

327

糸状菌 M9 株の生産するイソプリメベロース生成酵素の諸性質

(工技院 微工研、* (株) 不二家) ○三石 安、加藤 毅*、小杉 佳次

【目的】 演者らは、土壌より分離した糸状菌M9株のendo-1,4- β -glucanaseが、キシロオリゴ糖から、その繰返し構造単位を各種の受容体に転移する作用を持つことを見だし、高級キシロオリゴ糖配糖体の酵素的合成法の検討を行ってきた。¹⁾今回は、キシロオリゴ糖やその配糖体の構造解析に有用なイソプリメベロース生成酵素を、M9株が生産することを見だし、本酵素を精製してその諸性質を検討した。

【方法】 培養は、キシロオリゴ糖を炭素源として30℃6日間振盪培養した。酵素活性は、50℃、pH 5.0で還元キシロオリゴ糖を基質として行い、生成するイソプリメベロースの還元力をNelson-Somogyi法により測定した。酵素の精製は、培養濾液より、限外濾過濃縮、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過、および疎水クロマトグラフィーなどをもちいて行った。また、反応生成物をHPLCにより分析した。

【結果】 *Aspergillus* 生産菌として土壌より分離した糸状菌M9株は、閉子のう果中に子のう胞子を形成し、*Eupenicillium*型の分生子形成機構をもつことから、*Eupenicillium*属に属するものであった。本菌の酵素は、精製の過程でいくつかの成分に分離したが、pH5.0でS-ヒドロキシに吸着する成分を電気泳動的に均一にまで精製した。酵素の分子量は、SDS-PAGEで約98,000、反応の至適温度およびpHはそれぞれ約50℃および5.0であった。本酵素は、キシロオリゴ糖には作用せず、オリゴ糖をイソプリメベロース単位に分解した。また、ガラクトースを含むオリゴ糖および9糖を、イソプリメベロース単位と残りの高級オリゴ糖に分解した。これらから本酵素は、*Asp. oryzae*のexo型酵素と同様な作用機構をもつものと思われた。

1) 三石、他：1992年度日本農芸化学会大会講演要旨集，p 507

Characterization of isoprimeverose producing enzyme produced by fungal strain M9
Yasushi Mitsuishi, Takeshi Kato* and Yoshitsugu Kosugi
(Fermentation Research Institute, AIST., *Fujiya Co., Ltd.)

328

Saccharomyces 酵母のBranching enzymeの精製と性質

○小田 元典、田端 司郎* (大谷女短大 *奈良医大・化学)

【目的】 Branching enzyme(BE)[1,4- α -glucan:1,4- α -glucan 6- α -(1,4- α -glucano)-transferase](EC 2.4.1.18)は植物ではQ-enzymeとして古くから知られていて α 1,4-glucan鎖の一部を6位に転移し、枝分れを形成する酵素である。これと類似の酵素は哺乳動物、大腸菌、*Neurospora*にも存在することが報告されているが、酵母からのBEの報告は少ない。我々は*Saccharomyces cerevisiae*の培養菌体よりBEを精製しその性質を調べたので報告する。

【方法と結果】 *Saccharomyces cerevisiae*をPGY培地で培養して得た菌体をFrench pressで破碎し、その上澄液をQAE-TOYOPEARL, ω -aminooctyl agarose, hydroxylapatiteのcolumn chromatographyで分画し、BEの活性をI₂-amylose 複合体の吸光度の変化で検索した。BE活性画分はamyloseを基質として作用させ、branch pointをisoamylaseとyeastのdebranching enzymeによって生じるglucoseとして測定した。その結果QAE-TOYOPEARLの画分から比活性で約100倍精製され、PAGEでほぼ均一な分子量約6万の酵素を得た。この酵素をamyloseに作用させ、isoamylaseで分枝点を切断するとHPLC⁽¹⁾でmaltohexaose, maltoheptaoseが検出されたことからDP 6,7を選択的に転移すると考えられる。また直鎖のglucan(DP 17,25,35)をamyloseに対する作用と較べるとDP 17にはほとんど作用せずDP 35で8.7%程度であった。

(1)S.Tabata,et.al.Carbohydr. Res. 230 179-183(1992)

Purification and characterization of branching enzyme from *Saccharomyces cerevisiae*

○Motonori Oda and Shiro Tabata*

(Ohtani Women's Junior College *Dept. Chemi. Nara Med. Univ.)