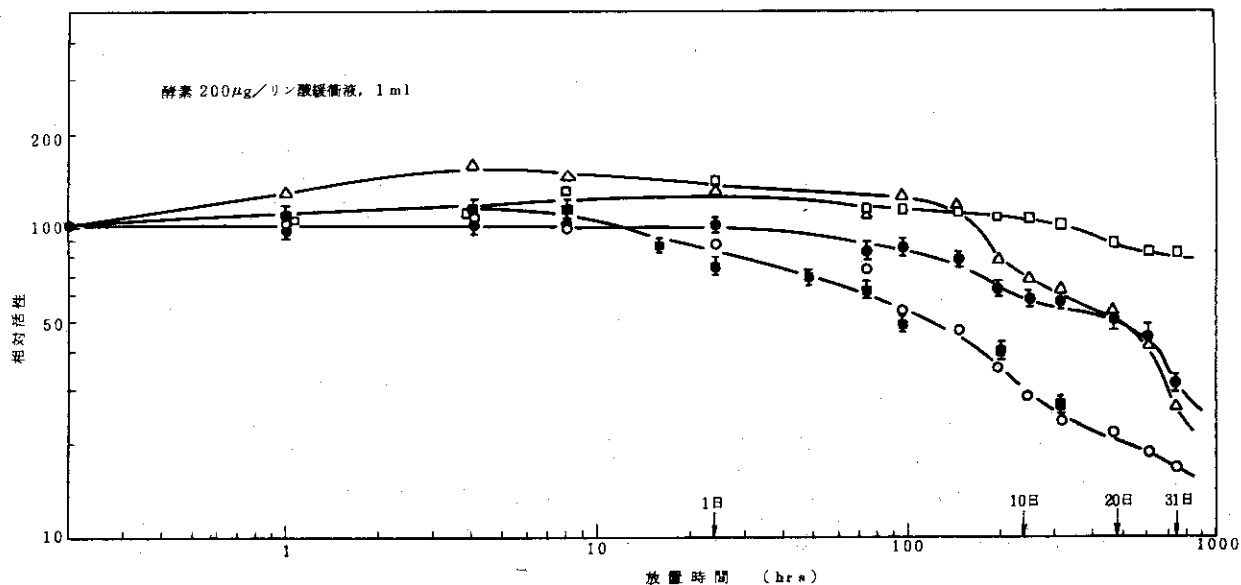


図9 未照射 α -amylase の経時変化

酵素；半井化学(O)，天野製薬(□)，長瀬産業-精製(Δ)，

長瀬産業-結晶(\circ)，東京化学(\circ)

酵素放置温度；40℃

酵素反応条件；2%可溶性澱粉溶液(100%，10分溶解)，40℃，1hr

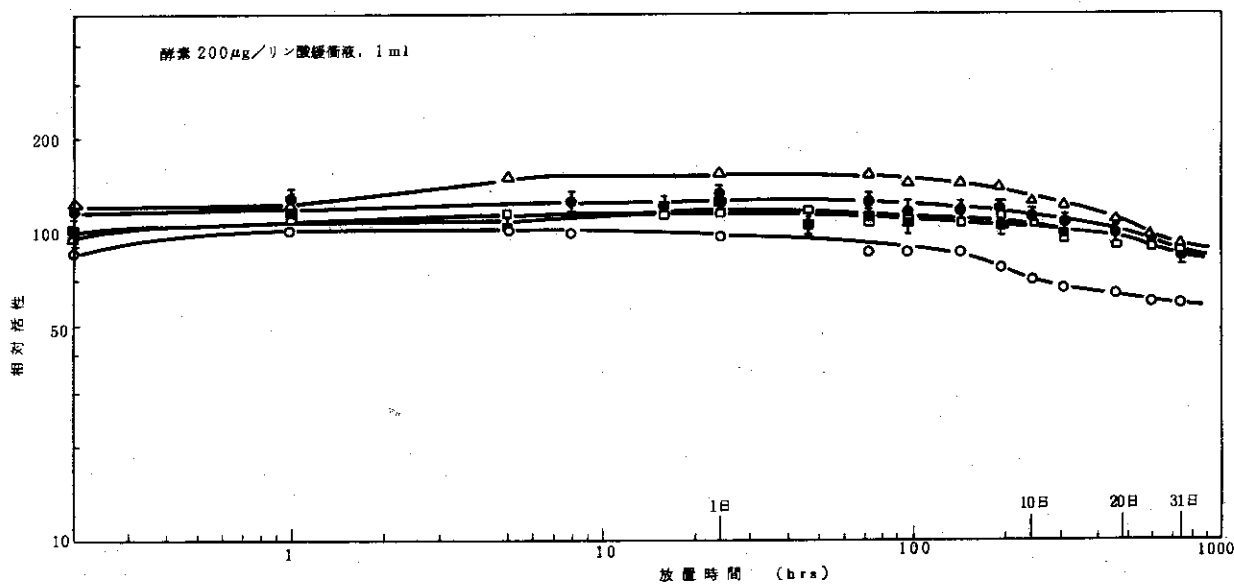


図10 照射 α -amylase の経時変化

酵素照射； $1 \times 10^6 \text{ R/hr} \times 1 \text{ hr}$ at -78°C . (buffer soln 存在下で照射)

半井化学(O)，天野製薬(□)，長瀬産業-精製(Δ)，長瀬産業-結晶(\circ)，東京化成(\circ)

照射後の酵素の放置温度；40℃

酵素反応；2%可溶性澱粉溶液(100%，10分溶解)

40℃，1hr

4 ま と め

Bacillus subtilis から得られる α -amylase の低温放射線重合による固定化に必要な基礎的知見をうる目的で、 α -amylase に対する放射線照射の影響について検討したところ次のようなことが明らかになった。

- (1) α -amylase は耐放射線性および活性の経時的安定性、耐熱性などにおいてすぐれている。この場合、酵素中に含まれる不純物が少ないほど耐放射線性があり、照射によって相対活性の増加現象が認められる。
- (2) 酵素の経時的安定性は未照射酵素には認められなく、照射した場合に観察できる。
- (3) 照射温度が低いほど酵素は安定であり、相対活性も高い値を示す。
- (4) 雰囲気の影響（酸素の効果）は殆んど認められなかった。しかしながら、照射温度が 40°C 以上の場合、酸素が存在した方が活性低下は顕著である。
- (5) 珪藻土、塩化カルシウムは顕著な活性低下を引き起こす。他方、硫酸カルシウムを主成分とするドライライトを添加すると、添加量の増加に伴い活性増加が認められた。
- (6) 酵素を含むリン酸緩衝液を照射した場合、pH は酸性側に 0.5 程度シフトする。一方、水溶液中でおこなった場合、pH は酸性側に 1.5 程度シフトする。真空下で照射をおこなった場合、pH シフトが観察されなかったことから、この原因は酸素によると考えられる。

文 献

- 1) 鈴木周一：化学の領域 28 (10) 821 (1974)
- 2) 権藤普一郎，楠浩一郎：化学工学 38 (5) 357 (1974)
- 3) G. J. H. Melrose: Rev. Pure and Appl. Chem. 21 83 (1971)
- 4) J. Wan: Science 142 678 (1963)
- 5) 干畑一郎：有合協 32 (4) 286 (1974)
- 6) 干畑一郎：有合協 28 (5) 471 (1970)
- 7) 実験化学講座 24 「生物化学Ⅱ」 p201 丸善
- 8) G. Noeling, P. Berrenfeld: Helv. Chim. Acta 31 286 (1948)
- 9) I. Kaetsu, H. Okubo, A. Ito and K. Hayashi: J. Polymer Sci. A100 2203 (1972)
- 10) 前田英勝，鈴木英雄：農化 44 (12) 547 (1970)
福本寿一郎：化学 17 (2) 136 (1968)
- 11) 吉田 勝，熊倉 稔，嘉悦 勲：JAERI-M 6191
低温放射線重合法による α -amylase 固定の研究・Ⅳ（種々の吸着剤存在下における HEMA による α -amylase 固定）