

Zymomonas 細菌におけるスクロース加水分解酵素の分泌を促進するタンパク質の諸性質 (福山大・食工、*鳥取大・生物応用)

○小田有二、築瀬英司*、加藤暢夫*、外村健三

1. 目的 *Zymomonas mobilis* Z6Cのスクロース非発酵性変異株Z6C-S2のsuc⁻を相補する遺伝子断片1.7kbには2つのORF(ORF1とORF2)があり、ORF2の遺伝子産物は、スクロース加水分解酵素の分泌に重要な役割を果たしていることは既に報告した。¹⁾今回は、ORF2がコードするタンパク質の諸性質について調べた。
2. 方法 ORF1を含むプラスミドpZS10、*Z. mobilis*のプロモーターを含むプラスミドpZE1、およびpZE1のプロモーター下流にORF2を含むプラスミドpZES13を保持したZ6C-S2株を使用した。Z6C-S2(pZS10)の培養菌体は、20mM Tris-HCl緩衝液(pH7.2)で洗浄後、同緩衝液に懸濁した。Z6C-S2(pZE1)およびZ6C-S2(pZES13)の培養液は、それぞれ培養上清、菌体洗浄液および超音波破碎による無細胞抽出液の3つに分画した。
3. 結果 Z6C-S2(pZS10)の菌体をZ6C-S2(pZES13)の3つの画分とそれぞれ30℃で2時間以上インキュベートすると、いずれの画分にもZ6C-S2(pZS10)菌体からスクロース加水分解酵素を上清中に遊離させる効果が見られ、特に菌体洗浄液において顕著であった。Z6C-S2(pZE1)の各画分には、同様の効果がまったく認められなかった。遊離するスクロース加水分解酵素の活性はインキュベーション時間とともに上昇し、添加する各画分の量とともに増加した。このように遊離を促進するORF2遺伝子産物は、何らかの酵素タンパク質と予想された。そこで、各種のプロテアーゼおよびホスホリターゼについて調べたところ、ホスホリターゼCにORF2タンパク質と同様の効果があった。以上の結果から、ORF2タンパク質はZ6C-S2(pZS10)菌体の細胞膜に作用し、その結果としてスクロース加水分解酵素遊離するものと推定した。¹⁾農化66,405,1992。

Some properties of the protein stimulating secretion of sucrose-hydrolyzing enzyme in *Zymomonas mobilis*.
Yuji Oda, Hideshi Yanase, Nobuo Kato*, and Kenzo Tononura (Dept. Food Sci. Technol., Fukuyama Univ., Fukuyama, Hiroshima 729-02, *Dept. Biotechnol., Tottori Univ., Tottori, Tottori 680)

Aspergillus 属のカタラーゼの Triton X-100 による菌体外生産

(鳥大・工・生応) ○西川 泰、井上 浩、小松秀俊、河田康志、永井 純

【目的】カタラーゼは、食品等の分野において、殺菌・漂白のために使用されたあとの残存過酸化水素を速やかに完全分解するため、工業的に利用されている酵素である。本研究は、耐熱性の強い *Aspergillus* 属のカタラーゼの生産性を増大させ、菌体内にある酵素を菌体外にだすことを目的として、基礎的な研究を行った。

【方法および結果】*Aspergillus terreus* IF06123を栄養培地で好氣的に培養し、対数増殖末期、培地に界面活性剤を加えてみた。その結果、0.1~2%の範囲でTriton X-100を加えた場合に培養液中のカタラーゼ活性が添加後の培養日数の経過とともに著しく増大した。この間、菌体内の活性はほとんど変化しなかったが、培養液全体のカタラーゼ活性はcontrolの数倍となった。Triton X-100濃度を濃くすると、短い日数で活性は最大値を示したが、活性の最大値は濃度によつては変わらなかった。また、Cycloheximideの添加によつて、このTriton X-100による活性増加は抑制された。界面活性剤としてTween 20, Sodium deoxycholateを加えた場合には、このような現象はみられなかった。また、*Aspergillus niger* IF04407についても同様にTriton X-100を添加してみたが、このような活性の増加はみられなかった。*Aspergillus terreus*の菌体中のカタラーゼの精製を試みたところ、陰イオン交換樹脂で二つのピークに活性が認められたので、これらとTriton X-100によつて菌体外に出現するカタラーゼ活性との関係を調べた。

Extra-cellular Production of Catalase from *Aspergillus* by Triton X-100
○Yasushi Nishikawa, Hiroshi Inoue, Hidetoshi Komatsu, Yasushi Kawata, and Jun Nagai
Dept. of Biotechnol., Faculty of Engineering, Tottori University