

124

Bacillus stearothermophilus TRS128 の分泌する耐熱性 Pullulanase

(阪大・工・醗酵, 江崎グリコ生化研*) ○栗木 隆, 岡田茂孝*, 今中忠行

1) 目的 好熱性 Bacillus 属細菌は熱や化学的変性剤に対して安定な種々の酵素を生産することが知られている。また B. stearothermophilus は、①多数の菌体外酵素を分泌する、②宿主・ベクター系の開発、利用に関する知見が多い、③安全性が高い、などの点からも工業的応用価値が高いと考えられる。本研究では耐熱性 pullulanase を生産する B. stearothermophilus TRS128 を自然界から分離し、本酵素の精製ならびに諸性質の検討を行った。

2) 方法および結果 土壌や堆肥等の試料より 60℃で生育し、かつ pullulan 分解能を有する細菌を多数分離した。このうち TRS128 株は生育上限温度 70℃、グラム陽性、内生孢子を有しカタラーゼ陽性等の性質より B. stearothermophilus と同定した。Pullulanase 生産に適した炭素源について検討したが顕著に誘導のかかるものはなく、可溶性デンプン 3.0%、trypton 1.0%、yeast ex. 0.5%、NaCl 0.5% (pH 7.3) を基本培地とした。本培地において TRS128 株を 60℃ 1.6 時間培養し、この上清を硫酸分画 (35% - 55% 飽和) した後、DEAE cellulose、ゲルろ過、最後にアフィニティークロマトグラフィーにより SDS-PAGE で単一バンドを示すまでに精製した。本酵素の分子量は 83,000 と推定され、pullulan からの主生成物は maltotriose であった。0.8% pullulan を基質としたとき反応の至適温度は 65℃付近であり、基質不存在下で pH 6.5、65℃ 60 分間の処理後も 90% 程度の活性を維持していた。反応の至適 pH はおよそ 6.0、安定 pH 域は 6.5 - 7.5 付近であった。

Thermostable Pullulanase from Bacillus stearothermophilus TRS128

Takashi Kuriki, Shigetaka Okada and Tadayuki Imanaka (Department of Fermentation Technology, Faculty of Engineering, Osaka University. * Ezaki Glico, Biochemical Research Laboratories)

125

Penicillium lanosum OGR-1 の生産する生澱粉分解酵素

(大関総研) °神田聡・次地正昭・本馬健光・布川弥太郎

1) 目的 生澱粉の無蒸着発酵は、澱粉質原料を利用する上で“省エネルギー的に有効”であり、またその反応機構は非常に興味深い。そこで私達は、新規な生澱粉分解菌 Penicillium lanosum OGR-1 を取得し、これを利用した生澱粉の無蒸着糖化を検討した。

2) 方法及び結果 土壌より本菌 OGR-1 をスクリーニングし、その生産する生澱粉分解酵素について調べたところ、耐熱性・耐酸性にすぐれ、グルコースを主に生成し、生澱粉の加水分解率も高いことがわかった。また本粗酵素は、各種澱粉をよく分解し、最も活性の高い米生澱粉については、30%濃度でも80%加水分解できた。また、生米・生糠も加水分解可能であることがわかり、これらを基質として無蒸着アルコール発酵を行なったところ、並行複発酵形式で、基質濃度24%(%)から、それぞれ11~12%(%)のエタノールが生成した。

一方、本菌由来の生澱粉分解酵素について、その性質とアミラーゼKによる促進作用を調べるために、本粗酵素を固定化タンニン・PBE94・フェニルセファローソなどの担体を用いて精製した。分子量8万、等電点5.8の糖タンパクである本酵素は、生澱粉からグルコースのみを生成し、アミラーゼKを併用しても同様の結果であり、明らかに糊化澱粉を基質とした場合と反応生成物が異なることがわかった。

Study on Raw Starch Saccharifying Enzyme from Penicillium lanosum OGR-1

°Satoshi Kanda, Masaaki Hamachi, Takemitsu Honma, Yataro Nunokawa

(General Research Institute, Ozeki Sake Brewing Co., 4-9, Imazu Dezaike-cho, Nishinomiya-shi, Hyogo-ken, 663)