

## 7. 酵 素

## Enzymes

## 7-1 糖関連加水分解酵素

## 7-1-1 アミラーゼ

*Bacillus acidocaldarius* A-2 の生産する菌体外  $\alpha$ -amylase の分子量,  $K_m$  値, 反応の最適温度および pH はおのおの 66,000, 1.6 mg starch/ml, 70°C および 3.5 であった. 本酵素は, pH 2.0, 70°C, および pH 4.5, 90°C で30分間基質非存在下で放置後において, おのおの70% および90%以上の残存活性を示した.<sup>1)</sup> *Bacillus* 属細菌による amylase 生産と D-cycloserine 耐性の間には高い相関性が認められる. *Bacillus acidocaldarius* A-2 および *Bacillus stearothermophilus* B-70 の耐性を段階的に増強することによりおのおの amylase 生産能を10倍以上にまで改良した.<sup>2)</sup>

*Aspergillus* sp. N-2 は, 液体および固体培養において菌体外 glucoamylase を生産した. 本菌株の培養ろ液は pH 2.0, 55°C において強い glucoamylase 活性を示し, 高濃度のキャッサバ生デンプンを消化した. 本酵素活性を, DEAE-Sephacel カラムクロマトグラフィーにより4画分に分画し, 各画分の諸性質を検討した.<sup>3)</sup>

*Corticium rolfsii* AHU 9627 は, 強力な生デンプン糖化力を有する菌体外 amylase を生産した.<sup>4)</sup> 本菌株は, 最適培養条件で培養するとき, 培養上澄液の活性として 80 IU/ml (測定条件: pH 4.0, 40°C) を示した. 本菌株の培養ろ液の生デンプン糖化の最適 pH は4.0, 最適温度は 65°C であり, 耐熱性, 耐酸性に優れ, 高濃度の生デンプン懸濁液中で反応は速やかに進行した.<sup>5)</sup>

バレイショデンプンと epichlorohydrin との架橋度 = 0.6~7.1 の架橋バレイショデンプンは, *Bacillus circulans* F-2 の amylase 誘導に対して極めて有効な炭素源であった.<sup>6)</sup>

*Rhizopus* 属, *Aspergillus* 属および *Saccharomyces* 属由来の3種の glucoamylase の全体のアミノ酸配列の相同性は25~36%であり, 4個所に相同性の高い領域があった. *Rhizopus* 属と *Aspergillus* 属の glucoamylase は近縁であった. さらに glucoamylase の構造と機能の関係をアミノ酸配列の比較, 予想二次構造およびヒドロパシーに基づいて議論した.<sup>7)</sup>

*Rhizopus* 属の glucoamylase 遺伝子をクローニングした酵母の生産する組み換え glucoamylase は, *Rhizopus* 属の生産する glucoamylase よりも優れた生デンプン分解能を示した.<sup>8)</sup>

1-deoxynojirimycin と可溶性デンプンに細菌糖化型 amylase を作用させ, 8種の amylase inhibitor (glucose)<sub>n</sub>・1-deoxynojirimycin を単離した. 本 inhibitor の glucose 残基間の結合および 1-deoxynojirimycin と glucose 間の結合は  $\alpha$ -1,4 結合であった. これらの inhibitor は, 構成する glucose 残基の数に応じて阻害する amylase を異にした.<sup>9)</sup>

*Bacillus circulans* F-2 の amylase は, guanine nucleoside または guanine nucleotide によりその活性が阻害された. GMP は 1,2 および 10 mM で, 本酵素を68, 80および96%阻害した. GMP の阻害効果は可逆的であり, 非拮抗型阻害であった. ブタ膵臓  $\alpha$ -amylase, *Bacillus subtilis* の液化型  $\alpha$ -amylase および *Rhizopus niveus* の glucoamylase は GMP によってほとんど阻害されなかった.<sup>10)</sup>

7-1-2  $\alpha$ -グルコシダーゼ

*Bacillus cereus* NY-14 の cell-bound  $\alpha$ -glucosidase I, II 生産の inducer は maltose であり, その必要最少濃度は0.05%であった.<sup>11)</sup>

## 7-1-3 インベルターゼ

*Brevibacterium divaricatum* NRRL B-2321 の細胞抽出液より精製した invertase の分子量は92,000であり, 最適反応 pH および温度はそれぞれ 6.8 および 40°C であった. 本酵素は sucrose に特異的であり, sucrose に対する  $K_m$  値は 0.19 M であった. 本酵素は, その活性に対して phosphate または arsenate ion を必要とし, Cu<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup> および SH 試薬により阻害された.<sup>12)</sup>

7-1-4  $\alpha$ -フコシダーゼ

*Fusarium oxysporum* は, glucose 培地で培養した後, その菌体を L-fucose のみを含む誘導培地に再懸濁すると,  $\alpha$ -L-fucosidase を生産した. 本酵素は, 分子量 ca. 75,000 の糖タンパクであり, 至適 pH は 4.5~6.0, 安定 pH は 5.5~10.0 であった. 本酵素は他の微生物起源の酵素と異なり, *p*-nitrophenyl  $\alpha$ -L-

fucoside を分解し、ブタ胃の mucin などからも L-fucose を遊離した。<sup>13)</sup>

#### 7-1-5 $\alpha$ -L-ラムノシダーゼ

$\alpha$ -L-rhamnosidase の基質特異性を調べるために、benzyl 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl- $\beta$ -L-arabinopyranoside と methyl 5-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl- $\alpha$ -L-arabinofuranoside の合成を行った。<sup>14)</sup>

#### 7-1-6 $\beta$ -D-ガラクトシダーゼ

glucose を炭素源として生育したヒト由来 bifidobacteria の無細胞抽出液中には、各種の glycosidase 活性が認められた。*Bifidobacterium longum* 401 の無細胞抽出液より  $\beta$ -D-galactosidase を精製した。本酵素は、lactose よりも lactulose に対して高い活性を示すこと、培養時の炭素源によって酵素生産性が顕著な影響を受けない、などの点で他の細菌由来の  $\beta$ -D-galactosidase と異なっていた。<sup>15)</sup>

*Escherichia coli* の  $\beta$ -galactosidase の総生産と菌体外放出は、glycine, glycyglycine, glycine methyl ester および glycine ethyl ester の添加培養を行うことにより促進された。<sup>16)</sup>

#### 7-1-7 $\beta$ -グルコシダーゼ

*Bifidobacterium breve* 203 の無細胞抽出液より  $\beta$ -D-glucosidase I および II を精製した。分子量 ca. 96,000 の I は *p*-nitrophenyl (*p*-NP)  $\beta$ -D-fucoside 水解活性を示したが、分子量 ca. 450,000 の II はその活性を示さなかった。I および II は温度および pH に対する安定性が異なり、また I は *p*-NP $\beta$ -D-glucoside に対する活性を100としたとき、laminaribiose, cellobiose および gentiobiose に対して53, 34および3%の活性を、II は53, 6および107%の活性を示した。I の *p*-NP $\beta$ -D-fucoside を基質とする反応は、glucose などの単糖の添加により活性化したが、*p*-NP $\beta$ -D-glucoside を基質としたときには影響を受けなかった。一方、II の *p*-NP $\beta$ -D-glucoside に対する活性は同一条件下で強く阻害された。<sup>17)</sup>

*Streptomyces* sp. W 19-1 の培養ろ液から、 $\beta$ -glucosidase I, II, III を精製した。 $\beta$ -glucosidase III の等電点は pH 4.5、分子量は 45,000 であり、至適反応条件は pH 6.0、60°C であった。本酵素は  $\beta$ -グルコ二糖類 および epicellobiose に作用して gentiobiose を、phenolic  $\beta$ -D-glucoside に作用して未同定の転移生成物を生成した。本酵素による laminaribiose からの gentiobiose の生成機構は、糸状菌  $\alpha$ -glucosidase の転移反応機構と同様であると推測された。<sup>18)</sup>

*Scytalidium lignicola* CD-48 の  $\beta$ -glucosidase を chitosan を担体として glutaraldehyde で固定化した。本固定化酵素は、pH 3~6 の範囲で free enzyme より安定であり、50°C、70時間前後でも ca. 70%の活性を保持していた。*p*-nitrophenyl  $\beta$ -D-glucopyranoside に対する  $K_m$  値は、free enzyme で  $2 \times 10^{-4}$  M、固定化酵素で  $5.5 \times 10^{-4}$  M であった。本固定化酵素は、4回繰り返し使用後も活性を低下しなかった。<sup>19)</sup>

#### 7-1-8 セルラーゼ

*Robillarda* sp. Y-20 の CM-cellulose 分解活性の強い粗酵素液は、酸処理 cellulose に対して高い分解率を示した。さらに本酵素液は、農産廃棄物系 cellulose を分解し、稲ワラに対して最も高い分解率を示した。<sup>20)</sup>

*Penicillium* 属の1菌株の生産する cellulase の1成分、cellulose 1,4- $\beta$ -cellobiosidase (EC 3,2,1,91) を精製した。本酵素は、分子量 52,000 の糖タンパク質であり、最適 pH は 4.0 付近、最適温度は 60°C であった。本酵素は、pH 3.0~10.0 の範囲で 6°C で48時間放置、および 60°C で10分間加熱しても安定であった。本酵素による Avicel の分解産物は、ほとんど cellobiose であったが、glucose も微量生成した。<sup>21)</sup>

*Penicillium purpurogenum* P-26 の培養上澄液から、2種の Avicel 分解型 cellulase (enzyme I および enzyme II) を精製した。enzyme I および II は糖タンパク質であり、その分子量はゲルろ過によりそれぞれ 84,000 および 64,000 と推定した。enzyme I および II は、その作用機構の解析より 1,4- $\beta$ -D-glucan cellobiohydrolase と考えたが、両者の作用様式には差異を認めた。<sup>22)</sup>

*Penicillium purpurogenum* P-26 が生産する2種の endo 型 cellulase, CMCase I と II を精製した。CMCase I と II の分子量 (ゲルろ過法) はそれぞれ 72,000 および 50,000、等電点は 4.3 および 3.9 と推定され、ca. 12% および 8% の糖を含む糖タンパク質であった。両酵素による cellopentaose からの生成物は上向変旋光を示し、carboxymethyl cellulose の他にセロオリゴ糖、リン酸膨潤 cellulose, Avicel などに対して endo 型に作用したが、carboxymethyl cellulose 水解に際し、CMCase II は I に比べランダム水解度が高かった。しかし両酵素を混合して Avicel に作用させても相乗効果は認められなかった。<sup>23)</sup>

*Aspergillus terreus* ATCC 52430 およびその変異株 UNG 1-40 の生産する  $\beta$ -glucosidase, exoglucanase および2種類の endoglucanase を分離、精製した。こ

これらの酵素は、不溶性 cellulose の分解において相率的に作用した。<sup>24)</sup>

*Tricoderma viride* の生産する cellulase を cyanogen bromide によって活性化した Sepharose CL-6B に固定化したところ、担体 1g 当たり最高 12mg の酵素タンパクを固定できた。この固定化 cellulase の性質を native cellulase と比較し、バイオリクターへの応用を検討した。<sup>25)</sup>

#### 7-1-9 イヌリナーゼ

*Kluyveromyces marxianus* UCD (FST) 5582 による inulinase ( $\beta$ -fructan fructanohydrolase) の生産条件を検討した。さらに同酵母を固定化細胞として、inulin より果糖シロップを反応槽中で生産するための予備研究を行った。<sup>26)</sup>

#### 7-1-10 ガラクタナーゼ

*Penicillium citrinum* の生産する endo-1,4- $\beta$ -D-galactanase の *o*-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (ONPG) に対する作用について検討した。本酵素反応においては、水解速度の遅い ONPG から、転移反応により、水解されやすいオリゴ糖が生成するために、誘導期の後、急速な *o*-nitrophenol の遊離が進行すると推定した。<sup>27)</sup>

#### 7-1-11 キシラナーゼ

好アルカリ性 *Bacillus* sp. C-125 由来の xylanase A 遺伝子をプラスミド pBR 322 の *Hind* III 部位にクローン化し、プラスミド pCX 311 を得た。pCX 311 を保持した *Escherichia coli* HB 101 は、*Bacillus* sp. C-125 よりも大量の xylanase を約1/3の時間で菌体外に生産した。本酵素の生産は  $\text{Na}^+$  を要求し、glucose により強く阻害された。<sup>28)</sup>

中温および高温メタンスラッジより、強い xylan 分解能を有する嫌気性細菌 4 株を分離した。中温菌 X-4 株は *Clostridium sphenoides* の 1 株であり、高温菌 XY-6, XY-10 および XY-23 株は酪酸発酵菌であった。高温菌 3 株はいずれも菌体結合型 xylanase を有している点で中温菌 X-4 株と異なり、X-4 株および XY-6 株の  $\beta$ -xylosidase は菌体結合型であると推定した。<sup>29)</sup>

*Aspergillus terreus* A-07 の培養上澄から  $\beta$ -1,3-xylanase 活性を有する 6 画分を精製した。これら画分の分子量、至適 pH および至適温度は異なっていた。6 種類の  $\beta$ -1,3-xylanase は、いずれも endo-type の酵素であった。<sup>30)</sup>

*Rhodymenia palmata* より rhodymenan ( $\beta$ -1,4

および  $\beta$ -1,3 結合 xylan) を調製し、*Aspergillus terreus* A-07 の  $\beta$ -1,3-xylanase、放線菌 E-86 の  $\beta$ -1,4-xylanase および *Malbranchea* の  $\beta$ -xylosidase を作用させて、分解生成物の分析を行った結果から、rhodymenan の構造を推定した。<sup>31)</sup>

*Aspergillus fumigatus* の菌体外  $\beta$ -xylosidase および  $\beta$ -glucosidase を精製した。両酵素標品は、分子量 360,000 と 380,000 の 4 量体であり、等電点は 5.4 と 4.5 であった。*p*-nitrophenyl- $\beta$ -xyloside (PNPX) を基質とする  $\beta$ -xylosidase の最適温度は 75°C、*p*-nitrophenyl- $\beta$ -glucoside (PNPG) を基質とする  $\beta$ -glucosidase の最適温度は 65°C であり、両酵素の最適 pH は 4.5 であった。両酵素活性は  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Hg}^{2+}$ 、SDS、PCMB で阻害された。 $\beta$ -xylosidase の PNPX と xylobiose に対する  $K_m$  値は 2mM と 23.8mM であり、 $\beta$ -glucosidase の PNPG、gentiobiose および cellobiose に対する  $K_m$  値は 1.4mM、11.4mM および 24.8mM であった。縮実粕を爆砕処理して調製したキシロオリゴ糖 (全糖 150g/l) に *A. fumigatus* の粗酵素 ( $\beta$ -xylosidase と xylanase 含有) を 55°C、pH 4.5 で作用させ、xylose 160g/l を得た。<sup>32)</sup>

#### 7-1-12 ベクチナーゼ

*Erwinia carotovora* GIR 1044 の endo-pectate lyase の生産は、誘導炭素源の pectin を用いて培養した後、構成炭素源で培養する 2 段階培養を行うとき増大した。<sup>33)</sup>

*Aspergillus alleaceus* の植物マセレーション用 pectinase (市販品名、Rohament P, RP) は endo-polygalacturonase に富み、ニンジンやセロリの組織を柔らかくし、細胞を遊離させた。RP 酵素を高濃度で作用させた場合には、これらの組織を液化した。RP 酵素の液化作用は標品中に存在する cellulase によることが明らかとなった。<sup>34)</sup>

*Aspergillus niger* 35-1 から得た endo-polygalacturonase I, II (endo-PG I, II) と exo-polygalacturonase (exo-PG I, II)、および *Aspergillus oryzae* A-3 から得た pectinesterase I (PE I) を用いて、リンゴ果汁清澄化と protopectin に対する作用を検討した。endo-PG II と exo-PG I および II は果汁清澄作用はなく、endo-PG I と PE I に果汁清澄作用があり、両者の共存下でのみ果汁清澄化は起こった。endo-PG I および II は protopectin に対して高い吸着能を有しており、endo-PG I は endo-PG II よりも protopectin 分解能が高かった。<sup>35)</sup>

## 7-2 プロテアーゼ

*Rhizoctonia solani* の生産する市販酵母溶解酵素キターゼにより酵母溶解活性を有するプロテアーゼを精製した。分子量は 14,000 で、生酵母菌体ならびに調製酵母細胞壁に対し単独でも溶解活性を有し、 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-グルカナーゼと同様の活性を示した。このことは酵母細胞壁のグルカン層にタンパク層が組み込まれていることを示唆する。<sup>36)</sup>

カイコ消化液から 3 種類のプロテアーゼ (P-I, P-II, P-III) を分離し、*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 株の産生する 2 種の結晶体毒素 (ひし形および立方体) に対する作用を調べた。いずれのプロテアーゼもひし形毒素を可溶化したが、P-III が最も高く、合成基質に対する作用からキモトリプシン型のプロテアーゼであった。立方体毒素はいずれのプロテアーゼによっても可溶化されなかった。<sup>37)</sup>

*Aspergillus oryzae* IAM 2640 は米糠液体培地で培養すると高分子型の酸性カルボキシペプチダーゼ (CPase) のみを生産した。本酵素は分子量 73 K のサブユニット二つから成るダイマーで TPCK, PMSF により阻害されたが、IAA, PCMB によっては阻害されなかった。低分子型酸性 CPase O-1 と部分共通抗原を有していた。<sup>38)</sup>

*Scytalidium lignicolum* は新規酸性プロテアーゼ A-1, A-2, B のほかに酸性プロテアーゼ C を生産した。本酵素は S-PI, DAN により活性阻害を受けないこと、分子量が 406,000 と大きいこと、カゼイン/ヘモグロビンの分解比がほぼ等しいこと、 $\alpha$ -MAPI によって弱い阻害を受け、MAPI と類似の構造を持つペプチド基質を分解することなどの相違点が認められた。<sup>39)</sup> さらに A-2 および C 酵素を対象に速度論的な検討を行った。その結果、これらの酵素も酸性プロテアーゼと同様に、その触媒反応にカルボキシル基の関与することが示唆された。<sup>40)</sup>

*Irpex lacteus* の凝乳酵素 (IR) と他の凝乳酵素、仔ウシキモシン (CR), *Mucor miehei* の酵素 (MR), *Endothia parasitica* の酵素 (ER) の基質特異性を検討した。これらの凝乳酵素は種々のペプチドホルモンに対する基質特異性から、CR と MR の属する特異性の厳密なグループと、IR と ER の属する比較的広い特異性を持つグループに分けることができた。<sup>41)</sup>

*Aspergillus kawachii* の米麴からカルボキシプロテアーゼを精製した。本酵素の分子量は 35,000, 等電点は 3.9, 最適温度は 50°C であった。ヘモグロビンを

基質としたとき、最適 pH は 2.8~3.4 で、pH 2.2~6.4 で安定であった。セリン含量が最も多く、DAN, EPNP および SPI によって阻害された。<sup>42)</sup>

*Aspergillus saitoi* の酸性カルボキシペプチダーゼを改良法により高度に精製し、その性質について検討した。本酵素は 72,000 の同一サブユニットから成るダイマーであり、蒸留水で透析し凍結乾燥したところ 98% の活性が保持されていた。この凍結乾燥標品は 4°C で保存すると少なくとも 3 年は安定であった。<sup>43)</sup>

*Nocardia orientalis* の生産する "D-peptidase S" を精製した。分子量は 52,000, 等電点は 4.9 であり、D-ロイシル-D-ロイシンの加水分解の最適 pH は 8.0~8.1, 最適温度は 36°C,  $K_m$  値は  $0.21 \times 10^{-3}$  M,  $V_{max}$  値は 20.72 mmol/min/mg であった。<sup>44)</sup> 本菌株による当該酵素の生産には、インデューサーとして疎水性の D-, DL-アミノ酸または D-アミノ酸含有ペプチドを必要とし、22°C での培養が最も効率的であった。<sup>45)</sup>

*Acromonas hydrophila* の培養液より 2 種類のエンド型プロテアーゼ I および II とアミノペプチダーゼを精製した。分子量はプロテアーゼ I は約 40,000, II は 48,000, アミノペプチダーゼは 31,000 であった。両エンド型プロテアーゼの最適 pH は 8.5, アミノペプチダーゼの最適 pH は L-Leu-p-NA を基質とすると 8.0 で、後者の最適温度は 70°C であった。<sup>46)</sup>

*Scytalidium lignicolum* の S-PI 非感受性酸性プロテアーゼの触媒残基を Zn(II)-色素を指標として調べた。本酵素の活性部位にはペプシンなどの従来の酵素と同様に、Zn(II)-色素の結合しうる隣接した 2 個のカルボキシル基が存在し、それらが触媒反応に関与することが示唆され、kinetics のデータともよく一致した。<sup>47)</sup>

枯草菌の菌体内タンパク性プロテアーゼ阻害剤を精製しその性質を明らかにした。本阻害剤は分子量 16,000, 等電点 4.8 のモノメリックタンパクで、システイン、ヒスチジン等を含まない。微生物起源の多くのセリンプロテアーゼを阻害したが、本菌の生産する膜結合酵素は全く阻害を受けなかった。<sup>48)</sup> さらに、本菌の生産する 3 種の細胞質セリンプロテアーゼ (IP-I, IP-II, IP-III) のうちの主成分である IP-I に対する阻害機構について検討した。本阻害剤は菌体内で主として IP-I の活性調節に関与し、これを不可逆的に不活性化すると推測した。<sup>49)</sup>

*Achromobacter lyticus* の培養液からリシルペプチド結合を高い特異性で切断する pI 5.3 のプロテアー

ゼを精製して、プロテアーゼ I (pI 6.9) と比較した。分子量、至適 pH、pH 安定性などは両者ともほぼ同じであったが、等電点、アミノ酸組成、尿素に対する抵抗性は全く異なっていた。<sup>50)</sup>

食用キノコ“シイタケ”の品質保全を目的とし、その貯蔵条件を検討した結果、カルボキシルプロテアーゼがその孢子成熟に強く関与することを発見した。<sup>51)</sup>

### 7-3 リパーゼ

好熱性のカビを土壌から分離し、*Humicola lanuginosa* var. *catenulata* と同定した。本菌の培養ろ液には2種類のリパーゼが存在した。<sup>52)</sup>

*Rhizopus arrhizus* のリパーゼは、種々の合成脂肪酸ポリエステルおよび脂環ポリエステルを加水分解した。その分解性は、同系列では低い融点のポリエステルに高くなる傾向があった。ポリアミド-エステル共重合体は、アミド含量の増大およびアミドブロックの細分化に伴い分解性は低下した。<sup>53)</sup>

リパーゼによる不斉水解の検索を行い、*Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Mucor* sp., *Rhizopus delemere*, *Rhizopus japonicus* 起源のリパーゼが (*RS*)-2-acyloxy-propyl *p*-toluenesulfonate (1a) および 2-acyloxybutyl *p*-toluenesulfonate (1b) を立体選択的に水解し、(*S*)-1a, 1b および水解物 (*R*)-2-hydroxypropyl *p*-toluenesulfonate と 2-hydroxybutyl *p*-toluenesulfonate を与えた。なかでも *P. aeruginosa* 起源のリパーゼは水解速度、立体選択性ともに優れていた。<sup>54)</sup>

ラセミ体 (*dl*)-1-acyloxy-2-halo-1-phenylethanes は、*Pseudomonas aeruginosa* および *Chromobacterium viscosum* 起源のリパーゼにより不斉水解され、*R* 体の残存基質および (*S*)-2-halo-1-hydroxy-1-phenylethan を100% e. e. で与えた。<sup>55)</sup>

*Saccharomyces lipolytica* の培養液上澄からリパーゼアクチベータ  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  を分離した。アクチベータ  $\gamma$  の活性が最も強く、アクチベータ  $\beta$  は 3, 5-ジヒドロキシ-7-テトラデセン酸と類縁化合物の混合物であった。<sup>56)</sup> これらのアクチベータは、本酵母が生産するリパーゼの反応を、 $\text{Ca}^{2+}$  の存在下中性付近で活性化した。アクチベータと  $\text{Ca}^{2+}$  の役割は、リパーゼの界面への吸着性を制御することにあつた。<sup>57)</sup>

### 7-4 細胞壁溶解酵素

土壌より分離した *Flavobacterium* sp. の生産する

endo- $\beta$ -*N*-acetylglucosaminidase を精製した。本酵素の分子量は約 27,000~30,000 で、dansyl-glycopeptides を基質とした反応の至適 pH は 5~6、安定 pH は 5~7 であった。ウシ膵臓のリボヌクレアーゼ、酵母インペルターゼの糖鎖に作用し、卵白アルブミンの糖鎖を未処理のまま分解した。<sup>58)</sup>

*Rhizoctonia solani* の生産する endo- $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucanase を short-chain pachyman-AH-Sepharose のアフィニティークロマトなどを行って精製した。分子量は 29,000、等電点は pH 9.8 と推定され、至適 pH は 5.5 で、pH 5~8.5 そして 50°C 以下で安定であった。またこの酵素は transglycosylase 活性を有していた。<sup>59)</sup>

放線菌 W 19-1 株の培養ろ液から  $\beta$ -1, 3-glucanase を精製した。等電点が pH 3.7、分子量が 36,000 であった。本酵素は  $\text{Ca}^{2+}$  により安定化され、ラミナリトリオースに作用したが、グルコースダイマーには作用しなかった。<sup>60)</sup>

*Rhizoctonia solani* の生産する諸酵素のうち、ラミナリンの分解に関与する酵素は主に  $\beta$ -1, 3-glucanase と  $\beta$ -D-glucosidase であった。また菌体外  $\beta$ -D-glucosidase の産生はバリダマイシンの添加で大きく増加した。<sup>61)</sup>

*Flavobacterium* sp. の生産する endo- $\beta$ -*N*-acetylglucosaminidase によって糖鎖を除去した invertase に subtilisin を作用させると、native な invertase の場合に比べて速やかに酵素活性が低下し、タンパク分解が速く起こった。この結果は、糖を含む酵素における糖鎖の役割の一つが、プロテアーゼに対する防御であることを示す。<sup>62)</sup>

*Neurospora crassa* IFO-6068 と野生株の細胞壁より、1,3-glucanase I および II を分離、精製した。両酵素の ( $\beta$ , 1-3)-glucan 分解の至適温度はともに 45°C、至適 pH は、1,3-glucanase I は 4.5、II は 5.0 であった。分子量は前者が 82,000、後者が 120,000 であった。1, 3-glucanase I はエキソ型加水分解様式で glucose を最終生産物とする ( $\beta$  1-3)-glucanase であり、II は基質特異性の範囲が広く、 $\beta$ -glucosidase の活性も有していた。<sup>63)</sup>

*Lactobacillus casei* を宿主とする PL-1 フェージの溶菌液に見出された muramidase は *N*-acetylmuramidase であることが確かめられた。<sup>64)</sup>

*Oerskovia* sp. CK による麴菌溶解酵素の生産は、キチン粉末 1%、乾燥酵母 0.5% を含む培地を用い、

30°C で40時間振とう培養した時最大となった。粗酵素を用いた時の溶解活性の最適温度は 45°C, 最適 pH は 6.0~7.0 で, pH 5.0~8.0 の間で安定であり, 40°C, 15分の熱処理により活性の低下はほとんど認められなかった。<sup>65)</sup>

*Aeromonas hydrophila* subsp. *anaerogenes* A 52 の生産する chitinase と chitobiase を精製した。本酵素はいずれも glycoprotein で等電点はそれぞれ 4.60, 5.35, 分子量は 110,000, 105,000 であった。chitinase の  $K_m$  値は 2.8 mg chitin/ml, chitobiase のそれは *p*-nitrophenyl- $\beta$ -*N*-acetyl-D-glucosamine に対して  $1 \times 10^{-3}$  M であった。<sup>66)</sup>

#### 7-5 核酸関連酵素

*Aspergillus saitoi* の ribonuclease の活性中心を調べた。<sup>14</sup>C-ヨード酢酸で標識した酵素および光酸化で失活した酵素のペプチド分析の結果, 本酵素の活性中心は Glu 57, His 91 および His 39 で構成されていた。<sup>67)</sup>

*Thermus thermophilus* HB8 の対数増殖中期の菌体を用いて, 本菌の DNA ligase を収率よく精製した。この場合, Red Sepharose CL-6B カラムは混在する制限酵素 *Tth*HB 81 の除去に効果的であった。<sup>68)</sup>

*Achromobacter* sp. KR 170-4 の polynucleotide phosphorylase をアミノプロピル多孔性ガラスに固定した。固定化酵素は遊離酵素と同じ最適 pH を示し, SH 還元剤で処理すると比活性が上昇した。<sup>69)</sup>

各種の pyrimidine 化合物を Sepharose 4B に固定化し, cytosine deaminase との吸着特性を調べた。2-mercaptopyrimidine に 1,6-diaminohexane を導入してから固定化したもの, および 5-aminouracil をカルボジイミド法で 6-aminohexane-Sepharose 4B に固定化したものが効果的であり, *Escherichia coli* K-12 IFO 3301 株の当該酵素を1,200倍に精製することができた。本酵素は分子量 200,000 で, 分子量 35,000 および 46,000 の2種のサブユニットから構成される SH 酵素であった。<sup>70,71)</sup>

*Corynebacterium* sp. N-19-1 (FERM BP-506) の guanidinoacetate (GA) amidinohydrolase を精製した。本酵素は分子量 150,000 で, 分子量 38,000 の同一サブユニットから構成され, 等電点 5.8, 最適 pH 9.0~9.5, GA に対する  $K_m$  値  $1.6 \times 10^{-2}$  M で, *o*-phenanthroline あるいは 8-OH-quinoline によって完全に不活性化され,  $Zn^{2+}$  の添加によって回復した。<sup>72)</sup>

*Rhodotorula glutinis* IFO 0389 の dihydroureacil (DU) oxidase を精製した。本酵素は分子量 80,000, 等電点 5.5, 最適 pH 7~8 で, DU および dihydrothymine に対する  $K_m$  値はいずれも  $5.0 \times 10^{-5}$  M であった。<sup>73)</sup>

*Alcaligenes* sp. の DNA topoisomerase I に対する chartreusin の作用を調べたところ, chartreusin は 3  $\mu$ g/ml 濃度で本酵素活性を完全に阻害した。このことは本酵素が chartreusin によって反応が阻害される制限酵素 *Hha* I および *Hae* II と同じような塩基認識部位を持つことを示唆した。<sup>74)</sup>

#### 7-6 アミノ酸関連酵素

*Pseudomonas putida* C-32 の amidinoaspartase を精製した。本酵素は分子量 214,000 で, 分子量 39,800 の同一サブユニットから構成され, 最適 pH 9~10, *N*-amidino-L-aspartate に対する  $K_m$  値  $1.03 \times 10^{-2}$  M であった。なお, EDTA によって不活性化されたが  $Mn^{2+}$  の添加によって完全に回復した。<sup>75)</sup>

*Cephalosporium acremonium* M 8650 の cephalosporin (CS) 生合成を調節する acetohydroxy acid synthase を調べた。野生株の当該酵素活性は L-valine によって強いフィードバック阻害を受けたが, CS 高生産株 (no.6~28) では親株より弱かった。<sup>76)</sup>

*Bacillus stearothermophilus* NCA 1503 の valyl-tRNA synthase を精製した。本酵素は分子量 100,000 ~110,000, 最適 pH 8.5 (30°C)~8.0 (52°C), 最適温度 52°C (pH 7.6~8.5) で, 本活性における酵素と基質 (L-valine あるいは ATP) との結合比は 1:2 であった。<sup>77)</sup>

*Escherichia coli* B の  $\gamma$ -glutamylcysteine synthase を精製した。本酵素は分子量 55,000, 最適 pH 8.5, 最適温度 45°C で, 活性発現に  $Mg^{2+}$  を要求し, L-glutamate, L-cysteine および ATP に対する  $K_m$  値はそれぞれ  $5.0 \times 10^{-4}$  M,  $9.0 \times 10^{-5}$  M および  $1.0 \times 10^{-5}$  M であった。なお, 本酵素は還元型 glutathione (GT) によってフィードバック阻害を受けたが, 酸化型 GT によっては阻害されなかった。<sup>78)</sup>

*Escherichia coli* W から造成した L-threonine (Thr) 高生産株 KY 8366 の aspartokinase (AK) を調べた。本 mutant は Thr 生産株 KY 8280 から  $\alpha$ -amino- $\beta$ -hydroxy-valeric acid 耐性株として造成したもので, L-lysine 感受性 AK III を KY 8280 の13倍構成的に持ち, 12%の glucose を消費して 28 mg/ml の Thr

を蓄積した。<sup>79)</sup>

*Corynebacterium equi* H-7 の *N*-benzoyl-L-alanine (B-ala) amidohydrolase を精製した。本酵素は分子量 230,000 で、分子量 40,000 の同一サブユニットから構成され、等電点 4.6、至適 pH 8.0 であった。Co<sup>2+</sup> によって活性化され、B-ala、B-gly および B-L-amino-butyric acid に対する  $K_m$  値はそれぞれ  $4.3 \times 10^{-3}$  M、 $6.7 \times 10^{-3}$  M および  $4.3 \times 10^{-3}$  M であった。<sup>80)</sup>

*Lactobacillus fermenti* 36 ATCC 9338 の *N* $\alpha$ -benzyl-oxycarbonyl arginine (BCA) urethane hydrolase II を精製した。本酵素は分子量 200,000 で、分子量 27,000 の同一サブユニットから構成され、等電点 5.0、至適 pH 6.5 で、活性発現に Co<sup>2+</sup> などの 2 価カチオンを要求し、BCA に特異的に作用した。また、*L. casei*  $\epsilon$  ATCC 7469 から同活性を持つ酵素を精製したが、これは分子量 118,000 で、分子量 24,000 の同一サブユニットから構成され、等電点 4.75、至適 pH 6.0 で、活性発現に 2 価カチオンを要求した。両酵素間にはかなりの差異が認められた。<sup>81,82)</sup>

*Candida tropicalis* pK 233 の D-amino acid oxidase を精製した。本酵素は分子量 39,000 で、FAD を含み、至適 pH 8.5、最も高い活性を示した D-alanine に対する  $K_m$  値および  $V_{max}$  値はそれぞれ  $2.74 \times 10^{-2}$  M および  $19.7 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg protein}$  であった。<sup>83)</sup>

## 7-7 酸化還元酵素

*Escherichia coli* K-12 の pyrroloquinoline quinone (PQQ) 依存性 D-glucose dehydrogenase を精製した。本酵素は分子量 88,000 で、Mg<sup>2+</sup> 存在下に PQQ によってホロ酵素に変換されて活性化し、D-fucose、D-galactose、D-mannose、D-xylose などにも作用する幅広い基質特異性を示した。<sup>84)</sup>

*Bacillus subtilis* による 1-deoxyketose (DK) の生成機構を調べた。DK は (i) pyruvate と aldose とから pyruvate dehydrogenase (PDH) に、また、(ii) acetoin と aldose とから acetoin dehydrogenase によってそれぞれ触媒されて生成した。ウシ心臓から精製した PDH も (i) の反応を触媒し、(i) による DK 生成は自然界に広く分布するものと推察した。<sup>85)</sup>

*Brevibacterium* sp. の meso-diaminopimelate (*m*-DP) dehydrogenase を精製した。本酵素は分子量 39,000 の同一サブユニット 2 個から構成され、等電点 5.0、至適 pH 10.5 (酸化的反応) および 8.5 (還元

的反応) で、補酵素として NADP<sup>+</sup> を要求し、*m*-DP、NADP<sup>+</sup>、NADPH、L-2-amino-6-ketopimelate (AKP) および NH<sub>3</sub> に対する  $K_m$  値はそれぞれ  $6.25 \times 10^{-3}$  M、 $1.4 \times 10^{-4}$  M、 $2.3 \times 10^{-4}$  M、 $2.1 \times 10^{-4}$  M および  $6.25 \times 10^{-2}$  M であった。また、*Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 から同活性を持つ酵素を精製した。これは分子量 70,000 の同一サブユニット 2 個から構成され、至適 pH 9.8 (酸化的反応) および 7.9 (還元的反応) で、*m*-DP、NADP<sup>+</sup>、NADPH、AKP および NH<sub>3</sub> に対する  $K_m$  値はそれぞれ  $3.1 \times 10^{-3}$  M、 $1.2 \times 10^{-4}$  M、 $1.3 \times 10^{-4}$  M、 $2.8 \times 10^{-4}$  M および  $3.6 \times 10^{-2}$  M であった。なお、両酵素とも *m*-DP に特異的に作用した。<sup>86,87)</sup>

*Pseudomonas putida* C-83 の NAD<sup>+</sup> 依存性 form-aldehyde (FA) dehydrogenase を調べた。本酵素はサブユニット当たり 7 個の cysteine を含み、その中の 3 個が PCMB で完全に修飾され、FA および *n*-butanol に対する活性を失った。また、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> は *n*-butanol に対する活性には影響しなかったが、FA に対する活性を拮抗的に阻害し、この阻害は酵素をあらかじめ FA 処理すると回避できた。<sup>88)</sup>

*Pseudomonas putida* ATCC 12633 の 4-amino-butylaldehyde dehydrogenase (ABADH) および 4-guanidinobutylaldehyde dehydrogenase (GBADH) を精製した。ABADH は分子量 240,000 で、分子量 57,000 の同一サブユニットから構成され、基質および NAD<sup>+</sup> に対する  $K_m$  値はそれぞれ  $2.6 \times 10^{-4}$  M および  $5.0 \times 10^{-5}$  M であった。一方、GBADH は分子量 107,000 で、分子量 57,000 の同一サブユニットから構成され、基質および NAD<sup>+</sup> に対する  $K_m$  値はそれぞれ  $3.0 \times 10^{-5}$  M および  $1.4 \times 10^{-4}$  M であった。<sup>89)</sup>

*Pseudomonas* sp. K 95 の amine dehydrogenase を精製した。本酵素は分子量 47,000 で、電子受容体として phenazine methosulfate を利用して C<sub>2</sub>~C<sub>12</sub> の alkyl diamine、C<sub>6</sub>~C<sub>12</sub> の  $\omega$ -amino acid、芳香族生体アミン、polyamine などに作用した。1,12-diaminododecane および 12-aminododecanoic acid に対する  $K_m$  値はそれぞれ  $3.0 \times 10^{-6}$  M および  $3.3 \times 10^{-5}$  M であった。<sup>90)</sup>

*Saccharomyces cerevisiae* を放射線照射下に acrylamide に固定化し、その alcohol dehydrogenase 活性を調べた。菌体を 1% toluene 中で 20 分間かく拌した後固定化すると十分な活性を示し、熱に対してやや不安定であったが、フリーザー中で凍結するか風乾後

4°C に保存した場合には十分な活性を保持できた。<sup>91)</sup>

NAD<sup>+</sup> と固定化 3 $\beta$ -hydroxy steroid dehydrogenase を用いる高速液体クロマトグラフィーによる, 3 $\beta$ -hydroxy 胆汁酸およびそのグルクロニドの測定法を開発した. 本法は前処理として生物試料から胆汁酸の抽出および  $\beta$ -glucuronidase による酵素的な水解を必要とした. また, 本法は sulfatase 前処理することによって硫酸抱合型胆汁酸の測定にも応用することができた.<sup>92,93)</sup>

*Pachysolen tannophilus* IFO 1007 の D-xylulose reductase を精製した. 本酵素は分子量 120,000 で, 分子量 40,000 の同一サブユニットから構成され, 至適 pH 9.1~10.0, 至適温度 55°C であった. xylitol, sorbitol, ribitol などを酸化し, それらに対する  $K_m$  値は  $1.1 \times 10^{-2}$  M,  $3.0 \times 10^{-2}$  M, および  $5.0 \times 10^{-2}$  M であった. なお, 本活性は MgCl<sub>2</sub> や glutathione, cysteine によって促進された.<sup>94)</sup>

*Pseudomonas cruciviae* S93B1 の biphenyl-2, 3-dioxygenase を調べた. 本酵素は biphenyl-2, 3-diol (BD) の他に 3-methylcatechol などにも作用し, BD のベンゼン環を酸化的に開裂した. また, 本菌の 2-hydroxy-6-oxo-6-phenylhexa-2, 4-dienoic acid (HOPDA) 加水分解酵素も精製した. 本酵素は分子量 160,000 で, 分子量 29,000 のサブユニット 7 個から構成され, 至適 pH 4.7 で, HOPDA を水解して benzoic acid と 2-oxopent-4-enoic acid を生成した. さらに, HOPDA 還元に関与する 3 種の酵素も精製した. その中の還元酵素 III は分子量 170,000, 安定 pH 5~6 で, 補酵素として NADPH を要求し, HOPDA を還元して 2,6-dioxo-6-phenyl hexanoic acid を生成した.<sup>95-97)</sup>

*Serratia marcescens* C 886-2 の maltose 酸化酵素を調べた. 本活性は phenazine methosulfate 存在下に maltose, D-glucose, D-mannose, D-galactose を酸化する膜結合型酵素で, Triton X-100 によって可溶化された.<sup>98)</sup>

Creatinine (CRT) を分解する微生物として *Alcaligenes denitrificans* J9 および *Arthrobacter* sp. J5 および J11 を分離した. これらの菌株において, CRT は creatine (CR) を経て分解され, CRT amidohydrolase, CR amidohydrolase および sarcosine oxidase が関与したが, sarcosine dehydrogenase は関与しなかった.<sup>99)</sup>

Benzoquinone を含むカーボンペースト電極の表面

に glucose oxidase を固定化し, nitrocellulose 膜でコーティングした電極を作製した. この電極は D-glucose を接触的に酸化するバイオカタリスト電極として機能した.<sup>100)</sup>

*Pseudomonas* sp. の secondary alcohol oxidase (SAO) と  $\beta$ -diketone hydrolase (DKH) とによる polyvinylalcohol (PVA) の分解機構を調べた. SAO は PVA (分子量 220~1,500) や  $\beta$ -ketol を酸化し, DKH は脂肪族  $\beta$ -diketone やある種の芳香族  $\beta$ -diketone を水解することから, PVA はまず SAO によって酸化され, 続いて DKH によって水解されることが示された.<sup>101)</sup>

多孔性酸性白土に catalase を固定化した. 固定化酵素は遊離酵素の約 23% の相対活性を示し, 3.6 mM の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を含むフスマ廃液中の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の 85% を連続的に分解した.<sup>102)</sup>

*Phanerochaete chrysosporium* の peroxidase (PO) を調べた. 本菌は H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 存在下にリグニンを分解する PO I と, NADH や phenol red を酸化する PO II とを持ち, 両酵素を NADH 存在下にリグニンモデルと作用させると, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> が存在しなくても分解が進行した. この結果, PO II は PO I への H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 供与体として働いていることが示された.<sup>103)</sup>

*Arthromyces ramosus* の peroxidase を結晶化した. 本酵素は分子量 41,000 で, 等電点 3.4, RZ 値約 2.7, 至適 pH 6.0, 至適温度 40°C を示した. プロトヘム IX を補欠分子族として持ち, 約 5% の糖を含んでいた.<sup>104)</sup>

*Trametes visicolor* による 2 種の laccase (LA および LB) の生産条件を調べた. 野生株の laccase は誘導的に生成し, LA が活性の 90% を占めていたのに対し, 高濃度 phenol 存在下に造成した変異株は, 誘導しない場合には LA が 40% を占め, *p*-xylydine で誘導すると LA だけが顕著に増加した.<sup>105)</sup>

高温性菌 *Chaetoniium thermophile* O-453 の polyphenol oxidase を精製した. 本酵素は分子量 98,000, 至適 pH 5.0, 至適温度 55°C で, *d*-catechin, *p*-hydroquinone, *N,N*-dimethyl-*p*-phenylenediamine などを酸化したが, *o*-phenylenediamine や DL-DOPA などは酸化しなかった.<sup>106)</sup>

## 7-8 糖代謝および TCA 関連酵素

*Euglena gracilis* SM-ZK の D-fructose 6-phosphate (F-6-P) 1-phosphotransferase を調べた. 本酵素は

fructose-2, 6-biphosphate (F-2, 6-P<sub>2</sub>) によって著しい活性化がみられた。F-6-P に対する飽和曲線は、F-2, 6-P<sub>2</sub> 非存在下ではシグモイド型、存在下ではミカエリス型を呈し、pyrophosphate に対しては F-2, 6-P<sub>2</sub> の有無に関係なくミカエリス型を呈した。<sup>107)</sup>

*Euglena gracilis* SM-ZK の2種の NAD<sup>+</sup> 依存型 malate dehydrogenase (MDH) を精製した。ミトコンドリア由来の m-MDH は分子量 69,000 で、分子量 34,000 の同一サブユニットから構成され、等電点 7.0 であった。また、細胞質由来の s-MDH は分子量 72,000 で、分子量 36,000 の同一サブユニットから構成され、等電点 4.15 であった。<sup>108)</sup>

*Paecilomyces varioti* AHU 9417 の NADP<sup>+</sup> 依存型 isocitrate dehydrogenase を精製した。本酵素は分子量 99,000 で、分子量 51,000 の同一サブユニットから構成され、至適 pH 8.4 であった。threo-Ds-isocitrate (IC) および NADP<sup>+</sup> に対する  $K_m$  値は、それぞれ  $1.2 \times 10^{-5}$  M および  $4.4 \times 10^{-6}$  M であった。なお、 $\alpha$ -ketoglutarate および oxalacetate は IC に対して 1 mM の濃度でそれぞれ拮抗的におよび非拮抗的に阻害したが、他の TCA および glyoxylate 回路関連の有機酸は影響を与えなかった。<sup>109)</sup>

炭化水素酸化性菌 *Candida tropicalis* の isocitrate lyase を調べた。本酵素は *n*-アルカンを唯一の炭素源として生育した場合にはマイクロボディ中に誘導的に生成し、glucose に生育した場合には構成的に生成した。いずれの酵素も分子量 130,000 で、分子量 65,000 の同一サブユニットから構成され、ほぼ同一のペプチドフラグメントを持ち、免疫化学的にも差異は認められなかった。<sup>110)</sup>

## 7-9 その他

*Saccharomyces cerevisiae* cdc 28 の核内 protein kinase を調べた。本活性は 0.2% Nonidet P-40 で可溶化され、制限温度 (37°C) で処理した場合に許容温度 (23°C) で培養したものに比較して顕著に低下した。<sup>111)</sup>

*Bacillus stearothermophilus* の glucokinase をヒト血清マグネシウム定量に応用した。本酵素は従来から使用されている hexokinase と比較して、ATP に対する  $K_m$  値が小さく、単位タンパク質当たりの比活性が高いことおよび長期保存に耐えることなどからより実用的であった。<sup>112)</sup>

*Bacillus stearothermophilus* の leucyl-tRNA synthase を用いたペプチド合成反応を調べた。本反応

は求核成分に対してミカエリス型を呈し、ATP の代わりに 2'-deoxy ATP あるいは Mg<sup>2+</sup> の代わりに Fe<sup>3+</sup> などの多価金属イオンを用いた場合に  $V_{max}$  が上昇し、nucleotide に対する  $K_m$  値も上昇した。<sup>113)</sup>

*Penicillium oxalicum* の酵素によって sucrose から生成する1種の oligosaccharide を単離し、その化学構造を各種スペクトル分析およびメチル化分析によって調べたところ、本物質は既にユリ科植物などから知られる neokestose であった。<sup>114)</sup>

*Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F の dextransucrase (DSI) に対する阻害剤の阻害形式を調べた。拮抗、非拮抗阻害剤の結合部位は異なっていた。2種類の非拮抗阻害剤は同じ部位に結合し、両者間に拮抗が見られた。基質 sucrose に対する拮抗、非拮抗阻害剤はそれぞれ酵素の供与体、受容体部位に結合すると考えられた。また、同菌の dextran ゲルに対して強い親和性を示す dextransucrase (DS II) も調べた。DS II は主成分 DS I と分子量やサブユニット構造は一致したものの、dextran 存在下にその合成活性が 9.6倍促進される点で大きく異なっていた。<sup>115,116)</sup>

*Penicillium* sp. K25 の菌体内  $\beta$ -fructofuranosidase を調べた。本酵素は至適 pH 6.0, 至適温度 45°C で、sucrose の他に raffinose, stachyose にも作用したが、maltose, phenyl- $\alpha$ -glucoside 類などには全く作用しなかった。なお、sucrose 以外に glucose, fructose, xylose も fructosyl 基の良好な受容体になり、それぞれ 1 位 OH 基にのみ選択的に転移した。<sup>117)</sup>

*Streptomyces* sp. W19-1 株の粗酵素を curdlan 共存下に stevioside (ST) と作用させたところ、数種の glucosyl-ST が生成した。それらの中の主産物は 13-O- $\beta$ -sophorosyl-19-O- $\beta$ -laminaribiosyl steviol, 同 laminaritriosyl steviol および 13-O- $\beta$ -3<sup>2</sup>- $\beta$ -glucosyl-sophorosyl-19-O- $\beta$ -glucosyl steviol であった。<sup>118)</sup>

好アルカリ性菌 *Bacillus* sp. HA 3-3-2 の cyclodextrin glucanotransferase を精製した。本酵素は分子量 68,000, 至適 pH 6.5~8.0 で、かなりの耐熱性を示し、PCMB や EDTA では阻害されなかった。<sup>119)</sup>

*Escherichia coli* の  $\beta$ -galactosidase を sucrose 存在下に *o*-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactoside (NPG) と反応させたところ、isoraffinose (6G- $\beta$ -galactosylsucrose) が収率よく生成した。また、NPG の代わりに lactose を用いると allolactose の蓄積が認められた。<sup>120)</sup>

*Zymomonas mobilis* IFO 13756 の phosphatidylethanolamine (PEA) *N*-methyltransferase を精製し

た。本酵素は分子量 120,000 で、分子量 42,000 の同一サブユニットから構成され、PEA→*N*-methyl PEA→*N*, *N*-dimethyl PEA→phosphatidylcholine の3反応を触媒した。いずれの反応も至適 pH は 8.5 で、0.04% Triton X-100 と 10 mM の L-cysteine によって活性が促進された。<sup>121)</sup>

*Aspergillus niger* GRM 3 の glycyrrhizinic acid (GRA) hydrolase を精製した。本酵素は分子量 150,000, 至適 pH 4.1~4.5, 至適温度 45°C で、GRA を水解して glycyrrhetic acid と D-glucuronyl-β-1, 2-D-glucuronic acid を生成した。<sup>122)</sup>

*Alcaligenes* sp. NG-11 の2種の β-glucuronidase (G I および G II) を精製した。G I は分子量 75,000, 至適 pH 7.5 で、estrogen-3-β-glucuronide (E3β-G) に特異的に作用し、phenolphthalein, saccharo-1, 4-lactone, glucaro-δ-lactone, PCMB, Hg<sup>2+</sup>, NBI によって阻害された。一方、G II は分子量 300,000, 至適 pH 6.0 で、E3β-G の他に E17β-G, E16α-G, androsterone 3α-G, cortisol 17α-G などに幅広く作用し、G I と同様の阻害を受けたが、phenolphthalein によっては阻害されなかった。<sup>123)</sup>

*Proteus vulgaris* NCTC 4636 による chondroitinase ABC の生産条件を調べた。本菌は chondroitin sulfate C によって当該酵素を誘導生産し、pH 8.0, 25°C の条件下に酵母エキス、ペプトンおよびカザミノ酸を添加した場合に最大生産を示した。しかし、glucose, glycerol あるいは TCA 関連有機酸が存在すると抑制された。最適条件下に培養した菌体から精製した当該酵素は分子量 120,000 で、分子量 86,000 および 32,000 のサブユニットから構成されていた。<sup>124,125)</sup>

*Flavobacterium* sp. no.1022 の endo-β-*N*-acetylglucosaminidase を精製した。本酵素は分子量 27,000 ~30,000, 等電点 4.5, 至適 pH 5.6~6.0, 至適温度 50°C で、dansyl-Asn-(GlcNAc)<sub>2</sub>(Man)<sub>6</sub> に対する  $K_m$  値は  $3.0 \times 10^{-4}$  M であった。なお、本酵素は中性オリゴ糖を含む glycoprotein の glycosyl-asparagine 結合に作用し、あらかじめ SDS で処理するかまたは煮沸した glycoprotein にはより強力に作用してオリゴ糖を遊離した。<sup>126,127)</sup>

*Pseudomonas chlororaphis* B 23 による nitrile hydratase の生産条件を検討した。本酵素は Fe<sup>2+</sup>(<sup>3+</sup>) 存在下に methacrylamide によって誘導生産される。炭素源として sucrose を使い、L-cysteine, L-glutamic acid および L-proline を含む培地の pH を 7.5~7.8

に保ち、25°C で26時間培養すると最大生産が得られた。<sup>128)</sup>

NADPH 依存 methylglyoxal (MG) reductase (MGR) 関与プラスミド pYMG 14 を持つ *Saccharomyces cerevisiae* における菌の生育と MGR 活性を調べた。本菌の生育は完全に培地中の MG に依存し、MG は主として lactaldehyde を経由して lactate へ変換され、S-lactoylglutathione (LG) を経由する経路は不活発であった。そこで本菌の LG を lactate と glutathione へ変換する glyoxalase II を調べた。本酵素は分子量 19,000 で、LG に特異的に作用し、 $K_m$  値は  $7.0 \times 10^{-6}$  M で、各種チオール化合物によって阻害された。また、glyoxalase I も精製した。これは分子量 33,000 で、methylglyoxal に対する  $K_m$  値は  $1.2 \times 10^{-3}$  M, EDTA によって失活したが、Mg<sup>2+</sup> または Ca<sup>2+</sup> の添加によって回復し、Fe<sup>2+</sup> あるいは spermine によって強く活性化された。<sup>129-131)</sup>

パン酵母の arylesterase を精製した。本酵素は分子量 84,000 で、分子量 40,000 の同一サブユニットから構成され、naphthylester および *p*-nitrophenylester 類を加水分解し、PCMB などによって阻害された。<sup>132)</sup>

*Erwinia carotovora* FERM P-7576 の粗酵素を用い、ミツマタ靱皮に対するマセレーション活性を調べた。粗酵素中には endo-pectate lyase と endo-pectin lyase とが含まれており、後者がマセレーション活性の主力であった。本酵素は分子量 39,000, 等電点 8.2, 比活性 7911 units/mg であった。<sup>133)</sup>

*Bacillus polymyxa* A-57 の細胞内 acetoacetate decarboxylase を精製した。本酵素は分子量 280,000 で、10個の等しいサブユニットから構成され、至適 pH 5.9, Li-acetoacetate に対する  $K_m$  値および  $V_{max}$  値はそれぞれ  $9.4 \times 10^{-4}$  M および 296 μmol/min/mg であった。また、培養ろ液中には別の同活性が認められ、この活性本体は polymyxin M<sub>1</sub> であり、 $K_m$  値および  $V_{max}$  値はそれぞれ  $4.0 \times 10^{-1}$  M および 0.25 μmol/min/mg であった。<sup>134)</sup>

*Penicillium digitatum* IFO 9372 の ethylene 生成酵素を調べた。本酵素は L-arginine および Fe<sup>2+</sup> 存在下に還元条件 (dithiothreitol) 下で α-ketoglutarate から ethylene を生成した。各物質の最適濃度はそれぞれ 0.5 mM, 0.075 mM, 1 mM および 1 mM であった。<sup>135)</sup>

紫外線吸収スペクトルによる dextran の測定を試みた。*Leuconostoc mesenteroides* の生産する dextran

は glycogen や可溶性デンプンよりも高い吸収を示し、約 1.5 mg/ml 濃度を上限として 220 nm の吸光度と比例関係を呈した。本法の適用には夾雑するタンパク質や多糖の除去が不可欠であったが、精製酵素による高分子 dextran の合成・分解反応の測定には有用であった。<sup>136)</sup>

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) Kanno, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 23 (1986).
- 2) Kanno, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2633 (1986).
- 3) Tani, Y., Vongsuvanlert, V., Kumnuanta, J.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 405 (1986).
- 4) Sasaki, H., Kurosawa, K., Takao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1661 (1986).
- 5) Takao, S., Sasaki, H., Kurosawa, K., Tanida, M., Kamagata, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1979 (1986).
- 6) Sata, H., Taniguchi, H., Maruyama, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2803 (1986).
- 7) Tanaka, Y., Ashikari, T., Nakamura, N., Kiuchi, N., Shibano, Y., Amachi, T., Yoshizumi, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 965 (1986).
- 8) Tanaka, Y., Ashikari, T., Nakamura, N., Kiuchi, N., Shibano, Y., Amachi, T., Yoshizumi, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1737 (1986).
- 9) Arai, M., Sumida, M., Fukuhara, K., Kainosho, M., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 639 (1986).
- 10) Taniguchi, H., Sata, H., Maruyama, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2423 (1986).
- 11) Yoshigi, N., Chikano, T., Kamimura, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1335 (1986).
- 12) Yamamoto, K., Kitamoto, Y., Ohata, N., Isshiki, S., Ichikawa, Y.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 285 (1986).
- 13) Yamamoto, K., Tsuji, Y., Kumagai, H., Tochikura, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1689 (1986).
- 14) Kamiya, S., Esaki, S., Sano, R., Yamaguchi, C.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2147 (1986).
- 15) Tochikura, T., Sakai, K., Fujiyoshi, T., Tachiki, T., Kumagai, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2279 (1986).
- 16) Ikura, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2747 (1986).
- 17) Sakai, K., Tachiki, K., Kumagai, H., Tochikura, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2287 (1986).
- 18) Kusama, S., Kusakabe, I., Murakami, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2891 (1986).
- 19) Desai, J. D., Ray, R., Desai, A.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 255 (1986).
- 20) 永井利和, 柏木 豊, 馬替由美, 佐々木堯: 醸酵工学, 64, 517 (1986).
- 21) Funaguma, T., Tsuji, H., Hara, A.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 77 (1986).
- 22) Kamagata, Y., Sasaki, H., Takao, S.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 211 (1986).
- 23) Kamagata, Y., Yachi, M., Sasaki, H., Takao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2989 (1986).
- 24) Araujo, A., D'Souza, J.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 463 (1986).
- 25) 野崎信行, 中川秀幸, 柏木 豊, 馬替由美, 佐々木堯: 日食工誌, 33, 496 (1986).
- 26) Parekh, S., Margaritis, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1085 (1986).
- 27) Nakano, H., Takenishi, S., Watanabe, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3005 (1986).
- 28) Honda, H., Kudo, T., Horikoshi, K.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 373 (1986).
- 29) Tanaka, T., Shimomura, M., Himejima, M., Taniguchi, M., Oi, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2185 (1986).
- 30) Chen, W. P., Matsuo, M., Yasui, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1183 (1986).
- 31) Chen, W. P., Matsuo, M., Yasui, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1195 (1986).
- 32) Kitpreechavanich, V., Hayashi, M., Nagai, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1703 (1986).
- 33) 福岡 聡, 小林良生: 醸酵工学, 64, 261 (1986).
- 34) Sreenath, H. K., Kogel, F., Radola, B. J.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 37 (1986).
- 35) 原 敏夫, 藤尾雄策, 上田誠之助: 日食工誌, 33, 336 (1986).
- 36) Usui, T., Oguchi, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 235 (1986).
- 37) Tojo, A., Samasanti, W., Yoshida, N., Aizawa, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 575 (1986).
- 38) Takeuchi, M., Ichishima, E.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 633 (1986).
- 39) Oda, K., Torishima, H., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 651 (1986).
- 40) Oda, K., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 659 (1986).
- 41) Kobayashi, H., Kusakabe, I., Okumura, M., Murakami, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 923 (1986).
- 42) Yagi, F., Fan, J., Tadera, K., Kobayashi, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1029 (1986).
- 43) Takeuchi, M., Ichishima, E.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1403 (1986).
- 44) Sugie, M., Suzuki, H., Tomizuka, N.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1397 (1986).
- 45) Sugie, M., Suzuki, H., Tomizuka, N.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1633 (1986).
- 46) Pansare, A. C., Lewis, N. F., Venugopal, V.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1743 (1986).

- 47) Oda, K., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1995 (1986).
- 48) Nishino, T., Shimizu, T., Fukuhara, K., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3059 (1986).
- 49) Nishino, T., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3065 (1986).
- 50) Masaki, T., Suzuki, H., Soejima, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3087 (1986).
- 51) Murao, S., Oda, K., Tsuji, M., Terashita, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3225 (1986).
- 52) Morinaga, T., Kanda, S., Nomi, R.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 451 (1986).
- 53) Tokiwa, Y., Suzuki, T., Takeda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1323 (1986).
- 54) Hamaguchi, S., Ohashi, T., Watanabe, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1629 (1986).
- 55) Kutsuki, H., Sawa, I., Hasegawa, J., Watanabe, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2369 (1986).
- 56) Gomi, K., Ota, Y., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2525 (1986).
- 57) Gomi, K., Ota, Y., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2531 (1986).
- 58) Yamamoto, K., Kadowaki, S., Takegawa, K., Kumagai, H., Tochikura, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 421 (1986).
- 59) Totsuka, A., Usui, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 543 (1986).
- 60) Kusama, S., Kusakabe, I., Murakami, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1101 (1986).
- 61) Uyeda, M., Ikeda, A., Ogata, T., Shibata, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1885 (1986).
- 62) Yamamoto, K., Takegawa, K., Kumagai, H., Tochikura, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2167 (1986).
- 63) Hiura, N., Kobayashi, M., Nakajima, T., Matsuda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2461 (1986).
- 64) Hayashida, M., Watanabe, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2685 (1986).
- 65) 五味勝也, 保坂大二郎, 岡崎直人, 田中利雄, 熊谷知栄子, 飯村 穰, 原 昌道: *醸酵工学*, 64, 479 (1986).
- 66) Yabuki, M., Mizushima, K., Amatatsu, T., Ando, A., Fujii, T., Shimada, M., Yamashita, M.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 25 (1986).
- 67) Watanabe, H., Enomoto, K., Ohgi, K., Irie, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1107 (1986).
- 68) Takahashi, M., Yamaguchi, E., Uchida, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1333 (1986).
- 69) Yamauchi, H., Machida, H., Midorikawa, Y., Kuninaka, A.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 455 (1986).
- 70) Katsuragi, T., Sakai, T., Tonomura, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1713 (1986).
- 71) Katsuragi, T., Sakai, T., Matsumoto, K., Tonomura, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1721 (1986).
- 72) Shirokane, Y., Nakajima, M.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 29 (1986).
- 73) Owaki, J., Uzura, K., Minami, Z., Kusai, K.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 205 (1986).
- 74) Yoshida, T., Habuka, N., Takeuchi, M., Ichishima, E.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 515 (1986).
- 75) Yorifuji, T., Furuyoshi, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1327 (1986).
- 76) Matsumura, S., Suzuki, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 505 (1986).
- 77) Kakitani, M., Tonomura, B., Hiromi, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2437 (1986).
- 78) Watanabe, K., Murata, K., Kimura, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1925 (1986).
- 79) Mizukami, T., Yagisawa, M., Kawahara, S., Kase, H., Oka, T., Furuya, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1015 (1986).
- 80) Miyagawa, E., Harada, T., Motoki, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1527 (1986).
- 81) Matsumura, E., Yamamoto, E., Kawano, T., Shin, T., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1563 (1986).
- 82) Matsumura, E., Yomoda, S., Yamamoto, E., Kawano, T., Shin, T., Murao, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2675 (1986).
- 83) Yoshizawa, M., Ueda, M., Mozaffar, S., Tanaka, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2637 (1986).
- 84) Ameyama, M., Nonobe, M., Shinagawa, E., Matsushita, K., Takimoto, K., Adachi, O.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 49 (1986).
- 85) Yokota, A., Sasajima, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2517 (1986).
- 86) Misono, H., Ogasawara, M., Nagasaki, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1329 (1986).
- 87) Misono, H., Ogasawara, M., Nagasaki, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2729 (1986).
- 88) Ogushi, S., Ando, M., Tsuru, D.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2503 (1986).
- 89) Yorifuji, T., Koike, K., Sakurai, T., Yokoyama, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2009 (1986).
- 90) Niimura, Y., Omori, T., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1445 (1986).
- 91) 林 徹, 田島 真, 川嶋浩二: *食総研報*, 49, 24 (1986).
- 92) 奥村一忠, 奥山澄彦, 高木健次, 森川訓行, 杉山恵一, 熊田 卓, 新実紀二: *ビタミン*, 60, 157 (1986).
- 93) 高木健次, 奥山澄彦, 奥村一忠, 森川訓行, 熊田卓, 杉山恵一, 新実紀二: *ビタミン*, 60, 165 (1986).
- 94) Morimoto, S., Matsuo, M., Azuma, K., Sinskey, J. A.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 219 (1986).

- 95) Omori, T., Sugimura, K., Ishigooka, H., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 931 (1986).
- 96) Ishigooka, H., Yoshida, Y., Omori, T., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1045 (1986).
- 97) Omori, T., Ishigooka, H., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1513 (1986).
- 98) Kido, Y., Yano, J., Miyagawa, E., Mimura, H., Motoki, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1641 (1986).
- 99) Kim, J. M., Shimizu, S., Yamada, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2811 (1986).
- 100) Ikeda, T., Hamada, H., Senda, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 883 (1986)
- 101) Sakai, K., Hamada, N., Watanabe, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 989 (1986).
- 102) 谷下準一, 小幡 斉, 徳山 泰: 日食工誌, 33, 342 (1986).
- 103) Asada, Y., Miyabe, M., Kikkawa, M., Kuwahata, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 525 (1986).
- 104) Shinmen, Y., Asami, S., Amachi, T., Shimizu, S., Yamada, H.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 247 (1986).
- 105) Hunolstein, C., Valenti, P., Visca, P., Antonini, G., Nicolini, L., Orsi, N.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 185 (1986).
- 106) Ishigami, T., Yamada, Y.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 32, 293 (1986).
- 107) Miyatake, K., Enomoto, T., Kitaoka, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2417 (1986).
- 108) Miyatake, K., Washio, K., Yokota, A., Nakano, Y., Kitaoka, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2651 (1986).
- 109) Takao, S., Iida, T., Tanida, M.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1573 (1986).
- 110) Uchida, M., Ueda, M., Matsuki, T., Okada, H., Tanaka, A., Fukui, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 127 (1986).
- 111) Tsuchiya, E., Fukui, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2963 (1986).
- 112) Dombou, M., Nakajima, H., Kitabatake, S., Tomita, K., Imahori, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2967 (1986).
- 113) Tabata, M., Kido, T., Totani, M., Murachi, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1909 (1986).
- 114) Yasuda, H., Shitoh, T., Yamano, T., Itoh, Y., Shimura, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 777 (1986).
- 115) Kobayashi, M., Mihara, K., Matsuda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 551 (1986).
- 116) Kobayashi, M., Yokoyama, I., Matsuda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2585 (1986).
- 117) 北畑寿美雄, 末武周一, 岡田茂孝: 日食工誌, 33, 826 (1986).
- 118) Kusama, S., Kusakabe, I., Nakamura, Y., Eda, S., Murakami, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2445 (1986).
- 119) Nomoto, M., Chen, C.-C., Sheu, D.-C.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2701 (1986).
- 120) Suyama, K., Adachi, S., Toba, T., Sohma, T., Hwang, C.-J., Itoh, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2069 (1986).
- 121) Tahara, Y., Ogawa, Y., Sakakibara, T., Yamada, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 257 (1986).
- 122) Muro, T., Kuramoto, T., Imoto, K., Okada, S.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 687 (1986).
- 123) Ogushi, S., Koga, S., Itoh, K., Makino, Y., Ando, M., Tsuru, D.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3093 (1986).
- 124) Sato, N., Murata, K., Kimura, A.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 155 (1986).
- 125) Sato, N., Murata, K., Kimura, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1057 (1986).
- 126) Yamamoto, K., Kadowaki, S., Takegawa, K., Kumagai, H., Tochikura, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 421 (1986).
- 127) Yamamoto, K., Takegawa, K., Fan, J., Kumagai, H., Tochikura, T.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 397 (1986).
- 128) Yamada, H., Ryuno, K., Nagasawa, T., Enomoto, K., Watanabe, I.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2859 (1986).
- 129) Murata, K., Inoue, Y., Saikusa, T., Watanabe, K., Fukuda, Y., Shimosaki, M., Kimura, A.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 1 (1986).
- 130) Murata, K., Inoue, Y., Watanabe, K., Fukuda, Y., Saikusa, T., Shimosaka, M., Kimura, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 135 (1986).
- 131) Murata, K., Saikusa, T., Fukuda, Y., Inoue, Y., Watanabe, K., Shimosaka, M., Kimura, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2381 (1986).
- 132) Toshimitsu, N., Hamada, H., Kojima, M.: *J. Ferment. Technol.*, 64, 459 (1986).
- 133) Tanabe, H., Kobayashi, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2779 (1986).
- 134) Kimura, Y., Yasuda, N., Tanigawa (Nagai), H., Nakabayashi, T., Matsunaga, H., Kimura, M., Matsuoka, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2509 (1986).
- 135) Fukuda, H., Fujii, T., Ogawa, T.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 977 (1986).
- 136) Kobayashi, M., Utsugi, M., Matsuda, K.: *Agric. Biol. Chem.*, 50, 1051 (1986).

## 酵素関係の特許公告

酵素・固定化	出願人	内 容	公告番号
D-ペプチダーゼ A	工業技術院長	<i>Streptomyces</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-68
半合成酵素	オーエンス・イリノイ	天然の蛋白質の基質特性を無機塩、酸または水混和性の有機溶剤で部分的に変える	昭61-3478
酸性プロテアーゼ	ヘンケル・ウント・コンパニー	<i>Rhizopus rhizopodiformis</i> ATCC 48608 の産生する本酵素の製造法	昭61-9033
ケラチナーゼ 35S	資 生 堂	<i>Keratinomyces ajellow</i> var. Kohoku の産生する本酵素	昭61-9034
ケラチナーゼ 145S	資 生 堂	<i>Keratinomyces ajellow</i> var. Nippa の産生する本酵素	昭61-9035
タウロ胆汁酸抱合酵素 WK-1	小 橋 恭 一	<i>Peptostreptococcus</i> 属, <i>Eubacterium</i> 属, <i>Streptococcus</i> 属または <i>Saccharomyces</i> 属の産生する新規な本酵素	昭61-9036
プロテアーゼ吸着体	日 本 化 薬	L-ロイシルアルギニナルジアルキルアセタール体を水不溶性担体に結合する	昭61-10118
L-2-ヒドロキシ-4-メチルペンタル酸-デヒドロゲナーゼ	デグッサ, ゲゼルシャフト・フュア・ビオテヒノロギッシュ・フォルシュング	<i>Lactobacillus confusus</i> 産生の本酵素	昭61-11591
$\beta$ -1,3-D-グルカナーゼ	ロート製薬	非イオン界面活性剤, 陽イオン殺菌剤, パラオキシ安息香酸エステル系防腐剤, および蛋白質分解酵素を用いて活性化する	昭61-11592
アスコルビン酸酸化酵素	東 洋 紡 績	アルギニン, リジン, ヒスチジン, およびホウ酸塩を用いる本酵素の安定化法	昭61-12675
生デンプン分解酵素	王子コーンスターチ	炭素源としてエピクロルヒドリンで架橋した化工デンプンを使用する本酵素の培養法	昭61-14793
ピルベートオキシダーゼ	ベーリンガー	乳殺菌の産生する本酵素	昭61-14794
クレアチナーゼ	東 洋 醸 造	<i>Bacillus</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-17465
液状酵素組成物	イワン・イー・モドロビッチ	水混和性の有機溶剤, 水溶性ポリマーなどを含み水性媒体中で不安定な酵素を安定化する液状酵素組成物	昭61-17466
ウレアーゼ	東 洋 紡 績	ウレアーゼ, チオール化合物, キレート試薬, 血清アルブミンおよび有機二塩基酸を含有する安定なウレアーゼ組成物	昭61-17467
線維素溶解活性酵素	ユ ニ チ カ	固体表面に皮膜を形成し, 皮膜上の未反応のアミノ基と本酵素を結合させ, 固体表面に活性を付与する	昭61-17468
固定化酵素	天 野 製 薬	グルンジルメタアクリレート単量体とアクリルアミド単量体の混合物と架橋剤の反応包括体に包括する	昭61-17469
不溶化酵素	ノ        ボ	アミログルコシダーゼ及びマルトース生成性 $\alpha$ -アミラーゼから選ばれた微粒子形態の不溶化糖化酵素	昭61-17470
脱炭酸酵素	田 辺 製 薬	反応系を加圧状態に保ち炭酸ガスを反応液中へ溶解させ液中の pH を最適に保つ新規反応法	昭61-19233
コリン酸化酵素	天 野 製 薬	<i>Penicillium</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-20267
コレステロール・オキシダーゼ	万 有 製 薬	コレステロールを担体とし, 本酵素を吸着, 溶出させて精製する	昭61-20268
ヒドロキシ・シナミック酸エステル加水分解酵素	キッコーマン	<i>Aspergillus</i> 属または <i>Botrytis</i> 属菌の産生する新規な本酵素	昭61-20269
クレアチニンイミノヒドロラーゼ	イーストマン・コダック	本酵素を生産する好気性土壌微生物の発酵方法	昭61-20270

$\alpha$ -グリセロリン酸オキシダーゼ	東洋紡績	<i>Pediococcus</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-21073
$\alpha$ -グリセロリン酸オキシダーゼ	東洋紡績	<i>Pediococcus</i> 属, <i>Streptococcus</i> 属, <i>Lactobacillus</i> 属または <i>Leuconostoc</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-21074
コレステロール・オキシダーゼ	東洋紡績	<i>Streptomyces</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-21075
コレステリンエステラーゼ	ベーリンガー	<i>Pseudomonas</i> 属菌の産生する本酵素水溶液をマグネシウムイオン含有の緩衝液で安定化する	昭61-21076
コリン酸化酵素およびベタインアルデヒド脱水素酵素	天野製薬	本酵素を水不溶性担体結合物に吸着, 溶出させて精製する	昭61-22951
グリセリンデヒドロゲナーゼ	ベーリンガー	<i>Acetobacter</i> 属および <i>Gluconobacter</i> 属の微生物の産生する NAD(P)-独立性本酵素	昭61-22952
ペルオキシダーゼ	三洋化成	ホウ酸イオン生成物質, 本酵素等を含有する水性組成物を凍結乾燥する	昭61-22953
アクアラインシン I	天野製薬	<i>Thermus</i> 属菌が産生し, 耐熱性を有する本酵素	昭61-23994
グリセロリン酸オキシダーゼ	東洋紡績	フラビン含有物質, 糖類, アルブミンまたはアミノ酸を用いて安定化する	昭61-23995
チトクロム酸化酵素	三菱化成	<i>Thermus thermophilus</i> HB8 菌体を破碎し, 本酵素を分離する	昭61-25352
セルラーゼ	福井作蔵	<i>Talaromyces</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-25353
グルタミン酸合成酵素	湧水製薬	<i>Micrococcus</i> 属および <i>Brevibacterium</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-26355
プトレシン・オキシダーゼ	徳山曹達	<i>Nocardia</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-26356
L-グルタミン酸オキシダーゼ	ヤマサ醤油	<i>Streptomyces</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-26357
ヘスペリジナーゼ AH-2	天野製薬	<i>Penicillium</i> 属菌が産生し, 耐熱性を有する本酵素の製造法	昭61-26358
マルターゼ	ザ・ボード・オブ・トランスティース・オブ・ザ・ユニバーシティ・オブ・アラバマ	<i>Saccharomyces</i> 属 ATCC 20488 の産生する新規な本酵素	昭61-26359
水不溶性酵素	カリ・ヒュミ	本酵素調製物を, 酵素を共有結合するための官能基を有する無機担体と, 酵素の溶液とを接触させ, 単離する	昭61-33557
固定化酵素	三菱レイヨン	酵素または生きた微生物を水不溶性高分子物質で包括する	昭61-34795
固定化酵素膜	日立製作所	多孔質不均質膜の膜孔内に酵素を内蔵させ, その膜に架橋剤を強制濾過し, 酵素を膜中に固定化する	昭61-34796
固定化酵素	ユニチカ, 大城孟	滅菌された担体を滅菌された酵素溶液により処理する	昭61-35829
グルコースイソメラーゼ	東レ	本酵素が固定化されたグルコース異性化繊維	昭61-35830
ベタインアルデヒド脱水素酵素	天野製薬	<i>Penicillium</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-37909
ピリドキサミン (ピリドキシン) 5'-ホスフェートオキシダーゼ	オリエンタル酵母工業	<i>Saccharomyces</i> 属菌の産生する本酵素の製造法	昭61-37910
固定化酵素	田辺製薬	多糖類のゲル格子内に微生物菌体を包括する	昭61-37912
糖蛋白酵素	味の素	$\alpha$ -位または $\omega$ -位のカルボキシル基が酸ヒドライド基に変換された酸性アミノ酸単位を含有するポリアミノ酸を用いる本酵素の固定化法	昭61-37913

固定化酵素	味の素	ポリメチルグルタミン酸に固体粒子を混合し、チューブ内面にコーティングするか、チューブ状に形成し、その内面に固定化する	昭61-37914
酵素反応方法	アンスティチュ・ナシオナル・ド・ラ・ルシエルシュ・アグロノミック	ポリマーのマトリックス中に封入された微生物を用いて酵素反応を行う方法	昭61-37919
<i>N</i> -アセチルヘキサミン酸化酵素	野田産業科学研究所	<i>Pseudomonas</i> sp. No15-1 の産生する本酵素	昭61-39035
ウロキナーゼ	ミドリ十字	ウイルスを不活性化するための加熱処理を施し、本酵素を安定化する	昭61-40392
ウロキナーゼ	わかもと製薬	抗原抗体反応の原理を用いて夾雑蛋白を除去する	昭61-41548
トリプトファン・シンセターゼ	三井東圧化学	<i>Escherichia coli</i> 属の微生物菌体を0.0001%以上のピリドキサルリン酸水溶液中に懸濁させ凍結保存する	昭61-42553
セリン・ラセマーゼ	三井東圧化学	<i>Pseudomonas putida</i> 属または <i>Aeromonas punctata</i> subsp. <i>caviae</i> 属の微生物菌体を0.0001%以上のピリドキサルリン酸水溶液中に懸濁させ、凍結保存する	昭61-42554
トリプトファン・シンセターゼ	三井東圧化学	グルコース濃度を1%以下に保つ本酵素生産菌 <i>Escherichia coli</i> の培養法	昭61-42555
セリン・ラセマーゼ	三井東圧化学	グルコース濃度を1%以下に保つ本酵素生産性 <i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> 属菌の培養法	昭61-42556
アスパラギナーゼ	美浜久春	アミノ基を部分的に置換し、抗原性を低下、または消す	昭61-42558
ニトリルヒドラーゼ	山田秀明, 日東化学	本酵素活性の高い <i>Pseudomonas</i> 属菌体の培養法	昭61-43996
ニトリルヒドラーゼ	山田秀明, 日東化学	本酵素生産性 <i>Pseudomonas</i> 属菌体の培養において、培地中にシステイン、シスチンを添加する	昭61-43997
ニトリルヒドラーゼ	山田秀明, 日東化学	本酵素生産性 <i>Pseudomonas</i> 属菌体の培養において、培地に $\alpha$ -アミノ酸を添加する	昭61-43998
ニトリルヒドラーゼ	山田秀明, 日東化学	本酵素生産性 <i>Pseudomonas</i> 属菌体の培養において、培地にアミド化合物を添加する	昭61-43999
洗剤用酵素粒剤	大日精化工業	粒状材料の表面に洗剤用酵素と中性～酸性で水不溶性でありアルカリ性で水溶性である変性セルローズからなる層を形成する	昭61-44471
ウロキナーゼ	わかもと製薬	本酵素を精製するためのアフィニティークロマトグラフィー用の新規吸着体	昭61-48918
酵素の固定化法	日東紡績	両性電解質型の架橋ポリマーで酵素を固定化する	昭61-48919
酵素の固定化法	マイルス・ラボラトリーズ	タンニン; 長鎖ポリアミンのカチオン性凝集剤および架橋剤を用い、固定化する	昭61-49956
アルカリ性プロテアーゼ	マイルス・ラボラトリーズ	<i>Flavobacterium arborescens</i> 種の微生物の産生する本酵素の製造法	昭61-51878
<i>N</i> $\alpha$ -カルボベンゾキシアミノ酸アミドヒドラーゼ	村尾澤夫	<i>Lactobacillus</i> 属菌の産生する本酵素	昭61-51879
<i>N</i> $\alpha$ -カルボベンゾキシアミノ酸アミドヒドラーゼ	村尾澤夫	<i>Streptococcus</i> 属菌の産生する本酵素	昭61-52678
<i>N</i> $\alpha$ -カルボベンゾキシ-L-アルギニンアミドヒドラーゼ	村尾澤夫	<i>Lactobacillus</i> 属菌の産生する本酵素	昭61-52679
酵素の固定化物	三菱油化	酵素を透過性塩化ビニル樹脂担体上に固定化する	昭61-53035
固定化酵素	日東電気工業	アクリロニトリル, メタクリロニトリル, 多官能性内部架橋用単量体, ラジカル重合性単量体を水溶性重合開始剤で乳化共重合し、この重合体粒子に酵素を結合する	昭61-53036

ヒダントイナーゼ	鐘淵化学工業	ピリミジン系核酸塩基またはその誘導体を0.05~0.5%含有する培地で微生物を培養し、本酵素を生成する	昭61-54397
ヘパリナーゼ	生化学工業	本酵素の部分精製液を、ヘパリン固定化アガロースを分離剤とするカラムクロマトグラフィーで精製する	昭61-54398
ホルムアルデヒドデヒドロゲナーゼ	東洋紡績	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドのみを電子受容体とし炭素数4以上のアルデヒド類、アルコール類、脂肪酸およびアミン類に作用せず、活性発現に還元型グルタチオンを要しない本酵素	昭61-55946
グルコアミラーゼ	シー・ピー・シーインターナショナル	<i>Stachybotrys</i> 属菌の産生する新規な本酵素	昭61-55947
グルコアミラーゼ	シー・ピー・シーインターナショナル	<i>Talaromyces</i> 属菌の産生する新規な本酵素	昭61-55948
セレノシステインリアーゼ	三井東圧化学	有機性のセレノシステインを無機のセレン化水素に変換する新規な本酵素	昭61-55949
アミラーゼ	台糖ファイザー	でんぷんを酸加水分解した2種のアミロデキストリンを含有する本酵素の基質	昭61-55960
プトレシンオキシダーゼ	徳山曹達	<i>Micrococcus flavidus</i> 菌の産生する本酵素の製造法	昭61-56996
新規ペプチダーゼ	生化学工業	<i>Flavobacterium</i> 属菌の産生する本酵素	昭61-56997
チミジンホスホリラーゼ	ザ・ウェルカム・ファウンデーション	ウラシル、無機リン酸塩、血清アルブミン、抗微生物剤を含有する本酵素標品	昭61-56998
アデニル酸キナーゼ	イスティチュート・シエロテラピーコ・エ・パッチノ・ジューノ・トスカーノ・スクラーボ・エセ・ピ・ア	アデノシン-5'-リン酸とアルカリ金属フッ化物を含有する本酵素阻害用組成物	昭61-56999
グルコシルトランスフェラーゼ	生体科学研究所	3-デオキシ-3-ヨード-グルコース, 2-デオキシ-2-ヨード-グルコース, 3-デオキシ-グルコース, 2-デオキシ-グルコースを用いる本酵素の活性阻害剤	昭61-57000
耐熱性酵素	三菱化成工業	<i>Thermus</i> 属菌の遺伝子を有するハイブリッドDNAを導入し形質転換した <i>Escherichia</i> 属菌菌体を加熱処理する	昭61-58159
固定化プロテアーゼ	鐘 紡	フィブリン水溶液と酸性プロテアーゼ水溶液とを混合し、pH 調整後塩析沈殿し、乾燥する	昭61-58160
グルコースイソメラーゼ	マイルス・ラボラトリーズ	<i>Flavobacterium arborescens</i> 種菌を、グルコースオキシムを含む栄養培地で生産する	昭61-59119
酵素反応方法	工業技術院長	アニオン性官能基を導入した荷電型限外ろ過膜を用いる	昭61-61799

(敷島紡績技術研 上山英夫)

(理研 北田牧夫)

(筑波大学応生化学系 大桃定洋)

(オリエンタル酵母工業(株)技術部 村上勝志)