

7. 酶 素

Enzymes

7-1 糖関連加水分解酵素

7-1-1 アミラーゼ

Lactobacillus cellobiosus D-39 による α -amylase 生成は、pH 7.0, 37°C において、glycogen あるいは starch, nicotinic acid, Tween 80 を培地に加えることによって促進され、また、 Ca^{2+} は酵素生成と生育に有効であった。天然のデンプン性廃棄物の中では、腐敗したジャガイモが amylase 合成に最も効果があった。¹⁾

Taka-amylase A または *koji* α -amylase は、塩基性アミノ酸の多いタンパク質およびポリアミノ酸によく吸着される。この吸着は、酵素とタンパクの間の静電的結合であることを明らかにした。²⁾

Rhodosporidium sp. J-5B は菌体外に酸安定性および生デンプン分解性にすぐれた glucoamylase を生産した。さらに簡易洗米廃水処理試験において、本菌は良好な COD 除去率を示した。³⁾

Schizophyllum commune Fries は菌体外に糖化型 amylase を産し、特にフスマ培地に thiamine を添加した培地中で通気かく拌培養した場合に大量の糖化型 amylase を生産した。本酵素の分子量は 6.6×10^4 、至適 pH は 5.0 付近、熱安定性は 55°C までであった。本酵素は glucoamylase であろうと推測した。なお本酵素は生デンプンおよび生デンプン物質から大量の glucose を生成した。⁴⁾

Saccharomyces diastaticus は培養液中に glucoamylase を分泌し、デンプンからアルコール発酵することができる。本菌株より glucoamylase 非生産 (amy) 変異株を分離し、遺伝解析の結果、これらは 2 種類の相補グループに分けられた (amy 1 および amy 2)。amy 1 は *STA1* に変異が起り、amy 2 は glucoamylase 生産とフロック形成に関与することがわかった。⁵⁾ *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces diastaticus* およびそれらの組み換え体を用いた 4 分子分析を行い、*S. cerevisiae* から glucoamylase 非生産性にする遺伝子 *sta^o* と *INH1* を分離し、両酵母における glucoamylase 生産に関与する遺伝子は *S. cerevisiae* では *sta^o* *INH1*, *S. diastaticus* では *STA1* *inh^o* と推察した。⁶⁾ デンプン発酵性酵母 *Saccharomyces diastaticus* 5106-9A 株の分泌する glucoamylase は、分子量的に

不均一であり、二つの subunit (H と Y) から成ることが示された。H の分子量は約 68 K, 59 K, 53 K の 3 種類に区別され、subunit Y の分子量は約 14 K であった。subunit H を endoglycosidase H 処理すると分子量が 41 K となり均一になったことより、本酵素の分子量の不均一性は subunit H の糖鎖の不均一性によることが示された。さらに subunit Y は強い疎水性を示した。⁷⁾ 酵母 *S. diastaticus* YIV 2-120 の glucoamylase 遺伝子 (*STA1*) を持つプラスミド *pSTA1* により、酵母 *Saccharomyces pombe* HM 123 をデンプン発酵性に形質転換した。形質転換株 (*S. pombe*) の生産、分泌する glucoamylase は活性の至適条件 (pH, 温度)、熱安定性および *S. diastaticus* の glucoamylase に対するモノクローナル抗体に反応することにより、*S. diastaticus* の glucoamylase と同一であると認められた。このことは *S. diastaticus* の glucoamylase が、*S. pombe* 内で正確にプロセシングされたことを示し、両酵母間におけるタンパクの分泌機構の共通性を強く示唆するものである。⁸⁾

glucoamylase による amylose 分解反応において重合度 2~10 の基質を用いて速度パラメーター (Michaelis 定数 $K_{m,i}$ および分子活性 $k_{o,i}$) に及ぼす重合度の影響を実験的に検討した。さらに、amylose に対する glucoamylase および α -amylase の重合度 11 以上の基質に対する速度パラメーターを計算するための実験式を提出了。また、両酵素による分解反応に対する初発数平均重合度の影響と amylose を分解し、目的の glucose への反応率を得るに要する時間を最短にする操作条件を検討した。この結果により、両酵素を同時に作用させるより、 α -amylase・glucoamylase の順で逐次的に分解する方が有利であることを示し、さらに目的の glucose への反応率に達するまでの操作時間を最短にするための α -amylase から glucoamylase への酵素切り替え時の基質の数平均重合度を決定した。¹⁰⁾

exo 型 glucoamylase と endo 型 α -amylase の複合酵素系による可溶性デンプンの加水分解反応を pH 5.1, 温度 40°C で行った場合、glucoamylase の場合の Michaelis 定数よりも大きいデンプン濃度において、glucose 生成速度は各酵素による生成速度の和で表さ

れた。コラーゲン膜内の複合固定化酵素による反応では、2種の amylase による協同結果はオリゴ糖の生成に認められ、glucose 生成には認められなかった。可溶性 α -amylase と固定化 glucoamylase の複合酵素系による glucose 生成速度は、固定化 glucoamylase 単独の場合よりも大であった。¹¹⁾

7-1-2 α -グルコシダーゼ

ビール酵母 α -glucosidase II と本酵素の rose bengal を増感剤とする光酸化と diethylpyrocarbonate 処理により得た酵素タンパクの物理化学的性質の比較を行い、本酵素の触媒機能には少なくとも1個の His 残基が必要であることを示唆した。¹²⁾

quercetin, myricetin, fisetin, quercitrin は 0.1 mM で α -glucosidase を強く阻害した。quercetin, quercitrin の阻害様式は非拮抗型に近い混合型であり、fisetin, naringenin, morin の阻害様式は混合型であった。本研究に用いた flavonoid 類は 0.1 mM では β -fructosidase に対してあまり影響を与えたかった。さらに構造と阻害活性の関係についても考察した。¹³⁾

Pycnoporus cinnabarinus の生産する α -galactosidase の分子量は、ゲルろ過法により約 2.1×10^5 , SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法により約 5.2×10^4 と推定した。本酵素の最適 pH は 5.0, 最適温度は 75°C であり、pH 5.0 で 75°C の加熱に対し数時間安定であった。本酵素は *n*-nitrophenyl α -D-galactoside, melibiose, raffinose, stachyose を分解し、その K_m 値はそれぞれ 0.31 mM, 0.80 mM, 2.16 mM, 1.15 mM であった。酵素活性は Ag⁺, Hg²⁺, ρ -chloromercuribenzoate, galactose, melibiose により強く阻害された。本酵素は転移反応も触媒すると考えた。¹⁴⁾ さらに本酵素は、培養ろ液から硫安塩析、熱処理 (75°C, 30分間), および DEAE-Sephadex A-50, Sephadex G-150 によるカラムクロマトグラフィーを用いて簡便に収率よく精製した。¹⁵⁾

7-1-3 β -ガラクトシダーゼ

Bacillus circulans 起源の2種類の β -galactosidase (I, II) は、それぞれ單一タンパクであり、分子量は 2.4×10^5 (I), 1.6×10^5 (II) と算出された。両酵素の等電点、至適 pH はほぼ同じで 4.5, および 6.0 であったが、 K_m 値、基質特異性、とくにオリゴ糖生成活性は著しく異なっていた。 β -galactosidase II は 2 から 5 糖類より成る多量の galactooligosaccharide を生成し、4.56% lactose を基質とした場合、最大 41% のオリゴ糖が得られた。一方、 β -galactosidase I は、最大

6% のオリゴ糖を生成した。¹⁶⁾

7-1-4 セルラーゼ

Trichoderma longibrachiatum は、C₁ cellulase および C_x cellulase を *Scytalidium lignicola* に比べてそれぞれ 6.1 倍および 1.5 倍多量に生産したが、 β -glucosidase 生産量は 15% に過ぎなかった。両菌株を混合培養した結果、C₁ cellulase および C_x cellulase 生産量はさらに 40% 上昇し、また β -glucosidase 生産量も 137% 上昇した。¹⁷⁾

Trichoderma reesei の cellulase 構成的生産変異株の分離に修正寒天ブロック法を適用して得た構成変異株 C-5 は、cellulase 酵素複合体の 3 種 (endo- β -(1-4)glucan glucanase, exo- β -(1-4)glucanase (cellobiohydrolyase および celohydrolase) および β -glucosidase) を glucose, sucrose, mannose, soluble starch および sorbose のような可溶性、非誘導性糖類で生成した。1% glucose と 1% sorbose 混合物は最大のろ紙分解活性 1.8 I.U./ml 培養ろ液を示した。cellulose の生分解における構成性 cellulase 生産の重要性を論じた。¹⁸⁾

アルコール発酵性カビである *Rhizopus javanicus* ATCC 44037 の生産する cellulase の CMC, xylan, Avicel, ロ紙に対する相対的分解活性は、各々、100, 88, 36, 12 であった。CMC は菌の発育には阻害的であったが、cellulase 合成には必要で、CMC 濃度 0.4% で発育したときに最大の比活性が得られた。一方、glucose は発育を促進するが、cellulase 合成には阻害的であり、さらに β -glucosidase 合成も阻害した。¹⁹⁾

Aspergillus aculeatus F-50 の培養ろ液から hydrated cellulose にのみ作用する hydrocellulase を単離した。本酵素は pI を 3.5 に有し、酸性アミノ酸に富み、8% の糖を含んでいた。不溶性 celooligosaccharide に対する最適 pH は 2.5, 最適温度は 60°C であった。不溶性 celooligosaccharide から主に cellobiose を生成し、glucose を 20 mol% 程度生成した。本酵素は、水溶性 celooligosaccharide に対して鎖長の長いほど高い活性を示した。本酵素は、CM-cellulose や Avicel にほとんど作用せず、endo-glucanase, β -glucosidase と組み合わせると、反応初期に著しい相乗作用を示すが、Avicel を 9% 程度しか分解しなかった。これらの結果は、hydrocellulase が cellobiohydrolase とは異なる作用機作を持つことを示唆した。²⁰⁾

almond β -glucosidase を低温放射線重合法により固定化した。活性保持に最も有効な固定化酵素の組成は、polyvinyl alcohol : magnesium acrylate + Bis : 酸

素液 = 2 : 2 : 1 であった。固定化酵素は、free enzyme に比較して、安定性の増大、最適作用 pH の 4.5から5.2の偏倚、安定 pH 域の増大、最適作用温度は 5.5°C であるが、安定温度域は増大し、cellobiose に対する見かけの K_m 値は 20.8 mM から 5.6 mM に変化した。²¹⁾

7-1-5 マンナナーゼ

Streptomyces no. 17 の菌体外 mannanase I, II, III および IV の 4 画分を得た。mannanase IV は四つの酵素活性の総和の 64.4% を占めた。精製 mannanase IV の copra mannan 分解の至適条件は pH 6.8, 57°C であり、pH 3.65 に等電点を有し、分子量は 4.29×10^4 であった。本酵素は Al^{3+} , Hg^{2+} , Fe^{3+} , Cd^{2+} , Sn^{3+} , Cu^{2+} および Ag^+ により、著しく不活性化され、また iodoacetic acid, *N*-bromosuccinimide で完全に失活した。一方、本酵素は、mannotriose および mannotetraose を mannose と mannobiose に水解したが、mannobiose を水解しなかった。²²⁾

Konjac glucomannan の *Streptomyces* sp. の β -mannanase による加水分解物から単離した glucomanno-oligosaccharide の構造は $O\text{-}\beta\text{-D-Glu-(1 \rightarrow 4)\text{-D-Man}}$, $O\text{-}\beta\text{-D-Glu-(1 \rightarrow 4)\text{-O\text{-}\beta\text{-D-Man-(1 \rightarrow 4)\text{-D-Man}}$ および $O\text{-}\beta\text{-D-Glu-(1 \rightarrow 4)\text{-O\text{-}\beta\text{-D-Glu-(1 \rightarrow 4)\text{-O\text{-}\beta\text{-D-Man-(1 \rightarrow 4)\text{-D-Man}}$ であった。これらの糖の構造を基にして、同 glucomannan に対する *Streptomyces* sp. の mannanase の作用様式につき考察した。²³⁾

7-1-6 アラビナーゼ

Erwinia carotovora IAM 1024 を arabinan を含む培養液に培養し、そのろ液から arabinase を精製した。本酵素は beet arabinan に活性があったが、1,5-arabinan, arabinoxylan, arabinogalactan, p -nitrophenyl α -L-arabinofuranoside に対して不活性であった。本酵素の最適 pH は 6.0 であり、pH 5.0~11.0 で安定であった。本酵素が beet arabinan に作用したとき、arabinotriose が主生産物であった。²⁴⁾

7-1-7 キシラナーゼ

高温性 *Aspergillus fumigatus* による β -xylosidase および *Humicola lanuginosa* による xylanase の生産条件を検討した。両酵素の反応最適温度は 65°C であり、最適 pH は β -xylosidase では 4.5~5.5, xylanase では 5.0~6.0 の範囲であった。*A. fumigatus* の生成する酵素は xylan を主に xylose に加水分解し、*H. lanuginosa* のものでは xylan を主に xylooligosac-

charide に加水分解した。²⁵⁾ *H. lanuginosa* の麴培養物から endo-xylanase(1,4- β -D-xylan xylanohydrolase, EC 3.2.1.8) を抽出した。精製酵素の分子量は約 2.1×10^4 で、等電点は 4.1 あり、最適 pH は 6.0、最適温度は 65°C であった。本酵素の xylan に対する Michaelis 定数は 7.3 mg/ml あり、xylobiose は xylanase に拮抗阻害を示し、 K_i は 1.4 mg/ml であった。²⁶⁾

Streptomyces sp. KT-23 株の生産する菌体外 xylanase の精製と性質について検討した。本精製 xylanase は、1 本のポリペプチド鎖からなる分子量約 4.3×10^4 、等電点 pH 6.9 のタンパク質で、至適 pH は 5.5、至適温度は 55°C であった。本酵素は β -1, 4-xylosido 結合をもつ多糖、すなわち、xylan および arabinoxylan にのみ作用した。本酵素の xylan に対する作用様式は endo 型で、最終生成物は主に xylobiose であった。²⁷⁾

Cryptococcus flavus の xylanase 生産において inducer の検索を試みた。xylan よりも有効な inducer として β -methylxyloside は強力な xylanase 誘導効果を示した。glucose を炭素源とする培地に β -methylxyloside を 0.30 mg/ml の濃度で添加し、培養するとき培養液中の xylanase 活性は、xylose や xylan 培地の場合に比し、約 15~20 倍増加した。inducer として添加した β -methylxyloside の約 90% は菌体内に取り込まれ、酵素生産終了時においてもそのほとんどは菌体内に残存していた。本菌株は β -methylxyloside を单一炭素源とする培地では増殖せず、 β -methylxyloside は非代謝性の inducer であることが示唆された。²⁸⁾ 本菌株の生産する xylanase は、分子量約 2.5×10^4 、等電点は 10.0 付近にあり、アミノ酸組成においては、特に glutamic acid の含量が高かった。至適 pH は 4.5、pH 3~8 の間で安定であり、至適温度は 55°C, 45°C 以下で安定であった。酵素活性は、 HgCl_2 , SDS, NBS などにより阻害された。種々の xylooligosaccharide および xylan に対する作用様式から、本酵素は endo 型に属する xylanase と考えられた。²⁹⁾

7-1-8 β -キシリシダーゼ

Trichoderma viride の β -xylosidase は、耐糖性に乏しいことが知られており、酵素の精製を行い、その性質を検討した。本精製酵素の分子量は、 $1.01 \times 10^5 \pm 3 \times 10^3$ と推定され、4.5% の糖を含んでおり、等電点は 4.45 であった。本酵素の至適 pH は 3.5 で、55°C で最高活性を示した。allyl- および alkyl- β -xyloside を水解し、xylan にはほとんど作用せず、xylooligosac-

charide の水解速度は、 $X_2 > X_3 > X_4 > X_5$ の順であった。³⁰⁾ *Emericella nidulans* の β -xylosidase は耐糖性に富んでいた。本精製酵素の分子量は、 $2.4 \times 10^5 \pm 6 \times 10^3$ と推定され、等電点は 3.25 を示し、4.0% の糖を含んでいた。本酵素の至適 pH 域は pH 4.5~5 であり、至適温度は 55°C であった。xylan にはほとんど作用せず、xylooligosaccharide に対する水解速度は、 $X_3 > X_2 > X_4 > X_5$ の順であった。³¹⁾

7-1-9 ナリンジナーゼ

Aspergillus niger の naringinase を glutaraldehyde と sodium borohydride で chitin に固定化した。この固定化酵素でグレープフルーツジュースの処理を行うと、活性の低下がみられた。naringinase は citric acid, glucose, fructose および rhamnose で阻害された。固定化していない酵素に対する glucose および fructose の阻害様式は、非拮抗型であった。これら糖類が固定化 naringinase を不活性化する因子であった。³²⁾

7-1-10 ペクチン分解酵素

Erwinia carotovora Er の pectate lyase は、pectate lyase I (pI 10.7) と II (pI 10.1) に焦点電気泳動法により分離した。I と II の最適作用温度は 50°C と 60°C であり、pectin に対する K_m 値は 0.12 および 1.1mg/ml であった。pectate lyase I と II のアミノ酸含量および糖組成は相違した。従って pectate lyase I および II は異なるタンパクであると結論した。³³⁾

Aspergillus niger 35-1 株から 2 種類の exo-polygalacturonase (exo-PG) を得た。精製 exo-PG I および II の pectic acid に対する K_m 値はそれぞれ 20 および 3.85 mg/ml であり、exo-PG I および II の分子量はそれぞれ 6.6×10^4 と 6.3×10^4 で、等電点は 5.6 と 5.8 であった。exo-PG I および II の至適 pH は異なったが、両酵素の pH 安定性、至適温度および温度安定性は同じであった。exo-PG I は $HgCl_2$ により活性化されたが、exo-PG II は活性化されなかった。³⁴⁾

pectinase の親和性吸着体である架橋 pectic acid の調製法を検討し、epichlorohydrin による架橋反応液に 15~30% dimethyl sulfoxide を加えると、容易に高収量で水不溶性の架橋 pectic acid が得られた。酵母の endopolypgalacturonase は pH 3 付近でこの吸着体に最も強く吸着したが、より安定な pH 4 で吸着させ、pH 8 の緩衝液で脱着し、90%以上の高い収率で精製が可能であった。なお電気泳動的な分析から、精製標品が 3 種類の酵素からなることを確認した。等電点は文献値と一致した。³⁵⁾

コウゾ (*Broussonetia kazinoki* Sieb.) 白皮の *Erwinia carotovora* による発酵精練について、パルプ化挙動を溶液と纖維の両面から追跡した。この発酵精練過程において、纖維間膠着のペクチン質は、主として endo-polygalacturonase により単量体もしくは二、三量体程度の低 oligomer まで分解され、cellulose の分解はほとんど起こらず、パルプ化は比較的選択的に進行し、収率は 82~83% であった。³⁶⁾

Erwinia carotovora P2 はマセレーション活性の強い endo 型の pectate lyase (PL) を分泌して植物組織を離解し、軟腐する。P2 株は pectic acid を炭素源として振とう培養すると、PL の分泌に先立って対数増殖期の初期から相当量の digalacturonic acid を生成する exo-poly- α -D-galacturonosidase (exo-PG) を分泌した。本菌株の菌体外 exo-pectate lyase 活性は微弱であり、PL の分泌には lag が認められたが、菌体内には exo-PG 生産とほぼ同時期に菌体外 PL 活性の数十倍の PL を生産した。³⁷⁾

Galactomyces reessii L は細胞外に protopectinase を生産した。本酵素は、約 2.6% の糖を含むタンパク質で、等電点は pH 8.4, S_{20,w} 3.83S, 分子量は約 3×10^4 であった。本酵素は、種々の起源の protopectin から高分子の pectin を遊離させる活性 (protopectinase 活性) と、polygalacturonic acid や galacturonic acid oligomer を分解する活性を持っており、一種の endo-polygalacturonase であった。³⁸⁾ *Kluyveromyces* 属酵母のなかで、*K. fragilis*, *K. marxianus*, *K. wickerhamii* は endo-polygalacturonase (PG) を生産した。*K. fragilis* IFO 0288 は細胞外に分子量の異なる 4 種の PG を生産し、このなかでも最も生産量の多い PG を精製し、結晶として単離した。本酵素は pH 5.6 に等電点を持ち、沈降定数 3.77 S, 分子量約 3.3×10^4 で、aspartic acid, serine, threonine, glycine を比較的多く含むタンパク質であった。本 PG 活性の最適 pH は 5.0 で、この pH で 30°C まで安定であった。本酵素は PG 活性のほかに protopectinase 活性を持っており、種々の植物の protopectin から高分子の pectin を遊離した。³⁹⁾

7-2 プロテアーゼ

S-PI (peptatin Ac), DNA, EPNP に非感受性の新規な酸性プロテアーゼをマンネンタケ (*Ganoderma lucidum*) の静置培養液中に見出した。本酵素の分子量は 36,000, 等電点は pH 5.3 で、活性最適 pH はヘモ

グロビン基質で pH 3.2, カゼインでは2.0を示した。また、カゼイン分解活性がきわめて低く、酸化インシュリンB鎖の Phe(24)-Phe(25) 部分を約50%の高率で選択的に切断する高い特異性を示した。⁴⁰⁾

*Streptomyces cellulosa*e の生産するプロテアーゼは、16%大豆プロテインペプシン分解物 (SPH) に作用して著しい濁りを生じ、ミルクカゼイン (MC) に対する加水分解力は弱かった。本酵素と α -キモトリプシンとの MC 分解力をそろえた条件で、それぞれを SPH に作用させると、反応初期で前者は後者に比べて著しい濁りを生じ、生成沈殿物は疎水性アミノ酸含量の多いタンパク質様物質であった。⁴¹⁾ 本酵素を 2.5% ジペプチド溶液に作用させると、加水分解物と考えられるアミノ酸のほかに、ニンヒドリン陽性を示す種々のオリゴペプチドが合成された。⁴²⁾

Asp. oryzae メタルプロテアーゼをタロペプチン-AH-セファロース アフィニティ クロマトグラフィーを用いて簡単迅速に精製した。本酵素は最適 pH 6.5, pH 安定性が pH 5~11, 最適作用温度 50°C, 分子量は 42,000 であった。また、本酵素はメタルプロテアーゼ阻害剤、FMPI と PLT によりほぼ定量的に阻害された。⁴³⁾

好アルカリ性 *Bacillus* 属が生産するプロテアーゼは至適作用 pH が12のアルカリプロテアーゼで、50°C 以下では pH 7~11 の範囲で安定であり、カルシウムイオンの共存によって熱安定性が向上し、共存下の至適反応温度は 60°C に達した。⁴⁴⁾

Monascus 属菌のプロテアーゼを紅麹から抽出、精製した。精製酵素の分子量は約42,000で、反応の最適 pH は3.0であった。ヘモグロビンやミルクカゼインによく作用し、ペプスタチンによって顕著に阻害され、その阻害様式は拮抗型で、 K_i 値は 26 nM であった。⁴⁵⁾

Streptococcus faecalis R (ATCC 8043) の菌体内に、N^a-Z (benzyloxycarbonyl)-Gly および N^a-Z-Ala の Z 基を水解除去する酵素を発見し精製した。精製酵素の分子量は約220,000, pI は4.48, 至適 pH および至適温度はそれぞれ6.0, 35°C であった。PCMB で阻害され、活性発現に Co²⁺ または Zn²⁺ を必要とした。さらに基質特異性について詳しく検討した。⁴⁶⁾

シイタケ (*Lentinus edodes*) の子実体中に生産される酸性プロテアーゼを単離・精製した。本酵素は分子量42,000, 等電点 pH 4.5 で、リジンとヒスチジン残基を多く含む。反応至適 pH は2.5~2.8で、その活性は S-PI (pepostatin Ac) により阻害された。酸化イン

シュリンB鎖の Leu(15)-Tyr(16) 部分を約70%の高率で選択的に切断した。⁴⁷⁾

Streptococcus cremoris H 61 の菌体内抽出物から分子量43,000のプロリダーゼを精製した。本酵素の最適 pH は 6.5~7.5 に認められ、X-Pro タイプのジペプチドを特異的に分解した。4 種類の基質 Leu-Pro, Phe-Pro, Val-Pro, Ala-Pro について、 K_m 値は差がなかつたが、 V_{max} 値は顕著な差が認められた。⁴⁸⁾

納豆菌 (*Bacillus subtilis* (natto)) のリボゾーム画分 (50S サブユニット画分) が、カゼインなどのタンパク質には作用しないが、過ギ酸酸化インシュリンB鎖を従来のプロテアーゼとは異なる切断様式で作用することを明らかにした。また、プロアンジオテンシンに対する作用も、従来の分泌型プロテアーゼとは異なっていた。⁴⁹⁾

変異と交雑が麹菌の細胞壁糖成分に及ぼす影響について検討した。逐次的変異によって取得した高プロテアーゼ生産能変異株において、プロテアーゼ生産能の高い菌株の方が、菌体、細胞壁グルコサミン量も高く、プロテアーゼ生産能の増加に伴い、変異株の細胞壁の Glc/Man 比は増加した。以上の結果から、変異と交雑が麹菌の細胞壁糖成分に与える変化は大きく、これに付随する菌体内成分変化の方向を知る上で重要な指標になる。⁵⁰⁾

Asp. oryzae, *Bacillus subtilis* およびブタ腎臓のアミノペプチダーゼの各種合成基質に対する作用特性が検討された。⁵¹⁾

Achromobacter プロテアーゼ I に対するアルカリ金属、アルカリ土金属、アミノ化合物、微生物生産性インヒビター、トリプシンインヒビターおよび変性剤の影響を検討した。本酵素活性は Ba²⁺, NH₄⁺, アルカリ金属類の順序で拮抗的に阻害され、ブチルアミン、アミノアミンも強力に阻害した。リマ豆トリプシンインヒビターおよびウシ臍膜塩基性インヒビターによって強く阻害されるが、尿素、塩酸グアニジン、SDS による変性に対して強い抵抗性を示した。⁵²⁾ さらに本酵素の活性中心部位、とくに基質特異性決定部位の性状を明らかにする目的で、縮合剤と求核試薬との酵素活性に対する影響、強力な拮抗阻害剤である ω -アミノアルキル基をリガンドとするアフィニティクロマトグラフィーを行い、トリプシンと比較検討した。⁵³⁾

7-3 エステラーゼ

Saccharomyces lipolytica より精製された分子量

が39,000と44,000の菌体結合リパーゼ I, II の物理化学的性質を検討した。等電点は、リパーゼ I が pH 5.2, II が pH 4.6 で、糖含量（マンノース）はそれぞれ 8%, 16% であった。CD スペクトル分析によって、リパーゼ I は α -ヘリックス 40%, β -シート 50%, II はそれぞれ 45%, 35% であった。N 末端アミノ酸は両酵素とも Val-Tyr で同一であった。⁵⁴⁾

ホスホリパーゼ D 生産菌として、菌体中に madurose を含む *Actinomadura* 属の株 (no. 362) と、madurose を持たない *Nocardiopsis* 属の株 (no. 779) を土壤より分離した。⁵⁵⁾

種々の 5-acyloxymethyl-3-alkyl-oxazolidin-2-one ラセミ体 I を合成し、リパーゼを作用させて、不斉水解反応および有機溶媒による目的物 (S)-I の抽出分離性の比較検討を行い、水解速度が速く、立体選択性に優れ、(S)-I がヘキサンで容易に抽出分離できる組み合わせを見出した。そして光学活性 β -ブロッカーの重要な中間体が光学純度 99% e. e. で得られた。⁵⁶⁾

C6～C14 のジカルボン酸と 1,3-プロパンジオールまたは 1,2-エタンジオールに *Asp. niger* NRRL 337 のリパーゼを作用させると、いずれの場合もエステルを合成できた。1,13-トリデカン二酸と 1,3-プロパンジオールからのエステル合成過程の結果から、2 分子の酸と 3 分子のジオールからなる五量体と、3 分子の酸と 4 分子のジオールからなる七量体が主として合成されることが明らかとなった。⁵⁷⁾

糖鎖の抑制型酸性フォスファターゼ (r-APase) に対する機能を知るため、r-APase から非変性条件下に、endo- β -N-acetyl-glucosaminase H 処理により糖鎖をほぼ 100% 切断した。この r-APase は酵素活性を保持し、native 酵素と同じ K_m と円偏光二色性を示したので、糖鎖は活性酵素タンパクの構造の維持に必要はないが、糖鎖のない r-APase は酸処理、熱処理により容易に失活した。⁵⁸⁾

海砂より分離した 5 株のフコイダン資化性菌は、カゴメフコイダンのほかに種々のフコイダンを資化し、また、基質特異性を異とするフコイダンスルファターを產生した。⁵⁹⁾

7-4 細胞壁溶解酵素

Streptomyces glokisporus 1829 の溶菌粗酵素中に N-acetylmuramyl-L-alanine amidase が存在していた。本酵素は分子量が約 18,500、等電点 pH 6.6、至適 pH は 5.5 で、その活性は Cu²⁺ 以外の金属イオンで影響

を受けない。糖残基鎖長が長い水溶性ペプチドグリカンに対してはほとんど作用しないので、グリカン開裂後二次的に作用する細胞壁非溶解性酵素であった。⁶⁰⁾

Streptomyces rutgersensis H-46 由来の溶菌酵素、N-acetylmuramidase の性質を *Streptococcus faecalis* の細胞壁とペプチドグリカンを基質として検討した。これら二つの基質に対する本酵素の反応次数、最適 pH、最適イオン強度、金属イオンによる阻害程度はそれぞれ異なっていたが、この差異は細胞壁中に含まれる多糖類、テイコ酸によるものと推定された。⁶¹⁾

Cytophaga sp. B-30 の生産する bacteriolytic endopeptidase を精製してその性質を検討した。本酵素は分子量約 9,000、等電点 pH 9.0、至適 pH 9.5 で、Mn²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Hg²⁺ および 2-mercaptopethanol (1 mM) で抑制されるが、EDTA などのキレート剤によって著しく促進された。また、本酵素は、溶菌活性以外にカゼイン分解活性をも有していた。⁶²⁾

Streptomyces sp. W 19-1 は、カードラン (β -1,3-グルカン) から主産物としてグルコースとゲンチオビオースを生成する菌体外放線菌酵素を生産する。ゲンチオビオース生成の至適条件では、カードランからグルコースとゲンチオビオースが重量比で約 4:1 に生成されるが、反応初期にグルコースを添加するとカードランに対するゲンチオビオースの収率は著しく增加了。⁶³⁾

溶菌酵素の粗酵素液を園芸作物に有害な微生物の抑制に利用するために、植物病原細菌 6 種の生菌と加熱菌に対する *Streptomyces rutgersensis* と *Achromobacter lunatus* の溶菌活性を検討した。これら 6 種の菌に対する両菌株の溶菌活性はいずれも反応時間の増加とともに上昇したが、両菌の溶菌活性の相乗効果は認められなかった。⁶⁴⁾

7-5 核酸関連酵素

Acinetobacter calcoaceticus の生産する endonuclease Acc II の切断部位塩基配列を、合成 5'-³²P-oligonucleotide を用いて調べた。本酵素は 5'-CG↓CG-3' を認識し、矢印の位置を切断した。⁶⁵⁾

Microbacterium flavum の endonuclease *Mfl* I を精製した。本酵素は至適 pH 8.0～8.5 で、活性発現に Mg²⁺ (7～20 mM) を要求し、5'-Pu↓GATCPy-3' を認識し、矢印の位置を切断した。⁶⁶⁾

Acetobacter liquefaciens AJ 2881 の endonuclease を精製した。本酵素は至適 pH 7.5、至適温度 37°C を示

し, NaCl (100 mM) あるいは $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (75 mM) によって阻害された。各種基質に対する切断とその切断部位塩基配列 [5'-CTGCA↓G-3'] の決定により, 本酵素は *Pst I* の isoschizomer と決定した。⁶⁷⁾

エノキタケ *Flammulina velutipes* 子実体の alkaline phosphodiesterase (PDEase) および ATP 感受性 ribonuclease (RNase) を精製した。PDEase は分子量 53,000, 至適 pH 8.0 で, bis-*p*-nitrophenyl phosphate および *p*-nitrophenyl deoxythymidine 5'-phosphate に対する K_m 値はそれぞれ 2.5×10^{-4} M および 9.0×10^{-5} M であった。また, RNA および DNA は分解しなかったが, nucleotide はよく分解した。一方, RNase は分子量 35,000, 至適 pH 5.5 で, 1 mM の ATP, CTP および GTP でそれぞれ 91%, 75% および 63% 阻害された。また, RNA をほぼ 100% mononucleotide に分解し, その様式は RNA → 2', 3'-cyclic nucleotide → 3'-nucleotide のエンド型であった。^{68,69)}

S-adenosylhomocysteine (AHcy) hydrolase 活性の強力な *Alcaligenes faecalis* AKU 101 の洗浄菌体を用い, adenosine と L-homocysteine とから高収率で AHcy を合成した。本法は formycin A や neburalin などに対応する *S*-nucleosidyl homocysteine の合成にも応用できた。⁷⁰⁾

抗腫瘍性物質 antlermicin A の *Bacillus subtilis* に対する作用を調べた。本物質は RNA 合成を阻害したが, uridine および uridine nucleotide 合成は阻害せず, RNA polymerase 活性を高濃度で阻害した。⁷¹⁾

Escherichia coli の RNA polymerase を調べた。本酵素は 4 種のサブユニット ($\alpha_2, \beta, \beta', \delta$) から構成され, δ サブユニットは α -ヘリックス含量が最も多く, また, α_2 サブユニットの芳香族アミノ残基の配向は非対称と推定された。⁷²⁾

高温性細菌 *Bacillus stearothermophilus* の tyrosyl-tRNA synthetase を 2 段階のアフィニティクロマトで大量に精製する方法を検討した。第 2 段目に Matrix blue A を用いた場合, 25,900 倍に精製することができた。また, カラムの直径をスケールアップした場合, 精製度合は低下したが, KCl 濃度を増大することによって溶出ピークを鋭くすることができた。⁷³⁾

7-6 アミノ酸関連酵素

glutamate を唯一の窒素源として生育した *Brevibacterium flavum* ATCC 14067 の無細胞抽出液中に glutamine synthetase, glutamate dehydrogenase およ

び glutamate synthetase (GSase) 活性を見出し, これらをそれぞれ精製した。GSase は分子量 260,000 で, 分子量 190,000 と 60,000 の 2 種のサブユニットから構成され, 8 モルの Fe, 2 モルの FMN および 2 モルの FAD を含み, 至適 pH 7.0, glutamine, α -KGA および NADPH に対する K_m 値はそれぞれ 2.4×10^{-4} M, 6.0×10^{-5} M および 6.0×10^{-5} M であった。また, SH 阻害剤, Phe, His, Lys, Met, Glu などのアミノ酸類および NADP, ATP, malate によって阻害された。なお, 本酵素活性は hexa-uni ping pong 機構と考えられた。⁷⁴⁻⁷⁶⁾

L-methionine γ -lyase 活性を持つ微生物を検索し, *Pseudomonas putida* の約 10 倍の活性を持つ *Aeromonas* 属の 1 菌株を選択した。本菌株の当該酵素は *Pseudomonas* のそれと基質特異性において若干異なっていた以外は, よく類似していた。⁷⁷⁾

aspartate aminotransferase (AATase) の 2 種のアイソザイムの一方に特異的に作用して不活性化させる微生物として, *Streptomyces violaceochromogenes* を選択した。本菌の当該活性はミトコンドリア AATase には作用しなかったが, 細胞質 AATpse を不活性化し, この反応は酵素の限定分解であり, 一種の serine protease であった。⁷⁸⁾

Euglena gracilis Z の arginine deiminase を精製した。本酵素は分子量 87,000 で, 等しい 2 個のサブユニットから構成され, 至適 pH 9.7~10.3, 至適温度 30°C で, 活性発現に Co^{2+} を要求し, SH 阻害剤, ornithine および citrulline によって顕著に阻害された。また, α 位にアミノ酸を持つ arginine アナログによっても阻害された。⁷⁹⁾

L-glutamate oxidase と L-glutamine あるいは L-leucyl-L-glutamate をセル中に密封した酸素電極を用い, glutaminase および leucine amino peptidase を反応系へ加えた時の酸素消費速度を測定することによって, 両酵素活性を簡便に測定することができた。⁸⁰⁾

Bacillus sphaericus の leucine dehydrogenase に対する pyridoxal 5'-phosphate (PLP) による失活様式を調べた。失活は処理 pH に依存し, pH 8.0 で最も効果的であった。この失活は, 本酵素の lysine 残基の ϵ -アミノ基が PLP とシップ塩基を形成することによって可逆的に起こり, PLP によって修飾される lysine 残基は, 準酵素結合部またはその近辺に存在すると推定された。⁸¹⁾

Corynebacterium glutamicum の lysine 合成系を [1-

^{13}C] glucose を用いて調べた。本菌は diaminopimelate (DAP) 経路の他に、直接 meso-DAP を生成する経路を持ち、その無細胞抽出液中には meso- α , ϵ -DAP dehydrogenase の存在が認められた。⁸²⁾

7-7 酸化還元酵素

methanol を炭素源として生育した *Rhodopseudomonas acidophila* 10050 株および vanylalcohol (VA) を炭素源として生育した *R. acidophila* M 402 株から、それぞれの alcohol dehydrogenase を精製し、両酵素の基質特異性を比較した。前者は O_2 によって不活性化され、 N_2 によって回復するのに対して、後者は O_2 によって不活性化されなかった。また、両者は methanol および VA に対して全く逆の活性を示した。⁸³⁾

Rhodopseudomonas acidophila M 402 の NAD⁺ 依存 p -hydroxybenzylalcohol (p HBA) dehydrogenase を精製した。本酵素は分子量 27,000, 等電点 7.4 で、 p HBA によって誘導され、基質特異性は幅広く、vanylalcohol (VA) など芳香族アルコールの他に methanol および ethanol 以外の脂肪族アルコール類にも作用した。NAD⁺ に対する K_m 値は $5.8 \times 10^{-4} \text{ M}$ (p HBA) および $6.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ (VA) であった。⁸⁴⁾

Cellulomonas sp. NT 3060 の glycerol dehydrogenase を結晶化した。分子量は 336,000 で、分子量 42,000 の 8 個の等しいサブユニットで構成され、サブユニットの N 末端および C 末端アミノ酸はそれぞれ Ser および His であった。1,2-propanediol の酸化反応は K⁺ によって活性化され、その K_m 値は $2.02 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、また、acetol の還元反応は Na⁺ によって活性化され、その K_m 値は $3.22 \times 10^{-5} \text{ M}$ であった。⁸⁵⁾

Micrococcus luteus の 2,3-butanediol (BD) dehydrogenase は D(-)-acetoin を光学活性 BD(I) に、また、L(+)-acetoin を meso-BD(II) にそれぞれ 98% の率で変換した。生成 I および II はガスクロマトグラフィーで分別定量が可能であるため、酵素変換と組み合わせることによって acetoin の異性体を分別定量できた。また、同様にして BD の 3 種の異性体 [(-), (+), meso] を *Brevibacterium saccharolyticum* C1012 の BD dehydrogenase を用いて分別定量できた。^{86,87)}

Microcyclus eburneus から調製した propylene glycol (PG) dehydrogenase を用いて、食品中の PG 定量法を検討した。PG を 100% 酸化するのに要する酵素量は 0.06 unit 以上であった。PG を食品に添加し、本法による回収率を調べたところ 95~99% であり、本法の

検出限界は 2 μg (PG) であった。⁸⁸⁾

Pseudomonas putida C-83 の formaldehyde (FA) dehydrogenase を精製した。本酵素は FA に最も強力に作用し (至適 pH 8.9)，アルキル側鎖の増大とともに活性は低下し、 n -butylaldehyde には全く作用しなかった。また、 n -pentanol などのアルコール類に對しても活性を示した (至適 pH 10.8) が、methanol, ethanol には作用しなかった。⁸⁹⁾

Kloeckera 起源の formate dehydrogenase を低温放射線重合法で固定化した。固定化により至適 pH, 至適温度、熱安定性、pH 安定性はほとんど変化しなかったが、NAD⁺ に対する K_m 値は約 5 倍に上昇した。また、凍結乾燥した固定化酵素は、5°C で 13か月間保存することができた。⁹⁰⁾

Pseudomonas putida F61 の formaldehyde (FA) dismutase を調べた。本酵素は FA と propionaldehyde, acrolein, butylaldehyde あるいは crotonaldehyde との間のクロス不均化反応を触媒し、また、alcohol: aldehyde 酸化還元反応をも触媒し、カルボニル試薬、還元剤および SH 試薬によって阻害された。なお、本酵素の N 末端および C 末端は Arg および -Ser-Gly-Lys であった。⁹¹⁾

Gluconobacter dioxyacetonicus IFO 3271 の D-gluconate (GA) dehydrogenase を精製した。本酵素は結合型 flavin と cytochrome C との複合体で、分子量 64,000, 45,000 および 21,000 の 3 種のサブユニットから構成され、至適 pH 6.0, 至適温度 40°C で、GA に対してのみ作用し、その K_m 値は $2.2 \times 10^{-3} \text{ M}$ であった。⁹²⁾

Peptococcus aerogenes の NAD⁺ 依存 α -hydroxyglutarate (HGA) dehydrogenase を結晶化した。本酵素は分子量 53,000 で 2 個の等しいサブユニットから構成され、等電点 3.7 ± 0.1 、至適 pH 8.8 (還元反応) および 9.5 (脱水素反応) で、 α -KGA, NADH, HGA および NAD⁺ に対する K_m 値はそれぞれ $1.2 \times 10^{-4} \text{ M}$, $2.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, $6.7 \times 10^{-4} \text{ M}$ および $7.7 \times 10^{-5} \text{ M}$ であった。⁹³⁾

Neurospora crassa における野生株と nit-3 株との nitrate reductase (NRase) 活性を比較した。nit-3 株は野生株と異なり、NADPH の代わりに還元型 methylviologen (RMV) だけを電子供与体として利用した。RMV-nitrate 還元活性は 43°C で処理すると、野生株では約 2 倍に増大したが、nit-3 株では変化しなかった。野生株の NRase は加温処理によって分子の一部が解離し、nit-3 株のそれへと変化するものと思われ

る。⁹⁴⁾

Hansenula anomala の *in vivo* における不活性型 nitrate reductase を調べた。本酵素は O_2^- が関与して ferricyanide によって活性化され、活性型の存在割合は菌体の生育に関連して変動した。⁹⁵⁾

Mucor griseoelyanus AHU 6044 の NADPH および NADH 依存 2-alkenal reductase を精製した。本酵素は分子量26,000, 至適 pH 6.5 で, 2-heptenal, 2-octenal のそれぞれ *cis* 体に高い特異性を示し, acrolein や *trans*-2-cinnamaldehyde にも作用した。⁹⁶⁾

Aspergillus niger 起源 glucose oxidase のアポ酵素を diethylprocarbonate (DEPC) で化学修飾し、活性部位を調べた。アポ酵素は DEPC で修飾されると不活性化し、これに関係したアミノ酸残基は 2 モルの His ($pK_a=8.2$) と 2 モルの SH ($pK_a \approx 7.5$) であった。これらは imidazolethiolate ion-pair を形成しているものと推定された。⁹⁷⁾

Candida sp. no. 16 の細胞内 alcohol oxidase (AO), catalase および formaldehyde dehydrogenase の比活性に及ぼす methanol の影響を調べた。methanol 3 ~4%以上の濃度は細胞内 AO を不活性化し、methanol を消費する生育を著しく阻害した。⁹⁸⁾

polyethylene glycol (PEG) 資化性細菌群における PEG-oxidase 活性を調べた。本活性は 2,6-dichlorophenolindophenol 依存性と非依存性とが認められ、各菌株の酵素の PEG に対する基質特異性はそれぞれの菌の生育基質特異性によく似ていた。また、tetraethylene glycol (TEG) からの反応生成物は TEG-monocarboxylate, TEG-dicarboxylate および triethylene glycol であった。⁹⁹⁾

Hansenula mrakii の 2-nitropropane dioxygenase を精製した。本酵素は分子量42,000で、1 モルの FAD を含み、至適 pH 6.5 を示し、解離型 nitroalkane に対して高い活性を示した。また、2-nitropropane, 1-nitropropane, nitroethane および 3-nitro-2-butanol に対する K_m 値はそれぞれ 1.61×10^{-3} M, 3.23×10^{-3} M, 3.13×10^{-3} M および 5.9×10^{-4} M であった。^{100,101)}

aniline に生育した *Rhodococcus erythropolis* AN-13 の無細胞抽出液から、catechol 1,2-dioxygenase を精製した。本酵素は分子量36,000~37,000で、1 モル当たり 3 モルの SH 基を持ち、至適 pH 7.5 を示し、 $AgNO_3$, $HgCl_2$, ρ CMB, iodoacetate によって阻害された。また、本酵素は 3- および 5-methyl catechol の *in*-tradiol 開裂反応を触媒したが、3-methyl catechol の

extradiol 開裂反応は触媒しなかった。なお、本菌の休止菌体は aniline の O 位を酸化し、anthranilate を生成する能力をも持っていた。^{102,103)}

aniline に生育した *Frateturia* sp. ANA-18 の無細胞抽出液から 2 種の catechol 1,2-dioxygenase (CD I および CD II) を精製した。CD I は 1 モル当たり 2 モルの SH 基を持ち、 $AgNO_3$, $HgCl_2$, iodoacetate, ρ -CMB によって阻害されたが、CD II は SH 基を持たず、上記の阻害剤の影響も受けなかった。¹⁰⁴⁾

Pseudomonas putida RB-4 の ρ -hydroxybenzoate (ρ -HBA) hydroxylase (ρ -HBAase) および protocatechuate (PCA) 3,4-dioxygenase (PROase) を精製した。 ρ HBAase は分子量40,000で、1 モル当たり 1 モルの FAD を含み、 ρ HBA および NADPH に対する K_m 値は 3.9×10^{-5} M および 6.2×10^{-5} M であった。また、PROase は分子量500,000で分子量24,000の等しいサブユニット20個で構成され、1 モル当たり 5 モルの非ヘム鉄を含有し、PCA に対する K_m 値は 1.82×10^{-5} M であった。¹⁰⁵⁾

Nocardia erythropolis の protocatechuate 3,4-dioxygenase を精製した。本酵素は分子量150,000, 至適 pH 8.0, 至適温度 40°C で, Hg^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} などの重金属イオンによって阻害された。本酵素の基質特異性は *O*-dihydroxyphenyl 化合物に対して幅広かった。¹⁰⁶⁾

7-8 糖代謝および TCA 関連酵素

Euglena gracilis の細胞質中に pyrophosphate : D-fructose 6-phosphate phosphotransferase (PFPase) および phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPase) を見出した。PFPase は至適 pH 6.5 で、ATP とは反応せず、生育全期間中 phosphofructokinase (至適 pH 8.0) の約10~30倍程度の活性を示した。また、PEPase は活性発現に GTP または GDP および二価金属を要求し、quinolate によって阻害された。なお、PEPase は光独立栄養系では全く存在せず、糖を含んだ従属栄養系では弱く、ethanol を含んだ従属栄養系で最大であり、糖新生のための oxaloacetate から phosphoenolpyruvate を生成する反応に寄与していると考えられた。^{107,108)}

phosphoenolpyruvate carboxylase 遺伝子を含むハイブリッドプラスミドを保持した *Escherichia coli* K-12 の当該酵素を簡単迅速に精製する方法を検討した。硫安塩析処理して得た粗酵素を、hexyl-Sepharose

を用いる hydrophobic クロマトによって精製し、4 日間にわたる操作で 137 g の湿菌体から 153 mg の純酵素を得た（収率41%）。¹⁰⁹

glucokinase 遺伝子を含むハイブリッドプラスミドを保持した *Escherichia coli* B から当該酵素を精製した。本酵素は分子量49,000で、分子量24,500の2個の等しいサブユニットから構成され、至適 pH 9.5 を示し、活性発現に Mg²⁺ および SH 基を要求した。なお、本酵素は、D-glucose, D-mannose, D-glucosamine および 2-deoxy-D-glucose のリン酸化を ATP（あるいは ITP, GTP, UTP など）の存在下に触媒した。¹¹⁰

担子菌 *Coriolus versicolor* KY 2912 の pyranose oxidase を精製した。本酵素は分子量220,000で、分子量 68,000の均一なサブユニットから構成され、FAD を含んでいた。至適 pH 6.2, 至適温度 50°C で、70°C で処理すると失活し、Ag⁺, Cu²⁺, p-CMB によって阻害された。¹¹¹

Bacillus pumilus IFO 12089 の transketolase 変異株を用いて、pyruvate とアルデヒド類とのアシロイント型縮合反応を調べた。glycolaldehyde, D-erythrose および D-threose からの反応生成物はそれぞれ 1-deoxy-erythrulose, 1-deoxy-D-fructose および 1-deoxy-D-sorbose（副成物 1-deoxy-D-tagatose）であった。また、D-glyceraldehyde およびその L-体からの反応生成物は 1-deoxy-D-threo-pentulose およびその L-体であった。なお、これらの酵素活性は細菌、放線菌、酵母、カビなどの微生物に普遍的に分布していた。^{112,113}

Gibberella fujikuroi の apogalactose oxidase に対する Cu²⁺ の影響を調べた。当該酵素を 20~80 mM の CuSO₄ と 20~60 min 接触させるとホロ酵素に転換し、その転換率は Cu²⁺ 量の対数に比例した。この現象は Cu²⁺ 濃度の定量に利用できた。¹¹⁴

Euglena gracilis SM-ZK の NADP⁺ 依存 malate dehydrogenase を調べた。当該酵素の総活性の14%はミトコンドリア (intermembrane space (IMS) 画分と matrix (M) 画分) に認められた。IMS 画分の酵素は至適 pH 6.3, 至適温度 40°C で、活性化エネルギーは 3.7 Kcal/mol, K_m 値は 1.4×10⁻⁵ M (oxaloacetate) および 3.5×10⁻⁵ M (NADPH) であった。また、M 画分の酵素の K_m 値は 3.7×10⁻⁵ M (oxaloacetate) および 6.6×10⁻⁵ M (NADPH) であった。¹¹⁵

Paecilomyces varioti の isocitrate lyase を精製した。本酵素は分子量 240,000で、分子量 60,000の均一なサブユニットから構成され、至適 pH 7.2, 至適温度 37

°C で、Mg²⁺ (または Mn²⁺) によって活性化され、threo-Ds(+)isocitrate に対する K_m 値は 1.8×10⁻⁵ M であった。なお、本活性は α-ketoglutarate によって完全に、pyruvate や oxaloacetate などによって部分的に阻害されたが、citrate の影響は受けなかった。¹¹⁶

7-9 抗生物質および生物活性物質関連酵素

Escherichia coli IFO 13500 の penicillin G (PG) 高感受性変異株 AS 2 株の penicillin acylase 活性を調べた。PG による本変異株の最少生育阻止濃度は 61 IU/ml で、親株の約 2/15 であり、PG に対する見掛けの K_m 値は 5.0×10⁻³ M で、親株の約 1/3 であった。¹¹⁷

Humicola sp. ATCC 20620 の rifamycin oxidase 生産に対する pH と glucose 濃度を調べた。glucose 濃度は 60 g/l 以上でも酵素生産には影響を与えるなかつたが、培地 pH は正確に制御する必要があった。培地を pH 7.0 に維持した場合に最大生育速度 (0.24 h⁻¹) が得られ、無制御の場合は 0.19 h⁻¹ であった。ただし、酵素生産には培地を pH 8.0 に維持する必要があった。¹¹⁸

原生動物 *Crithidia fasciculata* の folate-hydrolyzing enzyme を精製した。本酵素は分子量200,000で、分子量51,000の等しい4個のサブユニットから構成され、至適 pH 7.0 で、2-mercaptopethanol, p-CMB, キレート試薬, Hg²⁺ などの二価重金属イオン, pyrophosphate などによって阻害された。folate の他に methotrexate, aminopterin, p-aminobenzylglutamate にも作用し、それらに対する K_m 値はそれぞれ 1.3×10⁻⁴ M, 4.6×10⁻⁴ M, 4.0×10⁻⁴ M および 4.3×10⁻⁴ M であったが、2H-folate や 4H-folate には作用しなかった。また、本酵素は carbobenzoxydipeptide (Z-Phe-Ala, Z-Gly-Tyr) や carbobenzoxy-L-amino acid (Ze-Phe, Z-Gly) などにも作用した。^{119,120}

biotin を单一炭素源として生育する細菌を検索し、*Mycoplana* sp. no. 166 株を選択した。本菌は biotin によって誘導される biotinyl-CoA synthetase 活性を示し、これは biotin, ATP, CoA, Mg²⁺ を必要とした。¹²¹

7-10 その他

Erwinia carotovora の exopolysaccharide lyase を修飾架橋ペクチン酸を用いて効率よく精製した（収率43%）。本酵素は分子量76,000で、Na⁺ によって強力に活性化され、EDTA (1 mM) によって完全に阻害され、この阻害は EDTA の除去によって完全に回復

した。また、他の polyamino carbonate 類も阻害効果を示したが、triethylenetetramine だけは促進効果を示した。これらの阻害はキレート試薬と酵素分子との直接結合によって起こるものと考えられた。^{122,123)}

Erwinia carotovora の endo-pectate lyase の 4 種のアイソザイム (PATE-I, -II, -III, -IV) を精製した。分子量は 28,000 (I および III), 32,000 (II) および 33,000 (IV), 至適 pH は 9.3 (II), 9.5 (IV) および 9.7 (I および III), 等電点はともに pH 10~11 の範囲であった。なお、至適 Ca^{2+} 濃度、 K_m 値および V_{max} はいずれのアイソザイムもほぼ同程度であった。¹²⁴⁾

Trichoderma longibrachiatum の β -transglycosylase を用いて cellopentaose から水溶性 glucan を合成し、本酵素の作用機作を調べた。生成 glucan の分析の結果から、本酵素は β -1,4-glucoside 結合を特異的かつ高度に伸長させる作用を持つ一種の dismutase と考えられた。¹²⁵⁾

Agrobacterium radiobacter IFO 12665b1 (A 菌) および *Rhizobium phaseoli* AHU 1133 (R 菌) の顆粒区分を用いて、UDP-D-¹⁴C-glucose から (1→2)- β -D-glucan を合成した。生成 glucan は全て (1→2) 結合で、環構造を持ち、重合度 17 以上の混合物であった。なお、両菌の活性はいずれも Mn^{2+} を要求し、至適 pH 7.5~8.0 で、UDP-D-¹⁴C-glucose に対する K_m 値は 5.0×10^{-5} M (A 菌) および 3.3×10^{-5} M (R 菌) であった。¹²⁶⁾

cyclodextrin (CD) glucanotransferase (CGTase) 活性の強力な微生物として *Bacillus* sp. HA3-3-2 を検索した。本菌の CGTase は至適 pH 6.0, 至適温度 55 °C で、生産される CD は主に β 型であった。¹²⁷⁾

Leuconostoc mesenteroides NRRL B 1416 の dextran transucrase を精製した。本酵素は dextran の添加によって 5.2 倍に活性化され、同基質濃度を変化させたときの逆数プロットは二相性を示した。また、 K_m 値は 8.6×10^{-6} M から 1.1×10^{-4} M へ、Hill 係数は $n=0.44$ から $n=1.02$ へと変化した。これらの結果は基質の sucrose と dextran に対応する 2 個の基質結合部位の存在を示した。¹²⁸⁾

微生物の酵素を用いた GDP-L-fucose の効率的調製法を検討した。乾燥パン酵母を用いて GMP から glucose, Pi および Mg^{2+} の存在下に GDP-mannose を調製し、続いて *Agrobacterium radiobacter* の部分精製酵素を用いて、NADPH 存在下に GDP-fucose へ変換した。¹²⁹⁾

酸素感受性水素細菌 N 34 株は O_2 40% 下に平板培養すると、2~3 日後に小型白色コロニー (SW) を形成し、5~6 日後には一部が大型黄色コロニー (LY) に変化した。SW の hydrogenase 活性は LY の約 1/5 であった。また、両者を O_2 40% 下に液体培養すると、SW は 100 h 以上の遅滞を示したが LY ではほとんど認められず、SW は酸素感受性、LY は酸素耐性であった。¹³⁰⁾

Brevibacterium ammoniagenes の urease を精製した。本酵素は分子量 200,000 で、分子量 67,000 の等しい 3 個のサブユニットから構成され、等電点は pH 4.1, N 末端および C 末端アミノ酸はそれぞれ Met および Leu で、サブユニット当たり 1 g 原子の Ni を含んでいた。本酵素活性は至適 pH 7.0, 至適温度 65°C で、 Hg^{2+} , Cu^{2+} , $\mu\text{-CMB}$ および hydroxyurea によって阻害された。¹³¹⁾

Gluconobacter 属の 43 菌株における NADP 依存 glucose-6-phosphate dehydrogenase など 6 種の酵素を電気泳動的に比較したところ、これらの菌株は 2 群に大別された。第 1 群は DNA の guanine-plus-cytosine 含量が高く (58.1~62.8 mol%), 第 2 群は同含量が低かった (54.2~57.6 mol%)。なお、第 2 群中の 1 菌株 *G. cerinus* sp. nov. を新種として独立させ、記載した。¹³²⁾

Pseudomonas maltophilia の 2 種の biovar (I は methionine を要求し、II は要求せず) における 6 種の酵素を電気泳動的に比較したところ、2 群に大別された。biovar I の中の 18 菌株は第 1 群に、biovar I の 2 菌株と biovar II の 7 菌株は第 2 群に属した。¹³³⁾

固定化酵素に関しては『単位操作・動力学』の項も参照されたい。

文 献

- 1) Sen, S., Chakrabarty, S. L.: *J. Ferment. Technol.*, **62**, 407 (1984).
- 2) 椎木, 土橋, 島田, 布川: 農化, **58**, 261 (1984).
- 3) 赤木, 河村, 山田: 農化, **58**, 153 (1984).
- 4) Shimazaki, T., Hara, S., Sato, M.: *J. Ferment. Technol.*, **62**, 165 (1984).
- 5) Yamashita, I., Fukui, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 131 (1984).
- 6) Yamashita, I., Fukui, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 137 (1984).
- 7) Yamashita, I., Hatano, T., Fukui, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1611 (1984).
- 8) Yamashita, I., Fukui, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1931 (1984).

- 9) 奥村, 菅: 化学工学論文集, 10, 315 (1984).
 10) 奥村, 菅: 化学工学論文集, 10, 581 (1984).
 11) 長本, 井上: 化学工学論文集, 10, 698 (1984).
 12) Someya, Y., Matsui, H., Chiba, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 873 (1984).
 13) Iio, M., Yoshioka, A., Imayoshi, Y., Koriyama, C., Moriyama, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1559 (1984).
 14) Ohtakara, A., Mitsutomi, M., Uchida, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1319 (1984).
 15) Mitsutomi, M., Ohtakara, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 3153 (1984).
 16) Mozaffar, Z., Nakanishi, K., Matsuno, R., Kamikubo, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 3053 (1984).
 17) Trivedi, S. M., Desai, J. D.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 211 (1984).
 18) Mishra, S., Gopalkrishnan, K. S.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 495 (1984).
 19) 米屋: 日食工誌, 31, 346 (1984).
 20) Sakamoto, R., Arai, M., Murao, S.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 561 (1984).
 21) 馬替, 川嶋, 柏木, 佐々木: 日食工誌, 31, 231 (1984).
 22) Takahashi, R., Kusakabe, I., Kobayashi, H., Murakami, K., Maekawa, A., Suzuki, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2189 (1984).
 23) Takahashi, R., Kusakabe, I., Kusama, S., Sakurai, Y., Murakami, K., Maekawa, A., Suzuki, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2943 (1984).
 24) Kaji, A., Shimokawa, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 67 (1984).
 25) Kitpreechavanich, V., Hayashi, M., Nagai, S.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 63 (1984).
 26) Kitpreechavanich, V., Hayashi, M., Nagai, S.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 415 (1984).
 27) Nakajima, T., Tsukamoto, K., Watanabe, T., Kainuma, K., Matsuda, K.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 269 (1984).
 28) Yasui, T., Nguyen, B. T., Nakanishi, K.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 353 (1984).
 29) Nakanishi, K., Arai, H., Yasui, T.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 361 (1984).
 30) Matsuo, M., Yasui, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1845 (1984).
 31) Matsuo, M., Yasui, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1853 (1984).
 32) Tsen, H. Y.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 263 (1984).
 33) Sugiura, J., Yasuda, M., Kamimiya, S., Izaki, K., Takahashi, H.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 30, 167 (1984).
 34) 原, 林, 藤尾, 上田: 日食工誌, 31, 581 (1984).
 35) Inoue, S., Nagamatsu, Y., Hatanaka, C.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 633 (1984).
 36) Kobayashi, Y., Matsuo, R.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1333 (1984).
 37) Kegoya, Y., Matsuda, H., Hatanaka, C.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1911 (1984).
 38) Sakai, T., Yoshitake, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1941 (1984).
 39) Sakai, T., Okushima, M., Yoshitake, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1951 (1984).
 40) Terashita, T., Oda, K., Kono, M., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1029 (1984).
 41) Muro, T., Tominaga, Y., Okada, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1223 (1984).
 42) Muro, T., Tominaga, Y., Okada, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1231 (1984).
 43) Kasai, N., Fukuhara, K., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1533 (1984).
 44) Nomoto, M., Lee, T., Su, C., Liao, C., Yen, T., Yang, C.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1627 (1984).
 45) Yasuda, M., Soeishi, K., Miyahira, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1637 (1984).
 46) Murao, S., Matsumura, E., Shin, T., Kawano, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1673 (1984).
 47) Terashita, T., Oda, K., Kono, M., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2639 (1984).
 48) Kaminogawa, S., Azuma, N., Hwang, I., Suzuki, Y., Yamauchi, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 3035 (1984).
 49) Ichishima, E., Sakata, H., Takada, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 3173 (1984).
 50) 佐々木, 内田, 吉野: 農化, 58, 463 (1984).
 51) 長谷川, 児玉, 赤塚: 農化, 58, 483 (1984).
 52) 正木, 藤橋, 副島: 農化, 58, 865 (1984).
 53) 正木, 藤橋, 副島: 農化, 58, 1103 (1984).
 54) Gomi, K., Ota, Y., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1061 (1984).
 55) Kato, S., Kokusho, Y., Machida, H., Iwasaki, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2181 (1984).
 56) Hamaguchi, S., Asada, M., Hasegawa, J., Watanabe, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2331 (1984).
 57) Okumura, S., Iwai, M., Tominaga, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2805 (1984).
 58) Mizunaga, T., Oshida, T., Takasaki, A., Maruyama, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1445 (1984).
 59) 古川, 富士川: 農化, 58, 1123 (1984).
 60) Kawata, S., Takemura, T., Takase, Y., Yokogawa, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 261 (1984).
 61) Hayashi, K., Kasumi, T., Kubo, N., Tsumura, N.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 465 (1984).
 62) Kawata, S., Takemura, T., Yokogawa, K., Kotani, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2253 (1984).
 63) Kusama, S., Kusakabe, I., Murakami, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2655 (1984).
 64) 久保, 林, 春見: 食総研報, 45, 70 (1984).

- 65) Kita, K., Hiraoka, N., Kimizuka, F., Obayashi, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 531 (1984).
- 66) Hiraoka, N., Kita, K., Nakajima, H., Obayashi, A.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 583 (1984).
- 67) Sasaki, J., Yamada, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 3027 (1984).
- 68) Kurosawa, S., Hayashi, M., Ishizawa, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 299 (1984).
- 69) Kurosawa, S., Uchida, H., Tsugioka, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2851 (1984).
- 70) Shimizu, S., Shiozaki, S., Oshiro, T., Yamada, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1383 (1984).
- 71) Kamada, H., Izaki, K., Isono, K., Takahashi, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 419 (1984).
- 72) Okada-Takagi, M., Samejima, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2555 (1984).
- 73) Sada, E., Katoh, S., Inoue, T.: *J. Chem. Eng. Japan*, 17, 642 (1984).
- 74) Tochikura, T., Sung, H.-C., Tachiki, T., Kumagai, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2149 (1984).
- 75) Sung, H.-C., Tachiki, T., Kumagai, H., Tochikura, T.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 371 (1984).
- 76) Sung, H.-C., Tachiki, T., Kumagai, H., Tochikura, T.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 569 (1984).
- 77) Nakayama, T., Esaki, N., Lee, W.-J., Tanaka, I., Tanaka, H., Soda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2367 (1984).
- 78) Murao, S., Nishino, T., Maeda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2163 (1984).
- 79) Park, B.-S., Hirotani, A., Nakano, Y., Kitaoka, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 483 (1984).
- 80) Kusakabe, H., Midorikawa, Y., Fujishima, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1357 (1984).
- 81) Ohshima, T., Soda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 349 (1984).
- 82) Ishino, S., Yamaguchi, K., Shirahata, K., Araki, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2557 (1984).
- 83) Yamanaka, K., Minoshima, R.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 171 (1984).
- 84) Yamanaka, K., Minoshima, R.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1161 (1984).
- 85) Nishise, H., Nagao, A., Tani, Y., Yamada, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1603 (1984).
- 86) Ui, S., Masuda, H., Muraki, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2835 (1984).
- 87) Ui, S., Masuda, H., Muraki, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2837 (1984).
- 88) Hamano, T., Mitsuhashi, Y., Tanaka, K., Matsuki, Y., Nukina, Y., Oji, Y., Okamoto, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2517 (1984).
- 89) Ogushi, S., Ando, M., Tsuru, D.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 597 (1984).
- 90) 田中, 林, 岡, 川嶋: 食総研報, 45, 27 (1984).
- 91) Kato, N., Kobayashi, H., Shimao, M., Sabazawa, C.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2017 (1984).
- 92) Shinagawa, E., Matsushita, K., Adachi, O., Ameyama, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1517 (1984).
- 93) Otawara, S., Ohshima, T., Esaki, N., Soda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1713 (1984).
- 94) Minagawa, N., Yoshimoto, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 557 (1984).
- 95) Minagawa, N., Yoshimoto, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1907 (1984).
- 96) Miyamura, N., Matsui, H., Tahara, S., Mizutani, J., Chiba, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 185 (1984).
- 97) Nakanishi, Y., Ohashi, K., Tsuge, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2951 (1984).
- 98) Fujii, T., Murakami, T., Ando, A., Yabuki, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1913 (1984).
- 99) Kawai, F., Kimura, T., Tani, Y., Yamada, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1349 (1984).
- 100) Kida, T., Tanizawa, K., Ishida, M., Inagaki, K., Soda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1361 (1984).
- 101) Kida, T., Tanizawa, K., Inagaki, K., Yoshimura, T., Ishida, M., Hashizume, K., Soda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2549 (1984).
- 102) Aoki, K., Konohana, T., Shinke, R., Nishira, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2087 (1984).
- 103) Aoki, K., Shinke, R., Nishira, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2309 (1984).
- 104) Aoki, K., Konohana, T., Shinke, R., Nishira, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2097 (1984).
- 105) 宮川, 矢野, 浜門, 木戸, 元木: 農化, 58, 785 (1984).
- 106) Kurane, R., Ara, K., Nakamura, I., Suzuki, T., Fukuoka, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2105 (1984).
- 107) Miyatake, K., Enomoto, T., Kitaoka, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2857 (1984).
- 108) Miyatake, K., Ito, T., Kitaoka, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2139 (1984).
- 109) Ishijima, S., Fujita, N., Sabe, H., Izui, K., Katsuki, H.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 30, 27 (1984).
- 110) Fukuda, Y., Yamaguchi, S., Shimosaka, M., Murata, K., Kimura, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2541 (1984).
- 111) Machida, Y., Nakanishi, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2463 (1984).
- 112) Yokota, A., Sasajima, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1490 (1984).
- 113) Yokota, A., Sasajima, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1643 (1984).
- 114) Aisaka, K., Uwazima, T., Terada, O.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2157 (1984).
- 115) Isegawa, Y., Nakano, Y., Kitaoka, S.: *Agric.*

- Biol. Chem.*, 48, 549 (1984).
- 116) Takao, S., Takahashi, T., Tanida, M., Takahashi, M.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 577 (1984).
- 117) Morita, H., Iwata, T.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 217 (1984).
- 118) Kim, E.K., Choi, C.Y., Park, J.M., Ham, M.H., Park, Y. H.: *J. Ferment. Technol.*, 62, 117 (1984).
- 119) Oe, H., Kohashi, M., Iwai, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 505 (1984).
- 120) Oe, H., Kohashi, M., Iwai, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1887 (1984).
- 121) Yamada, H., Osaki, M., Izumi, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2039 (1984).
- 122) Kegoya, Y., Setoguchi, M., Yokohiki, K., Hatanaka, C.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1055 (1984).
- 123) Ikeda, S., Kogoya, Y., Hatanaka, C.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2777 (1984).
- 124) Tanabe, H., Kobayashi, Y., Matsuo, Y., Nishi, N., Wada, F.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2113 (1984).
- 125) Tanabe, H., Oi, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2265 (1984).
- 126) Amemura, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1809 (1984).
- 127) Nomoto, M., Show, D.-C., Chem, S.-J., Yen, T.-M., Liao, C.-W., Yang, C.-P.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1337 (1984).
- 128) Kobayashi, M., Yokoyama, I., Matsuda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 221 (1984).
- 129) Yamamoto, K., Maruyama, T., Kumagai, H., Tochikura, T., Seno, T., Yamaguchi, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 823 (1984).
- 130) Nakamura, Y., Someya, J., Ooyama, J.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 165 (1984).
- 131) Nakano, H., Takenishi, S., Watanabe, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 1495 (1984).
- 132) Yamada, Y., Akita, M.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 30, 115 (1984).
- 133) Ha, D.-M., Komagata, K.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 30, 277 (1984).

酵素関係の特許公告

酵素・固定化	出願人	内 容	公告番号
ウロキナーゼ	住友化学工業	粗ウロキナーゼ溶液に尿素を添加し強酸性陽イオン交換体に吸着、溶離し精製	昭59-35
固定化酵素担体	東洋紡績	蛋白質-ビニール系単量体グラフト共重合体を水中で凝固させ、乾燥させる固定化酵素用担体の製造法	昭59-36
菌体の固定化	宝酒造	菌体のアルギン酸塩による固定化方法	昭59-37
酵母細胞膜溶解酵素	キリンビール	アルカリ可溶性ベンジル化β-1,3-グルカンに吸着、溶離し精製	昭59-1480
セルラーゼ	工業技術院	<i>Trichoderma harzianum</i> M-41 の產生する本酵素の製造法	昭59-2272
新核酸分解酵素	理化学研究所	<i>Saccharomyces</i> 属, <i>Pichia</i> 属の產生するエンドヌクレアーゼ型新核酸分解酵素Aの製造法	昭59-4115
ニトリラーゼ	日東化学工業 三菱レイヨン	培地に水溶性鉄化合物を添加する本酵素活性の高い細菌菌体の製造法	昭59-4987
グルコースイソメラーゼ	日本石油	<i>Corynebacterium</i> 属菌の產生する本酵素の製造法	昭59-4988
不溶化酵素	帝人	有機高分子溶液とインペルターゼとの乳濁液を凍結乾燥する不溶化酵素	昭59-5277
固定化酵素	ニッピ	可溶化コラーゲン-酸性多糖複合体のマトリックス中に分散状態で存在する酵素からなる固定化酵素	昭59-6638
フラクトシルトランスフェラーゼ	シー・ピー・シー・インターナショナル	<i>Aureobasidium pullulans</i> による本酵素の製造の改良方法	昭59-7434
アシルポリアミンアミドヒドロラーゼ	徳山曹達	<i>Streptomyces aveelaneus</i> R-20 菌の產生する新規な本酵素	昭59-7435
固定化酵素	日東電気工業	水不溶性ポリイミド成形物が、その表面においてイミドが10~100%に開環され、形成されたカルボキシル基に酵素を固定化する	昭59-7436

菌体の固定化	宝 酒 造	菌体の懸濁するアルギン酸塩を含む液をアルミニウム塗含有架橋液で処理し固定化する	昭59-9154
乳酸オキシダーゼ	東 洋 酿 造	<i>Pediococcus</i> 属, <i>Streptococcus</i> 属, <i>Aerococcus</i> 属菌の產生する新規な本酵素, 分析法・分析用キット	昭59-10190
ラクターゼ	フ ァ イ ザ ー	<i>Kluyveromyces</i> 属, <i>Candida</i> 属, <i>Tolura</i> 属菌の酵母細胞より本酵素を放出させる方法	昭59-10191
グルコースイソメラーゼ	工 業 技 術 院, ニ チ ビ	アミノアセタール化ポリビニルアルコールから成る酵素固定担体にコバルト, マグネシウムイオンを共存させ, 本酵素を固定化する	昭59-10793
α -1, 3-グルコシド結合分解酵素	名 糖 産 業	<i>Streptomyces</i> 属菌の產生する本酵素	昭59-12274
プロテアーゼ	ノ ヴ オ ・ イ ギ ダ ス ト リ	サブチロペプチダーゼAを產生する <i>Bacillus licheniformis</i> の菌株由来のプロテアーゼ濃縮物	昭59-13187
酵素固定膜	松 下 電 器 産 業	細孔を有する膜を酵素溶液中に浸漬後, 固定化試薬の蒸気中で固定する	昭59-13188
固定化酵素	工 業 技 術 院, ニ チ ビ	置換アミノアセタール化されたポリビニルアルコールを用いて酵素を非共有結合的に固定化する	昭59-13189
アシルコエンザイムAオキシダーゼ	東 洋 紡 織	<i>Candida</i> 属菌の產生する本酵素	昭59-15625
β -ガラクトシダーゼ	ク ミ ア イ 化 学 工 業	<i>Penicillium multicolor</i> の產生する本酵素	昭59-15626
酵素標準組成物	ベ ク ム ノ	既知値の酵素, アルキルポリオール, 人血清アルブミンマトリックス中に存在する全蛋白質と水からなる酵素標準組成物	昭59-15627
酵素, 菌体固定化	福 井 三 郎, 関 西 ペ イ ント	酵素, 菌体を親水性光重合性樹脂を用い, 伸縮性の補強材で固定化する	昭59-15628
酵素, 菌体固定化	新 燃 料 油 開 発 技 術 研 究 組 合	2枚の長尺透明プラスチックフィルム間に光硬化性樹脂液と酵素/菌体を注入する固定化物	昭59-16759
セルラーゼ	日 立 造 船	<i>Trichoderma</i> 属菌を菌体生産工程, 酵素生産工程に分けて本酵素を生産する	昭59-18987
生体触媒	ヨ ア ヒ ミ ・ ク ラ イ ン, フ リ ッ ツ ・ ワ グ ナ ー	重合体に内蔵されたパール状生体触媒の製造法	昭59-18988
ウロキナーゼ	田 辺 製 薬	粗製ウロキナーゼを水不溶性多糖類に, 吸着, 溶出させる精製法	昭59-21595
固定化	天 野 製 薬	酵素, 抗原, 抗体などの生理活性物質を有機シランを用いてポリスチレン試験管内壁に固定化する	昭59-21596
固定化酵素	大 日 本 イ ン キ 川 村 理 化 学 研 究 所	水中において酵素の存在下で可溶性蛋白質とジアルデヒド澱粉を反応させ, 固定化させる。	昭59-23790
固定化微生物	旭 化 成 工 業	アクリルアミドメチル基を導入した重合性澱粉に重合性单量体を用い, 微生物菌体を固定化する	昭59-23791
L-グルタミン酸オキシダーゼ	万 有 製 薬	<i>Streptomyces</i> 属菌の產生する本酵素	昭59-26267
固定化酵素	関 西 ペ イ ント	無機質粉粒体, 鱗片状体および纖維状体物と光硬化樹脂を用いる酵素または微生物菌体の固定化	昭59-26268
エンドプロテイナーゼ-Lys-C	ベーリングー	バクテリアからのエンドプロテイナーゼ-Lys-Cの取得法およびプロテイン, ペプチドの配列順序決定法	昭59-28394
エラスターーゼ	ス ギ ウ ラ 新 薬 開 発 研 究 所	不溶型エラスターーゼ抗体にて粗製本酵素を吸着, 溶離させる精製法	昭59-28395
固定化細胞膜結合酵素	オ リ エ ン タ ル 酵 母	バクテリアの菌体をアクリルアミドのゲルに包括固定した後, 凍結乾燥し, 活性化する	昭59-29236
ウロキナーゼ	田 辺 製 薬	粗製本酵素をスルホセチルセルロースに吸着, 溶出させ精製する	昭59-32116
固定化酵素	関 西 ペ イ ント	酵素または菌体を親水性光重合性樹脂と補強基材とともに活性光線を照射して固定化する	昭59-32117

酢酸キナーゼ	理化学研究所 今堀和友	<i>Bacillus stearothermophilus</i> の產生する本酵素を固定化する	昭59-33355
固定化酵素	旭松食品	菌体または酵素を蛋白質、多糖類、合成樹脂を組合せ、コロイドミルで纖維化または顆粒化する	昭59-33356
酵素	バイオレックス ス	グリクロノグリコサアミノグリカン・ヒアルウロネート・リアーゼの精製	昭59-34110
グルコースイソメラーゼ	東洋紡績	本酵素生産菌を重合リン酸で処理し固定化する	昭59-34111
固定化酵素	ニッピ	可溶性コラーゲン中に分散された酵素の固定化	昭59-34112
プロテアーゼ	住友化学工業	<i>Streptomyces</i> 属菌の產生する非特異性本酵素を陰イオン交換基樹脂に吸着固定化する	昭59-34113
酢酸キナーゼ	理化学研究所 今堀和友・ユニチカ	<i>Clostridium thermoaceticum</i> の產生する本酵素を固定化する	昭59-34354
ウロキナーゼ	田辺製薬	粗製本酵素を多糖類のビーズ状ゲルに吸着、溶出させ精製する	昭59-37071
ウロキナーゼ	田辺製薬	粗製本酵素をアリルデキストランゲルによりゲルロ過し精製する	昭59-37072
ピログルタミン酸ヒドロラーゼ	野田産業化学研究所	<i>Alcaligenes</i> 属菌, <i>Brevibacterium</i> 属菌, <i>Acinetobacter</i> 属菌の產生する本酵素	昭59-37073
ピログルタミン酸ヒドロラーゼ	野田産業化学研究所	<i>Alcaligenes</i> 属菌, <i>Brevibacterium</i> 属菌, <i>Acinetobacter</i> 属菌の產生する本酵素と定量法	昭59-37947
N-ベンゾイル-L-アラニンアシラーゼ	富士レビオ	<i>Corynebacterium</i> 属菌の產生する本酵素	昭59-41717
グルコースイソメラーゼ	三井製糖	放線菌の菌体を熱処理し、凍結解凍後、ゼラチングルタルアルデヒドで固定化する	昭59-44037
固定化酵素	日東電気工業	水分散型高分子重合体粒子に酵素をイオン結合し固定化する	昭59-44038
α-1, 6-グルコシダーゼ	工業技術院	本酵素をケイ酸塩ガラス質に吸着固定化する	昭59-45355
アスパルチルグルコシルアミンアミドヒドロラーゼ	キッコーマン	<i>Acinetobacter</i> 属菌の產生する本酵素	昭59-45356
固定化酵素	日東電気工業	水分散型高分子重合体粒子に酵素がイオン結合によって固定化する	昭59-45357
アルカリプロテアーゼ	キリンビール	<i>Acremonium</i> 属菌の產生する本酵素	昭59-46593
固定化生物活性物質	ニッピ	コラーゲン、多糖類からなる成型物に生物活性物質を固定化する	昭59-46594
固定化生物活性物質	日本原子力研究所	酵素、菌体、オルガネラ等を微粒子担体に固定化する	昭59-46595
不溶性酵素	チェコスロバキア・アカデミー	第一級アミノ基を有する可溶性の酵素を反応性重合体に結合させた不溶性酵素	昭59-46596
酵素、菌体固定化	関西ペイント	酵素または菌体を固型有機重合体中に固定化する	昭59-50312
菌体固定化纖維	東レ	塩基性アニオン交換纖維に菌体を吸着させる	昭59-50313
固定化酵素	住友化学工業	プルランと二官能性物質との親水性ゲルに酵素を固定化する	昭59-50314
酵素結合膜	ハリー・ピー・グレガー	酵素溶液を活性化された多孔性限外済過膜に結合させた、膜フィルターの製造法	昭59-50317
固定化細胞膜結合酵素	オリエンタル酵母工業	細菌の菌体をアクリルアミドゲルに包括固定化後有機溶媒又は界面活性剤で活性を発現する	昭59-51278
酵素固定化用担体	住友化学工業	マクロ多孔型両性イオン交換樹脂よりなる酵素固定化用担体およびその製造法	昭59-51279

(敷島紡績技術研 上山英夫)

(理研 北田牧夫)

(筑波大応生化系 大桃定洋)

(オリエンタル酵母 石川 尊)