

453 *Streptomyces* sp. C-51 株由来のコラゲナーゼの生産条件および性質について
(ヤクルト中研) °三沢 宏・綿貫雅章・徳光 栄・横倉輝男
(東京農工大・農化) 村川茂雄・遠藤 章

1) 目的 コラゲナーゼの需要は、最近、動物細胞分散用として増大している。現在使用されているコラゲナーゼは、主に *Clostridium histolyticum* 由来であるが、土壌中より分離した *Streptomyces* sp. C-51 株は、高いコラゲナーゼ生産性を有している¹⁾。本報では、本菌からのコラゲナーゼ (discolysin) の生産条件および性質 (特に、動物細胞分散活性) について、市販標品と比較検討したもので報告する。

2) 方法 *S.* sp. C-51 株の培養は、29℃で30時間好氣的に行った。コラゲナーゼ活性は不溶性コラーゲンを基質として、反応上清中のアミノ基をニンヒトリン発色により定量しロイシン換算して求めた。細胞分散活性の検討に使用した discolysin は、培養液を硫酸分画 (60% 飽和) して得られた粗酵素を用いた。ラット (5~6 週齢) の肝臓細胞の分散は、中村等²⁾の方法に従った。

3) 結果 コラゲナーゼの生成は、ゼラチンおよびその分解物とイーストエキスの添加で強く誘導され、early stationary phase で最大となった。discolysin は、市販標品に比べややアルカリ・高温で最大活性を示した。discolysin を用い、ラット肝臓細胞の分散活性を検討したところ、肝細胞収量 1.8×10^8 cells/肝、生残率 84% で、市販標品とほぼ同じであった。軟骨細胞、腎細胞、固形腫瘍細胞の分散活性についても比較検討した。特に、用いた腫瘍細胞の分散活性は、discolysin の方が高かった。

1) 遠藤等, 日本農芸化学会昭和 59 年度大会講演要旨集 P. 204

2) 中村等, 蛋白質核酸酵素 別冊 24 P. 55 (1981)

Production and some properties of collagenase from *Streptomyces* sp. C-51

°H. Sansawa, M. Watanuki, T. Tokumitsu, T. Yokokura, S. Murakawa, A. Endo

(Central Research Laboratory, Yakult Co., LTD *Tokyo Agric. & Technol. Univ.)

454 *Achromobacter iophagus* の生産する2種類のコラゲナーゼについて

(東宝薬品・研) ○椿原康夫・大脇一朗・中村由紀・片岡千和・森原和之

1. 目的 我々は Keil ら¹⁾の発見した *Achromobacter iophagus* の生産するコラゲナーゼの有効利用を目的として研究開発を進めている。本報では *A. iophagus* の生産する2種類のコラゲナーゼについて報告する。

2. 方法・結果 *Achromobacter iophagus* を1トタンクで培養し、培養液を限外濾過にて濃縮し粗製コラゲナーゼを得た。本コラゲナーゼは分子量の異なる2種類のコラゲナーゼを主成分とし、DE52, Sephadex G-100 のカラムクロマトグラフィーによりそれぞれを単離した。分子量は 88000 (コラゲナーゼ A) と 80000 (コラゲナーゼ B) であり、いずれも合成基質 (PZ-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg, Z-Gly-Pro-Gly-Gly-Pro-Ala) と天然基質 (コラーゲン) に特異的に作用した。比活性に差異は見られなかった。Lot 間で A, B の組成に大きな変動が見られた。一方、粗製コラゲナーゼを 37° でインキュベートすると、コラゲナーゼ A より B が生成した。単離したコラゲナーゼ A からは B の生成は見られず、混在プロテアーゼによる作用と推論された。

1) Lecroisey, A., Keil-Dlouha, V., Woods, D. R., Perrin, D. and Keil, B. (1975) FEBS Lett. 59, 167-172.

2) Keil-Dlouha, V. (1976) Biochim. Biophys. Acta 429, 229-251.