

301 *Pseudomonas* sp. 由来の新規ジペプチジルアミノペプチダーゼ
○小笠原 渉、岡田 宏文、森川 康 (長岡技科大・生物)

ジペプチジルアミノペプチダーゼ (DAP) はN末端側からジペプチド単位で切断するプロテアーゼである。哺乳類においてDAP I~IVの4種のDAPの存在が知られているが、微生物においてはDAP IVの存在が明確にされているのみである。しかし、我々は以前に *Pseudomonas* sp. WO24由来のGlyArg-pNAに特異的なDAP (DAP BI)¹⁾およびGlyPhe-pNAに特異的なDAP (DAP BII)²⁾の精製と性質の検討を行い、微生物においてDAP IV以外のDAPが存在することを明らかにした。本研究において *Pseudomonas* sp. WO24由来のもう1種のDAP (DAP BIII)の精製と性質の検討を行い、DAP BIおよびDAP BIIと比較した。

精製したDAP BIIIは至適pHをアルカリ側に有する分子量69kDa (SDS-PAGE)の酵素であり、DFPで強く阻害されNEM、IAAで阻害を受けないことからセリンプロテアーゼと推定された。本酵素はDAP BIIと同様にGlyPhe-pNAに特異性を示したが、DAP BIIがLysAla-MCA, AlaAla-pNAおよびインシュリンB鎖を切断することが可能であるのに対し本酵素は切断しなかった。本酵素はDAP BIおよびDAP BIIとは基質特異性および分子量が明らかに異なるため新規DAPであると判断された。

¹⁾小笠原ら:第66回 日本生化学会大会発表 ²⁾小笠原ら:平成5年度 日本生物工学会大会発表

Novel dipeptidyl aminopeptidase from *Pseudomonas* sp.

○Wataru Ogasawara, Hirofumi Okada, Yasushi Morikawa

(Dept. Bioeng., Nagaoka Univ. Technol.)

【Key Words】 Dipeptidyl aminopeptidase, Bacterial exopeptidase, *Pseudomonas*

302 有機溶媒存在下で生育する *Pseudomonas aeruginosa* PST-01
株が生産する有機溶媒に安定なプロテアーゼの精製
(阪府大・工・化工)○荻野博康、渡辺史武、塩谷隆嗣、石川治男

【目的】 有機溶媒存在下で微生物反応や酵素反応を行う場合、微生物の有機溶媒耐性や酵素の有機溶媒安定性が問題となる。我々は、先に有機溶媒存在下で生育でき、プロテアーゼを分泌する *Pseudomonas aeruginosa* PST-01 株を単離した¹⁾。今回、この微生物が分泌するプロテアーゼを精製し、有機溶媒存在下での安定性を検討した。

【方法および結果】 PST-01 株を 30 °Cで 30 時間通気培養した。培養上清を 60 % 飽和濃度の硫酸で塩析し、Butyl-TOYOPEARL 650C を用いた疎水的クロマトグラフィーにより、PST-01 株が分泌するプロテアーゼを精製した。プロテアーゼ活性は、カゼイン分解能を測定することにより求めた。精製した酵素を SDS-PAGE で分析したところ、分子量 38,000 の単一バンドとして検出された。精製酵素の反応至適 pH は 8.6、反応至適温度は 55 °C であった。精製酵素溶液に種々の有機溶媒を添加し、酵素の安定性におよぼす有機溶媒の影響を調べたところ、精製酵素は多くの有機溶媒に対して安定であることがわかった。

1) 荻野ら;平成5年度日本生物工学会大会講演要旨集, p. 167 (1993).

Purification of Organic Solvent-Stable Protease from Organic Solvent-Tolerant *Pseudomonas aeruginosa* PST-01

OHiroyasu OGINO, Fumitake WATANABE, Takashi SHIOTANI and Haruo ISHIKAWA (Dept. Chem. Eng., Univ. of Osaka Pref.)

【Key Words】 Organic Solvent-Stable Enzyme, Protease, Organic