

353

 $\alpha$ -サイクロデキストリン( $\alpha$ -CD)による甘藷 $\beta$ -アミラーゼ(4量体)の不安定環境からの保護

(大阪市大・理・生物) ○安達 剛、飯塚 勝、安 龍根、南浦能至

【目的】 植物、微生物由来の殆どすべての $\beta$ -アミラーゼが単量体酵素であるのに対し、甘藷 $\beta$ -アミラーゼは単一サブユニットからなる4量体酵素である。本酵素は、高度希釈、アルカリ処理によりモノマーに解離すると同時に失活する。我々は、ある種糖鎖の化学修飾で調製した活性モノマーが、本酵素の拮抗阻害剤である $\alpha$ -CDで安定化されることを明らかにした<sup>1)</sup>。今回は、糖鎖未修飾の活性モノマーを調製する目的で、本酵素の安定性に及ぼすサイクロデキストリン、特に $\alpha$ -CDの影響を検討した。

【方法および結果】 実験には、既報の方法<sup>2)</sup>により精製した比活性3,000units/mgの電気泳動的に単一酵素標品を用いた。酵素の安定化に供した種々のサイクロデキストリンのうち、 $\alpha$ -CDが本酵素の熱安定化(pH4.8, 25min)及びpH安定化(37°C, 4hrs)に最も有効であった。また、酵素活性をほぼ完全に阻害する $\alpha$ -CD 2%濃度で、その効果は大であった。酵素の金属イオンによる不安定化に対する $\alpha$ -CDの影響を調べたところ、Hg<sup>2+</sup>およびCu<sup>2+</sup>の阻害作用をほぼ100%抑制した。しかし、Sn<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>及びFe<sup>3+</sup>による阻害作用の抑制はみられなかった。また、本酵素の超音波処理による変性抑制にも $\alpha$ -CDが有効であった。

1) Y. G. Ann, M. Iizuka, T. Yamamoto and N. Minamiura, *J. Ferment. Bioeng.*, **7**, 0, 75(1990).

2) Y. G. Ann, M. Iizuka, T. Yamamoto and N. Minamiura, *Agric. Biol. Chem.*, **5**, 4, 769(1990).

Stabilization of sweet potato tetrameric  $\beta$ -Amylase with  $\alpha$ -Cyclodextrin

○Tsuyoshi Adachi, Masaru Iizuka, Yong-Geun Ann and Noshi Minamiura

Dept. of Biology, Fac. of Science, Osaka City Univ.

354

## 海洋細菌由来キノプロテイングルコースデヒドロゲナーゼの耐塩性機構の解析

(東京農工大・工・物質生物工) 早出広司・○田中光治

【目的】 演者らはすでに膜結合性のキノプロテイングルコースデヒドロゲナーゼ(PQQGDH)を含有する海洋細菌を単離し、昨年度本大会において本酵素の活性に塩濃度依存性があること、および陸上細菌由来のPQQGDHと比較して耐塩性を有していることを示した。本発表ではこの耐塩性の機構をPQQと酵素との結合様式に着目して検討した結果を報告する。

【方法】 海洋細菌N11および比較対象として用いた *Pseudomonas aeruginosa* (IFO 3445)のPQQGDHは菌体膜画分より1% TritonX-100を含む10mMリン酸緩衝液で可溶化させ、0.6 $\mu$ M PQQ, 0.75mM MgCl<sub>2</sub>を加えてホロ型酵素として調製した。

【結果】 N11由来のPQQGDHはPQQとともにホロ化させたのち、ゲル濾過カラムにより脱塩することにより容易にPQQと解離しアポ酵素となってしまう。これに対して0.2-0.5MのNaCl存在下ではホロ化状態が保持されていることが明らかとなった。このことから本酵素は比較的高い塩濃度においてPQQと酵素との結合が安定であると推察された。本酵素の高塩濃度における失活のパターンを解析した。NaCl無添加時に検出された酵素活性を100%とすると、NaCl 0.9M存在下において比活性約35%が認められた。これに対し *P. aeruginosa*のPQQGDHは0.9M NaCl存在下で酵素活性は全く測定されず見かけ上失活した。これらを脱塩および再度PQQによるホロ化操作を行ったところ、いずれのPQQGDHも初期活性の約50-60%程度までの活性の回復が見られた。以上の様に高塩濃度によるPQQGDHの可逆的な失活の程度がN11と *P. aeruginosa*由来PQQGDHの耐塩性の違いに反映しており、これはPQQと酵素とがホロ化状態を安定に形成できる条件の差に依存していると考えられた。

Investigation of salinity tolerance of marine bacterial quinoprotein glucose dehydrogenase

Koji Sode, Mitsuharu Tanaka

Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology, Nakamachi,

Koganei-shi, Tokyo, 184