

P. fluorescens HU380株の産生するリパーゼの精製と諸性質

○小嶋裕三*、清水 昌 (京大 農化)

【目的】演者らは、高度不飽和脂肪酸 (PUFA) に特異性を示すリパーゼの検索を行い、PUFAのエステルによく作用するリパーゼを産生する P. fluorescens HU380株を分離したことを既に報告した¹⁾。そこでHU380株の産生するリパーゼの精製を行い、諸性質を検討したので報告する。

【方法】HU380株をグリセロールと肉エキスを含む液体培地にて培養し、培養液の遠心上清にプロテアーゼの阻害剤として α -phenanthrolineを加え、限外濃縮、Phenyl-toyopearl、DEAE-Sepharose、Mono-Qの各クロマトグラフィーにより精製を行った。

【結果】精製酵素の分子量は SDS-PAGEで約 64,000、Native-PAGEでは分子量約 130,000 の単一バンドとして検出された。本酵素の至適温度は 45℃、至適 pH は 8.5 で 60分間の熱処理では 40℃まで、30℃の pH 処理では pH 6 から pH 7 の間で安定であった。また、本酵素は EDTA および Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , Co^{2+} で阻害され Ca^{2+} で活性化された。グリセリドの位置に対する特異性は、主に 1、3 位に作用し、わずかに 2 位にも作用することがわかった。 (*天野製薬)

1) 小嶋ら: 1994年度日本農芸化学会大会講演要旨集 p.122

Purification and characterization of the lipase from P. fluorescens HU380

○Yuzo Kojima and Sakayu Shimizu (Dept. Agric. Chem. Kyoto Univ.)

【Key Words】Pseudomonas, Lipase, poly unsaturated fatty acidPseudomonas LP7315由来の耐熱性モノグリセリドリパーゼの精製と諸性質 (岡山大・工・生物応用) ○三宅 彰、田口里永子、田中孝明、崎山高明、中西一弘、(大和化成) 尾崎 彰、田中 惇

【目 的】

土壌より分離された Pseudomonas 属細菌 LP7315 が産生する耐熱性モノグリセリドリパーゼ (MGL) を精製し、その諸性質を明らかにした。

【方法と結果】

MGLは硫酸分画後、DEAE TOYOPEARL 650にかけ、その素通り画分を 1% SDS 存在下でポリアクリルアミド電気泳動 (中塾酢店製、分取型スラブ電気泳動装置 PES NA-P) を行い、活性画分を抽出し電気泳動的に単一にまで精製した。比活性は約 8 倍に上昇した。酵素の分子量は、約 148,000 (SDS-PAGE) であった。至適反応 pH は 8-9 (基質; PNPL)、至適温度は 70℃ であった。また、65℃、1時間処理では pH 7-8 で安定であった。HgCl₂、PCMB 処理によっても、それぞれ 72%、90% の以上の活性を維持していた。また、モノグリセリド加水分解反応におけるアシル基の長さの影響を調べたところ、モノミリスチンの場合が最も高い活性を示した。モノパルミチン合成反応に及ぼす諸因子を検討したところ、グリセリン/パルミチン酸比の影響が最も顕著であり、比が高いほど合成収率、合成速度ともに増加した。

Purification and properties of monoglyceride lipase from Pseudomonas LP7315, ○Akira Miyake, Rieko Taguchi, Takaaki Tanaka, Takaharu Sakiyama, Kazuhiro Nakanishi (Dept. Biotechol., Okayama Univ.), Akira Ozaki, Atsushi Tanaka (Daiwa Kasei K.K.)

【Key Words】lipase, monoglyceride, Pseudomonas