

原著

Bacillus subtilis MT-19 株の産生するプロテアーゼの部分精製と性状検査

高取美保¹⁾ 口羽由記²⁾ 美祢弘子³⁾

草加病院 栄養給食部¹⁾

岡山大学 医学部 公衆衛生学教室²⁾

川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科³⁾

1995-10-18 00:00:00+09受理

Partial Purification and Examinations on the Properties of Protease produced by Bacillus subtilis MT-19

Miho TAKATORI¹⁾, Yuki KUCHIBA²⁾ and Hiroko MINE³⁾

Department of Nutrition¹⁾

Department of Public Health Faculty of Medicine Okayama, 700, Japan²⁾

Department of Clinical Nutrition Faculty of Medical Professions Kurashiki, 701-01, Japan³⁾

(Accepted 1995-10-18 00:00:00+09)

Key words:Bacillus subtilis, metal protease, isolated bacillus, casein agar plate

Abstract

Isolated airborne Bacillus subtilis MT-19 excreted protease into a chemically defined culture medium containing dialyzed enzymatic hydrolyzate of casein as a sole source of nitrogen. The supernatant of the culture medium was lyophilized after dialysis against distilled water. Crude protease was then purified through chromatography on DEAE-Sephacel and several chemical properties were studied using the partially purified sample. Protease activity was assayed using S-2586 as synthetic enzyme substrate. Molecular weight was estimated to be 20,000 by the method of casein-agar enzymography after SDS-PAGE and 21,000 by the method of gel-filtration using sephadex G-75. It was clearly shown that the protease had an optimal activity at pH 9 and was specifically inhibited by the metal protease inhibitor, EDTA. The activity

completely disappeared after heating 10 minutes at 80°C or 40 minutes at 70°C.

要約

空中より分離した *Bacillus subtilis* MT-19 株は透析カゼイン酵素加水分解物を単一の窒素源とする合成培地中にプロテアーゼを産生する。培養上清を蒸留水に対して透析した後、凍結乾燥してプロテアーゼの粗標品を得た。粗プロテアーゼを DEAE-Sephacel を用いたクロマトグラフィーにより部分精製して各種の生化学的性状の検査をおこなった。一連の実験のプロテアーゼ活性は S-2586 を酵素の合成基質として測定した。この結果得られたプロテアーゼは分子量が 20,000 (SDS-PAGE 後カゼイン寒天転写法による) ~ 21,000 (Sephadex G-75 を用いたゲル濾過法による) と計算された。また、このプロテアーゼの至適 pH は 9 であり、メタロプロテアーゼの阻害剤である EDTA によってのみ活性化が低下する事が明確に示された。さらに、プロテアーゼ活性は、80°C で 10 分間または 70°C で 40 分間の加熱処理により完全に消失した。
