

233 Bacillus stearothermophilus 由来の耐熱性 β -ガラクトシダーゼの性質と固定化
(わかもと製薬生物化学研,*阪大・工・醸酵) °犬飼真二・川井悟・
平田晴久・*根来誠司・*岡田弘輔

1. 目的 演者らは先に Bacillus stearothermophilus IAM11001株の β -ガラクトシダーゼ遺伝子をクローン化し、その遺伝子が枯草菌で効率よく発現することを見出した^{1),2)}。本酵素は耐熱性に優れているので、これを牛乳やホエーの工業的処理に利用することを目的として研究を進めている。今回は組換え枯草菌で産生した β -ガラクトシダーゼの性質と固定化を検討した結果を報告する。

2. 方法 酵素試料は有機溶媒処理菌体からのバッファー抽出物を熱処理、DEAE-Sephadex A-50による部分精製酵素を使用した。酵素の固定化方法はイオン結合法として各種市販の陰イオン交換樹脂を使用した。この一部は吸着後さらにグルタルアルデヒド(GA)で架橋した。次に共有結合法として Activated CH-Sepharose 4B, CNBr-activated Sepharose 4B を使用した。固定化酵素の至適温度は1%ラクトース(McIlvaine buffer, pH6.5)を用いて調べた。

3. 結果 ①遊離酵素の性質。反応の至適pHは5.5で、至適温度は70°C(pH6.5)であった。所定温度における酵素活性の半減期はpHによって異なり、中性付近が最も安定であった。pH7.0における活性の半減期は65°Cで55時間、60°Cで155時間、55°Cで620時間であった。②固定化酵素の性質。イオン結合法では陰イオン交換樹脂を検討したところ、Duolite A-7が最も良かった。固定化酵素の至適温度は Duolite A-7 と Activated CH-Sepharose 4B が70°Cで、CNBr-activated Sepharose 4Bが75°Cであった。一方 Duolite A-7 に吸着固定化後、さらにGAで架橋した場合GAの濃度が高くなるほど熱安定性が減少した。現在ラクトース、牛乳を基質とした場合の連続実験を検討している。1) 59年度農化大会要旨集 P109 2) J. Bacteriol. in press (oct.)

Properties and Immobilization of Cloned Thermostable β -Galactosidase of Bacillus stearothermophilus

Shinji Inukai¹, Satoru Kawai¹, Haruhisa Hirata¹, Seiji Negoro², and Hirotsuke Okada²

1. Laboratory of Biological Chemistry, Wakamoto Pharmaceutical Co., 2. Department of Fermentation Technology, Osaka University

234 Asp. oryzae 起源の固定化 β -D-Galactosidase に関する研究 I
酵素学的性質

(住友化学 生命工学研) °河野恵美子・山本英文・広原日出男

1) 目的 ミルク、ホエー、ホエーパーミエートを新しい食品あるいは食品原料として利用するためには、その最大成分である乳糖を加水分解することが重要な課題である。そこで、乳糖のみを効率的に加水分解し、高活性で安定な工業用触媒として十分に使用できる固定化 β -D-Galactosidase を調製し、その酵素学的性質について検討した。

2) 方法 Asp. oryzae 起源の β -D-Galactosidase (新日本化学製) をマクロ多孔性両性イオン交換樹脂にグルタルアルデヒドにより共有結合で固定化した。活性測定は純乳糖を基質とし、生成したグルコースをグルコスタット法によって測定した。

3) 結果 活性のpH依存性は固定化によって大きく変化せず、酸性ホエーのみならずスイートホエー、ミルクに対しても有効な活性を有していた。種々の基質をカラム内滞留時間を変えて流し、そのときの水解率を測定した。基質は純乳糖液のときだけでなく、ホエー、ミルクの場合にも100%に達し、この液状酵素の欠点であった生成物阻害が固定化により減少したことがK_m値の測定からも認められた。オリゴ糖の生成は5%乳糖濃度ではほとんど認められなかった。各種基質に対する水解率80%を達成するカラム内滞留時間は、40°C、スキムミルクの場合 約3分、酸性ホエーで40秒弱、ホエーパーミエートで30秒であり、非常に短時間で達成された。種々のイオンに対する活性の安定性を測定したが、水銀イオンのような重金属を除くと活性の低下は認められなかった。また、種々の殺菌剤に対しても殺菌効力の十分認められる濃度でほとんど活性の低下はなかった。

Immobilized β -D-Galactosidase from Aspergillus oryzae I
Enzymatic Property

°Emiko Kawano, Hidefumi Yamamoto, Hideo Hirohara (Takarazuka Research Center, Biotechnology Laboratory, Sumitomo Chemical Co., LTD., Takatsukasa, Takarazuka, Hyogo 665)