

337 *A. nidulans* 由来 β -N-acetylglucosaminidase の麹菌による大量発現と諸性質

○金宣和、中島春紫、宮里真理子*、鯨坂勝美*、北本勝ひこ
(東大院・農・応生工、*明治乳業・ヘルスサイエンス研)

【目的】演者らは *A. nidulans* の β -N-acetylglucosaminidase をコードする *nagA* 遺伝子を単離し、酵母および *A. nidulans* において発現を行っている。本酵素を糖鎖工学に応用するため、麹菌(*A. oryzae*)を用いて大量生産を行い、酵素学的諸性質を検討した。

【方法と結果】 *nagA* 遺伝子を高発現改良プロモーター下流に連結して *A. oryzae* niaD300 株に導入し、小麦フスマによる固体培養を行ったところ、培養抽出液中の蛋白質の約 50% もの大量の本酵素の生産が認められた。

本酵素は p-nitrophenyl- β -N-acetylglucosaminide を基質としたとき、反応至適 pH5.5、至適温度 52°C、Km 値は 0.31mM であった。また、p-nitrophenyl- β -N-acetylgalactosaminide に対しても 57% の活性を有していたことから β -N-acetylhexosaminidase として機能することが明らかとなった。

Characterization of *A. nidulans* β -N-acetylglucosaminidase overexpressed by *A. oryzae*.

○Kim Sun Hwa, Harushi Nakajima, Mariko Miyasato*, Katsumi Ajisaka*, Katsuhiko Kitamoto (Dept. Biotechnol., Univ. Tokyo,*Meiji Inst. Health Science)

【Key Words】 β -N-acetylhexosaminidase, β -N-acetylglucosaminidase, *A. nidulans*, *A. oryzae*, over-production

338 Purification of a Photobactericidal Compound from Marine *Chlorella* sp. (Dept. of Biotechnol., Tokyo Univ. of Agri. & Technol.)○Harpal Rao, Haruko Takeyama and Tadashi Matsunaga.

【Aim】Investigation of photobactericidal activity in a crude extract of *Chlorella* sp. NKG030401.

【Methods & Results】Photobactericidal activity against *Bacillus subtilis* by a crude extract from marine *Chlorella* sp. NKG030401 co-elutes with a green fraction from gel-filtration on Sephadex LH-20. Strong photobactericidal activity is seen under 3000 (cool-white fluorescent) and 10,000 (halogen filament) lux illumination, and is attenuated by mannitol - a scavenger of OH radicals. A plausible mechanism of action is photodynamic production of free-radicals by chlorophyll (chl). Crude extract (12.5 mg solids/ml) was quantified for chl-a ($470 \pm 12 \mu\text{M}$ or $420 \mu\text{g/ml}$) and chl-b ($139 \pm 7 \mu\text{M}$; $126 \mu\text{g/ml}$), and commercial chl-a (*Chlorella*) and chl-b (*Spinach*) bioassayed (0-300 μg) alongside extract (0-5 mg; 0-168 μgeqs chl-a; 0-50 μgeqs chl-b) under light-restrictive (3000 lux; cool-white fluorescent) conditions. Extract yielded strong bioactivity whilst chl-a and chl-b yielded no activity. Chlorophylls yield free-radicals upon visible illumination at high intensities (photobleaching). The lack of photobactericidal activity with commercial chl-a and chl-b at 3000 lux suggests that bioactivity of the extract is not readily explained by photosensitisation of background chl-a and chl-b present in the sample.

【Keywords】Marine alga, *Chlorella*, Natural product, Photobactericide, Purification.