

321

## ポリカーボネート膜を用いる酵素固定化用担体

(福井大・工・生化工、\*奈良高専・化工)

○末 信一郎、中村 良治、公文 裕二\*、石垣 昭\*

【目的】工業プロセスなどにおける工程管理や臨床検査等における計測に、バイオセンサーが広く検討されている。本研究では、酵素固定化担体として、多孔性のポリカーボネート膜を用い、これに酵素を共有結合により膜に固定化させ制限機能を付与したバイオセンサー用の酵素固定化膜の製法を試みた。具体的には、この膜状の担体の高分子鎖上に官能基を導入して更にポリリシンを結合させ、グルタルアルデヒドを介して酵素と共有結合させ固定化する方法を検討した。

【方法及び結果】ポリカーボネート膜を硝酸で処理し膜表面の高分子鎖上にニトロ基を導入した。さらにポリリシンを含む炭酸水素ナトリウム水溶液に膜を浸漬し、部分的に表面の高分子鎖を切断し、そこへポリリシンをウレタン結合することによって固定化し膜にアミノ基を導入した。膜に導入されたアミノ基の確認はアミノ基のダンシル化しその蛍光を検出することによって行った。さらに膜に導入されたアミノ基にグルタルアルデヒドを介してグルコースオキシダーゼ(GOD)を固定化した。GOD固定化膜の活性は、 $0.027 \text{ units/cm}^2$ であった。GOD固定化膜の安定性など諸性質について検討を行った。

A novel enzyme immobilization method onto polycarbonate membrane.

○Shin-ichiro Suye, Yoshiharu Nakamura, Yuji Kumon\*, Akira Ishigaki\*,  
(Dept. Appl. Chem. and Biotechnol., Fukui Univ., \*Dept. Chem. Engineer.  
Nara National Coll. Technol.)

【Key Word】enzyme immobilization, polycarbonate, glucose oxidase

322

Production of cellulolytic enzymes by *Xylaria regalis*O Ding-Ling Wei<sup>1</sup>, Kohtaro Kirimura<sup>2</sup> and Shoji Usami<sup>2</sup>(Division of Biology, National Yang-Ming Medical College, Taiwan<sup>1</sup>; School of Science and Engineering, Waseda Univ.<sup>2</sup>).

Cellulose-degrading enzymes secreted by the wood-grown fungus *Xylaria regalis* isolated in Taiwan were studied. A piece (approx. 10 x 10 mm) of actively growing fungal mycelium was transferred from a PDA plate to a 250 ml Erlenmeyer flask containing 50 ml of the growth medium composed of 1% (W/V) crystalline cellulose, 0.1% (W/V) peptone and 0.2% (V/V) Tween 80 and shaken at 150 rev/min in a rotary shaker at 28°C. A portion (3 ml) of culture media was taken periodically, centrifuged at  $10,000 \times g$  for 10 min and the supernatant was used as crude enzyme solution. To study the effects of carbon sources on the production of cellulolytic enzymes, *X. regalis* was also cultivated on cellobiose and xylan media instead of cellulose.

The highest levels of cellulolytic enzymes produced by *X. regalis* were 70.5 mU/ml (CMCase), 18.8 mU/ml (Avicelase) and 44.0 mU/ml (*B*-glucosidase) when cultivated at 28°C for two weeks. The addition of 10 g/l of crystalline cellulose to a defined minimal medium (Mandel's medium) resulted in increasing *B*-glucosidase production to 114.0 mU/ml within 4 days, 2.6 times that produced by this fungus on cellulose growth medium only. Production of *B*-glucosidase in this medium was optimal at pH 5.0 to 6.0. The optimum temperatures for CMCase, Avicelase and *B*-glucosidase activities were 37, 37 and 50°C and the optimum pH were 4.0, 5.0 and 5.0, respectively. Purification of *B*-glucosidase is now being undertaken.

[Key Words] cellulase, *B*-glucosidase, *Xylaria regalis*