

## 【ノート】

Purification and characterization of a protease from *Isaria cicadae*

Chihiro TAKEKAWA<sup>1)</sup>, Kazuo NAKAMURA<sup>1)\*</sup>, Hiroto HOMMA<sup>2)</sup> and Takuji OYAMA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, University of Yamanashi, Takeda, Kofu, Yamanashi 400-8510, Japan

<sup>2)</sup> Department of Brewing and Fermentation, Junior College of Tokyo University of Agriculture, Sakuragaoka, Setagaya, Tokyo 156-8502, Japan

(Received 26 December 2013 / Accepted 20 May 2014)

## [Abstract]

An extracellular protease in *Isaria cicadae* extracted from a liquid culture with wheat bran was purified and characterized. This mushroom showed two morphologies on agar plates: mycelia with and without conidia. High enzyme activity was detected in the culture filtrate extract of the mycelia with conidia. The enzyme was purified 13-fold with a yield of 33% using CM-Sepharose column chromatography. Electrophoretic analysis of the purified enzyme showed a single band. The molecular mass of the enzyme was 30.6 kDa by SDS-PAGE and 31 kDa by gel filtration. The N-terminal amino acid sequence of the protease was AFTTQPGAVW. The optimum temperature and pH were 55°C and 9.0, respectively. The enzyme was stable in the pH range 4 to 7. The  $K_m$  value for the hydrolysis of casein was 0.48 mg/mL. The enzyme activity was strongly inhibited by phenylmethylsulfonyl fluoride. From the results, it is suggested that the enzyme is a serine protease.

**Key words:** Characterization, *Isaria cicadae*, Protease, Purification

## [摘要]

ツクツクボウシタケのフスマ液体培養から抽出した菌体外プロテアーゼを精製し、その性質を調べた。寒天培地上で分生子形成菌糸体と未分生子形成菌糸体の二形態をとることがわかった。分生子形成菌糸体は高い酵素活性を示した。CM-Sepharose カラムクロマトグラフィーによって、収率 33%、13 倍に精製された。酵素標品は電気泳動的に単一のバンドが得られた。分子量は SDS-PAGE によって 30.6 kDa、ゲル濾過クロマトグラフィーによって 31 kDa であったので、本酵素はモノマーであることが示唆された。N-末端アミノ酸配列は AFTTQPGAVW であった。最適温度と最適 pH はそれぞれ 55°C と 9.0 であった。pH 4-7 の範囲で安定であった。カゼインに対する  $K_m$  値は 0.48 mg/mL であった。活性は PMSF によって強く阻害された。これらの結果から本酵素はセリンプロテアーゼであることが示された。