

417

アガロースゲル細孔を利用した糖タンパク質性酵素エキソ-1,4- α -D-グルコシダーゼの濃縮

(筑波大・応生系) ○島田秋彦・中村以正

【目的】 既に本大会で報告したように、生体触媒を固定化する材料として広くもちいられているアガロースゲルの性質を利用して、ゲルに包括固定化された菌体 *Saccharomycopsis fibuligera* IF0 0111 が生産する糖タンパク質性酵素エキソ-1,4- α -D-グルコシダーゼを濃縮する系の構築に成功した。しかし、酵素の回収量に関して、これまでの結果は遊離菌が生産したときの回収量と比べてかなり低かった。そこで、本研究ではこの点を改善し、酵素の回収量を上昇させることを目的とする。

【方法および結果】 エキソ-1,4- α -D-グルコシダーゼを生産する *Saccharomycopsis fibuligera* IF0 0111 をアガロースゲルビーズに包括固定し、コンカナバリン A 存在下で維持培地中で約 1 週間培養した。維持培地中でもエキソ-1,4- α -D-グルコシダーゼの生産は見られ、ゲル内に酵素が濃縮されていることが確認できた。しかし、濃縮率（＝〔ゲル中の酵素濃度〕／〔ゲル外の酵素濃度〕）は 2.0 倍で満足できる結果が得られたものの、回収した全酵素量は遊離菌の状態で生産させ回収した場合の 3.1 % しかなかった。そこで、酵素の回収量を上げるために培養方法、ゲル強度、培地組成の観点から種々検討したが、炭素源を soluble starch から raw starch に変えれば良い結果が得られることがわかった。この結果、濃縮率に関しては更なる上昇はみられなかったけれども、酵素の回収量は飛躍的に上昇し遊離菌の状態で生産させた場合の酵素の回収量を 2.5 % も上回った。このことより、本方法により高濃度の酵素標品を分離できる可能性がでてきた。

Concentration of the glycoprotein enzyme exo-1,4- α -glucosidase through agarose gel pores
Akihiko Shimada and Isei Nakamura

Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba

418

電気透析法を組合せた固定化酵素システムによる

6-APA の生産

(阪大・工・応生) 徂徠 智子・塩谷捨明・○菅 健一

【目的】 6 アミノペニシラン酸 (6-APA) は、ペニシリン G (PenG) やペニシリン V (PenV) から主に固定化 Penicillin acylase を用いた脱アシル化反応により工業的に生産されている。この酵素反応は生産物である 6-APA 及びフェニル酢酸 (PAA) によって阻害されるが、このうち PAA による阻害が特に大きい。本研究では、酵素反応プロセスに電気透析法を組合せ生産物のみを連続的に除去する事によって、6-APA の生産性を向上させることを目的とした。

【方法および結果】 固定化酵素として多孔性ポリアクリロニトリル繊維に固定化した *Bacillus megaterium* 由来の Penicillin G acylase を用いた。電気透析装置内のカチオン交換膜として CMV セレミオン、アニオン交換膜として AMV, ASV, ASR および PSV セレミオンのいずれかを用了。一方、固定化酵素を電気透析装置のアニオン交換膜とカチオン交換膜の間に膜状に挟み込み、電気透析の酵素反応におよぼす影響を検討した。この酵素反応プロセスに適したアニオン交換膜を検討した結果、副生成物 (PAA) の選択透過性の最も優れているのは AMV セレミオンであることが分かった。また PAA の透過速度は Pen G 濃度の増加に伴って著しく低下し、その透過速度定数は Pen G が 200 mM 存在する場合、存在しない時の約 1/20 に低下した。この透過プロセスをモデル化し、さらに酵素反応と組み合わせてシミュレーションした。この酵素反応プロセスにおける電気透析の効果をシミュレートしたところ、100 mM の Pen G 溶液 1 L を 98 % 転化するのに要する時間は、電気透析を併用した場合、しない場合に比べて 22.7 % 短縮できた。

Hydrolysis of Penicillin G by Combination of Immobilized Penicillin Acylase and Electrodialysis
Tomoko Sorai, Suteaki Shioya, Kenichi Suga
Dept. Biotechnol., Osaka Univ.