

- 309 *Rhodotorula glutinis* 38B1株の生産する7-アミノセファロスポラン酸(7-ACA)エステラーゼの精製と諸性質  
(京大・農・農化、\*旭化成) 阪井康能、阿部哲也、○青木 基、山本敬三\*  
谷 吉樹\*\*、加藤暢夫

【目的】7-ACA及びそのアセチル加水分解物デアセチル7-アミノセファロスポラン酸(D-7ACA)は、種々のセフェム系抗生物質誘導体の合成原料である。私達はこれまでに、7-ACAをD-7ACAに効率よく加水分解する微生物を土壌よりスクリーニングして*R. glutinis* 38B1株を得たことを報告した<sup>1)</sup>。今回は本触媒活性を有する7-ACAエステラーゼの精製を行いその諸性質を調べたので報告する。

【方法と結果】*R. glutinis* 38B1株培養菌体より得た粗酵素抽出液を硫酸分画後、CMイオン交換クロマトグラフィー及びゲル濾過クロマトグラフィーを行い、SDS-PAGE上82kDaの単一バンドを与える精製酵素標品を得た。本酵素は、同一サブユニットから成る2量体で重量にして20%以上の混成型糖鎖を持っており、最適pHは5.5、最適反応温度は30°Cであった。この反応はCu<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、p-APMSF、eserinesulfateにより阻害され、セリン残基のヒドロキシ基が活性に重要な役割を果たしていることが示唆された。7-ACAに対するKm値は1.43 mMであった。

1) 阪井康能他：平成5年度日本農芸化学会講演要旨集、p 292

\*\*現 奈良先端大学院大

Purification and characterization of 7-aminocephalosporanic acid (7-ACA) esterase from *Rhodotorula glutinis* 38B1

Yasuyoshi Sakai, Tetsuya Abe, ○Motoi Aoki, Keizo Yamamoto\*, Yoshiki Tani\*\*, and Nobuo Kato (Dept. Agric. Chem., Kyoto Univ. \*Asahi Chem. Ind.) \*\* Present address: Nara Adv. Inst. Sci. and Tech.

【Key Words】7-aminocephalosporanic acid, esterase, *Rhodotorula*

- 310 黒麹菌の生産するカルボキシルエステラーゼの精製と性質  
(醸試) ○古瀬伸二、小関卓也、伊藤康朗、伊藤 清、岩野君夫

【目的】泡盛の香り成分の1つであるバニリンは原料由来のフェルラ酸から熟成過程に生成する。このフェルラ酸は黒麹菌の生産するフェルラ酸エステラーゼ(FE)により原料から遊離することを既に報告した。今回はFEの精製ステップで挙動を共にするカルボキシルエステラーゼ(CE)とFEの酵素学的な性質を比較検討するために本酵素の精製を行い諸性質を調べた。

【方法及び結果】*Aspergillus awamori* IFO 4033を2%小麦ふすまを炭素源として30°C、3日間振とう培養した。培養ろ液を硫酸分画後、DEAE-イオン交換クロマト、ゲルろ過及び疎水クロマトグラフィーを用いて精製した。酵素力価の測定は各脂肪酸の $\alpha$ -ナフトルエステルを基質として生成する $\alpha$ -ナフトールを比色定量した。

精製酵素はSDS-PAGEで単一バンドであり分子量は約30000であった。至適温度は40°C付近、至適pHは7付近であった。pIは3であった。また活性はDFP、PMSFで強く阻害された。本酵素は酢酸、プロピオン酸エステルは分解したがそれ以上の鎖長の脂肪酸エステルやフェルラ酸エステルは分解できなかった。また酢酸エステルに対するKm値はFEが10mMであるのに対してCEでは1.4mMであった。

Purification and properties of carboxylesterase from *Aspergillus awamori*  
○Shinji Furuse, Takuya Koseki, Yasuro Ito, Kiyoshi Ito and Kimio Iwano  
(Natl. Res. Inst. Brewing)

【Key Words】*Aspergillus awamori*, Esterase, Properties