



Regulacja biosyntezy niektórych pozakomórkowych enzymów u *Bacillus subtilis* IBTC-3. Wpływ składu podłoża hodowlanego

Tadeusz Trzmiel

Mirostawa Szczęśna

Edward Galas

Instytut Biochemii Technicznej
Politechnika Łódzka

1. Wstęp

Bakterie z rodzaju *Bacillus* odgrywają podstawową rolę w rozwoju przemysłu enzymatycznego (1). Prawie 3/5 produkowanych w skali światowej preparatów enzymatycznych przypada na proteiny i α -amylazy otrzymywane w oparciu o hodowlę tych bakterii (2). Wytwarzają ponadto około 40 innych pozakomórkowych enzymów (3), z których wiele posiada biotechnologiczne znaczenie (4,5,6), a niektóre unikatowe właściwości. Do tych ostatnich należą m.in. termostabilne: pululanazy (7,8); ksylanaza (9); β -mannanaza (10); termostabilna alkaliczna β -1,3-glukanaza (11); alkaliczna celulaza (12), czy karboksylolizaza (13). Nagromadzono również wiele spostrzeżeń dotyczących regulacji ich biosyntezy, przy czym szczególnie dużo uwagi poświęcono wytwarzaniu proteinaz. Niestety, uporządkowanie tej

wiedzy sprawia spore trudności. Wiele z poczynionych obserwacji jest sprzecznych ze sobą, co może być wynikiem stosowania w badaniach różnych gatunków i ras *Bacillus* sp. często niewłaściwie sklasyfikowanych oraz kultur zmutowanych (1). Ponadto regulacja biosyntezy niektórych z enzymów produkowanych przez bakterie z rodzaju *Bacillus* (np. subtilizyny) jest wyjątkowo skomplikowana i nie mieści się w żadnym ze znanych dotychczas schematów (14).

Celem pracy było zbadanie wpływu składu podłoża hodowlanego na produkcję niektórych pozakomórkowych enzymów przez bakterie *Bacillus subtilis* IBTC-3 oraz rozpoznanie mechanizmów odpowiedzialnych za regulację ich biosyntezy. Omawiany szczep wytwarza pozakomórkowo m.in. serynową proteinazę (subtilizynę typu *Novo*), metaloproteinazę (obojętną proteinazę), α -amylazę i enzym (lub enzymy) wykazujące aktywność lipolityczną (15,16). W oparciu o wglębną hodowlę tych bakterii opracowano w Instytucie Biochemii Technicznej i sprawdzono w skali półtechnicznej technologię wytwarzania preparatów subtilizyny, enzymu powszechnie stosowanego w enzymatycznych proszkach piorących.

2. Materiały i metody

2.1. Materiał biologiczny

Bacillus subtilis IBTC-3 (kolekcja Instytutu Biochemii Technicznej) przechowywano w 4°C na podłożu wzrostowym stałym oraz w formie zliofilizowanej. Materiał posiewowy do hodowli wstrząsanych stanowiła biomasa bakteryjna uaktywniona w 24-godzinnej hodowli statycznej na stałym podłożu wzrostowym, w 37°C.

2.2. Podłoża

Podłoże wzrostowe stałe: 1:1 bulion (1,5%) i brzezka piwna (8°Błg) oraz 2% agaru, pH = 8,4.

Skład podłoży modelowych MI, MII i MIII oraz podłoża P — opracowanego w wyniku wcześniejszych badań (15) — podano w tab. 1.

2.3. Warunki hodowli wstrząsanej

Hodowle wstrząsane prowadzono metodą wglębną na wstrząsarce o mimośrodowym ruchu tarczy przy 175 obr./min, w kolbach płaskodennych o pojemności 500 cm³ zawierających 100 cm³ pożywki. Temperatura hodowli wynosiła 30°C, a czas ich trwania 72 godziny. Próby do analizy pobierano co 3 – 6 godzin.

TABELA 1
SKŁAD PODŁOŻY STOSOWANYCH W BADANIACH

Składniki (%)	MI	MII	MIII	P
KH ₂ PO ₄	0,1	0,1	0,1	0,1
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0,05	0,05	0,05	0,05
CaCl ₂ · 6H ₂ O	0,05	0,05	0,05	0,05
KCl	–	0,05	0,05	0,05
KNO ₃	0,5	–	–	–
laktoza	4,0	4,0	4,0	–
glukoza	–	–	–	2,0
kazeina	–	0,2	0,5	–
ekstrakt drożdżowy	–	0,1	0,1	–
namok kukurydziany	–	–	–	0,5
Fe ⁺³ + Zn ⁺² + Mn ⁺²	–	–	po 10-3	10 ⁻³ + 0 + 2 · 10 ⁻⁴
serwatka (cm ³)	–	–	–	100
woda (cm ³)	100	100	100	–
pH wyjściowe	8,5	8,5	8,5	8,5

Kolby z pożywką sterylizowano 30 min w 121°C.

2.4. Aktywność proteolityczna

Aktywność proteolityczną oznaczano metodą Ansona (17), stosując jako substrat zdenaturowaną mocznikiem wołową hemoglobinę.

Za jednostkę aktywności proteolitycznej [mjA] przyjęto tę ilość enzymu, która w warunkach standardowych testu (6 cm³ inkubatu, 100 mg hemoglobiny, 25°C) hydrolizuje zdenaturowaną hemoglobinę z taką szybkością początkową, że ilość rozpuszczonych w 5% kwasie trójchlorooctowym produktów hydrolizy powstających w czasie jednej minuty, daje po reakcji z odczynnikami Folina absorbancję przy 690 nm, odpowiadającą 1 μM tyrozyny.

Aktywność subtilizyny i metaloproteiny w ich mieszaninie określano własną metodą (15). Jej zasada oparta jest na stwierdzeniu, że metaloproteinaza *B. subtilis* IBTC-3 wykazuje optimum działania wobec hemoglobiny w pH 7,3, zachowując w pH 10,2 około 3% maksymalnej aktywności, natomiast subtilizyna wykazuje optimum działania w pH 10,2 z zachowaniem 76% aktywności w pH 7,3.

2.5. Aktywność amylolityczna

Aktywność enzymów amylolitycznych wytwarzanych pozakomórkowo przez *B. subtilis* IBTC-3 oznaczano wg metody Fischera-Steina (18).

Za jednostkę ich aktywności [JF-S] przyjęto tę ilość enzymu, która w ciągu 3 minut w temperaturze 25°C i pH 7 uwalnia grupy redukujące w 1% roztworze skrobi rozpuszczalnej, odpowiadające 1 mg maltozy.

2.6. Aktywność lipolityczna

Aktywność enzymów lipolitycznych wytwarzanych pozakomórkowo przez *B. subtilis* IBTC-3 oznaczano metodą miareczkową (19).

Za jednostkę ich aktywności [J] przyjęto taką ilość enzymu, która w ciągu 60 minut w temperaturze 37°C i pH 7 uwalnia grupy kwasowe w 40% emulsji oleju oliwkowego, odpowiadające 1 μ M kwasu oleinowego.

2.7. Oznaczanie liczby drobnoustrojów

Liczbę komórek bakteryjnych w 1 cm³ cieczy pohodowlanej oznaczano metodą bezpośrednią w hemocytometrze typu komory Thoma.

3. Wyniki i dyskusja

W celu ustalenia mechanizmów regulacji biosyntezy subtilizyny, metaloproteinazy, α -amylazy i lipazy u *B. subtilis* IBTC-3 przeprowadzono studia z wykorzystaniem podłoży modelowych. Wykazano, że efektywna biosynteza wszystkich czterech badanych enzymów zachodzi jedynie w podłożach zawierających ich substraty (tab. 2 i 3). Dodatek do podłoża hodowlanych *B. subtilis* IBTC-3 kazeiny (lub innego składnika białkowego, np. mąki sojowej, serwatki itp. (15)) oraz komponenty zawierającej witaminy (np. namoku kukurydzianego, ekstraktu drożdżowego, itp.) jest niezbędnym warunkiem uzyskania wysokich aktywności proteinaz w cieczy pohodowlanej. Induktorem biosyntezy α -amylazy może być skrobia lub produkty jej częściowej degradacji. Dodatek skrobi do podłoża hodowlanych *B. subtilis* IBTC-3 zwiększa przeszło 10-krotnie wydajność α -amylazy. Mniej efektywnym induktorem tego enzymu jest hydrolizat skrobi (dośw. 16, tab. 2), choć i on około 4-krotnie zwiększa ilość α -amylazy w porównaniu z podłożami zawierającymi jedynie mono- lub disacharydy.

Induktorem biosyntezy lipaz są tłuszcze naturalne. Ich dodatek do podłoża hodowlanego *B. subtilis* IBTC-3 (np. podłoża P) hamuje jednak wzrost bakterii i stąd obniża końcowe nagromadzenie proteinaz (dośw. 2 i 3, tab. 3). Ponadto, maksymalną aktywność lipolityczną uzyskuje się zwykle w 18 godzinie hodowli. W dalszych godzinach ilość lipaz ulega znacznemu obniżeniu; na koniec hodowli z induktorem wynosi ona 8 – 18 J/cm³. Tak zatem z praktycznego punktu widzenia, jak się wydaje, indukcja biosyntezy lipaz w hodowlach *B. subtilis* IBTC-3 prowadzonych pod kątem wytwarzania subtilizyny nie jest celowa (jakkolwiek ich obecność w preparatach proteinaz przeznaczonych dla środków piorących jest pożądana).

Obok indukcji, za drugi podstawowy mechanizm kontroli biosyntezy proteinaz uważa się represję kataboliczną (1). Polega ona na hamowaniu wytwarzania enzymów w podłożach zawierających glukozę lub inne łatwo przyswajalne źródła węgla. Uzyskane wyniki (dośw. 13 i 14 tab. 2) nie wskazują jednak na występowanie u *B. subtilis* IBTC-3 typowej represji katabolicznej. Dodatek glukozy (nawet w ilości 6%) do podłoża modelowego III nie wpływa w zdecydowany sposób na wydajność biosyntezy proteinaz. Potwierdzono zatem dane literaturowe (3,20) z których wynika, że glukoza może być z powodzeniem stosowana jako źródło węgla w podłożach dla biosyntezy proteinaz przez niektóre szczepy bakterii z rodzaju *Bacillus*.

TABELA 2
BIOSYNTETA PROTEINAZ I α -AMYLAZY PRZEZ *B. SUBTILIS* IBTC-3 NA PODŁOŻACH MODELOWYCH

Nr dośw.	Podłoże		Aktywność proteinaz [mJA/cm ³]		α -amylaza [jFS/cm ³]	Wzrost bakterii (liczba komórek cm ³)
	dotadowy składnik	stężenie %	subtilizyna	metalo-proteinaza		
1	Modelowe I		ślady	ślady	nie ozn.	$6,8 \cdot 10^7$
2	kazeina	0,2	0,09	0,11	nie ozn.	$1,6 \cdot 10^9$
3	namok kukurydziany	0,5	0,65	0,61	nie ozn.	$7,0 \cdot 10^9$
4	namok kukur. + kazeina	0,5 + 0,2	1,94	1,92	nie ozn.	$7,2 \cdot 10^9$
5	ekstrakt drożdżowy	0,1	0,36	0,40	nie ozn.	$4,8 \cdot 10^9$
6	Modelowe II		1,82	1,89	72	$6,6 \cdot 10^9$
7	NH ₄ Cl	0,5	ślady	0,41	40	$4,2 \cdot 10^9$
8	NH ₄ Cl	1,0	0	0	ślady	$0,6 \cdot 10^9$
9	kazeina	0,8	3,24	3,31	80	$7,2 \cdot 10^9$
10	hydrolizat kazeiny ¹	0,5	1,33	1,38	80	$7,2 \cdot 10^9$
11	hydrolizat kazeiny ¹	1,0	0,38	0,48	80	$7,2 \cdot 10^9$
12	Modelowe III		3,43	3,92	88	$8,0 \cdot 10^9$
13	glukoza	2,0	3,54	3,94	88	$8,4 \cdot 10^9$
14	glukoza	6,0	2,97	2,93	32	$5,4 \cdot 10^9$
15	skrobia	1,0	3,92	4,25	910	$8,4 \cdot 10^9$
16	hydrolizat skrobi ²	1,0	3,94	3,97	284	$8,4 \cdot 10^9$
17	Podłoże P		5,33	3,41	122	$9,6 \cdot 10^9$
18	NH ₄ Cl	0,2	5,02	3,44	118	$9,6 \cdot 10^9$

¹Bacto Tryptone. ²100 jFS preparatu α -amylazy (Amylogal) na 1g skrobi, 10 min, 64°C.

Przeprowadzone doświadczenia wskazują, że *B. subtilis* IBTC-3 podatny jest na represję azotową. Dodatek jonów amonowych do podłoża hodowlanych tych bakterii wywołuje silne hamowanie biosyntezy obu proteinaz i α -amylazy. Wytwarzanie alkalicznej proteinazy całkowicie ustaje przy stężeniach NH₄Cl

sięgających 0,5% (dośw. 7, tab. 2). W tych warunkach bakterie wykazują jednocześnie o 37% słabszy wzrost w porównaniu do hodowli kontrolnych, bez dodatku tej soli. Jednak już przy zawartości 0,2% NH_4Cl w podłożu P można obserwować pierwsze objawy represji biosyntezy subtilizyny (dośw. 18). Wykorzystując automatyczny analizator aminokwasów określano stężenie wolnych aminokwasów i amoniaku w podłożu P w różnych fazach hodowli badanych bakterii. Wyniki przedstawiono w tab. 4. Maksymalne stężenie jonów amonowych w podłożu rejestrowane około 24 godziny procesu sięga 23 $\text{mg}/100\text{cm}^3$ i jest około 4-krotnie niższe niż w hodowli bakterii na podłożu P z dodatkiem 0,2 % NH_4Cl (88 $\text{mg}/100\text{cm}^3$). Jest to istotne stwierdzenie, ponieważ obawiano się nadmiernego wzrostu stężenia jonów NH_4^+ w podłożach hodowlanych w efekcie zachodzących u bakterii procesów metabolicznych i hamowania biosyntezy proteinaz. Również stężenie poszczególnych wolnych aminokwasów w podłożu P w trakcie hodowli *B. subtilis* IBTC-3 zmienia się nierównomiernie. Na przykład przez cały czas trwania hodowli ilość cysteiny w podłożu jest śladowa, a stężenie lizyny utrzymuje się na poziomie 7,5 – 9,5 $\text{mg}/100\text{cm}^3$ podłoża. Z kolei ilość His, Arg, Met, Ser, Tyr i Phe w początkowych godzinach hodowli znacznie maleje w podłożu i około 15 godziny osiąga minimum. Próby uzupełniania podłoża niektórymi wybranymi aminokwasami (Cys, Ser, Tyr oraz Phe) nie miały jednak wpływu na biosyntezę proteinaz (tab. 5, dośw. 5).

TABELA 3

BIOSYNTETA LIPAZ PRZEZ *B. SUBTILIS* IBTC-3 W PODŁOŻU P Z DODATKIEM NATURALNYCH TŁUSZCZÓW

Nr dośw.	Podłoże	Aktywność lipolityczna			Subtilizyna (po 72 godzinach) [mJA/cm^3]	Wzrost bakterii (liczba komórek/ cm^3)
		maksymalna		(po 72 godzinach) [l/cm^3]		
		[l/cm^3]	czas [h]			
1	kontrolne (P)	2 – 5	18	ślady	5,43	$9,6 \cdot 10^9$
2	P + tłuszcz masła 0,5%	82	18	18	4,42	$7,6 \cdot 10^9$
3	P + olej sojowy 0,75%	18	18	10	4,55	$7,6 \cdot 10^9$

Represorem biosyntezy proteinaz u *B. subtilis* IBTC-3 okazał się również hydrolizat kazeiny (dośw. 10 i 11, tab. 2) oraz inne substancje będące źródłem wolnych aminokwasów (np. aminobak (15)). W literaturze cytowane są przykłady tego typu represji (21,22). Niektórzy autorzy sądzą, że hamowanie biosyntezy proteinaz przez mieszaninę aminokwasów jest przykładem represji katabolicznej, ponieważ te związki są łatwo przyswajalnym źródłem węgla (22). U *B. subtilis* IBTC-3 glukoza nie wywołuje typowej represji katabolicznej, jest zatem mało prawdopodobne by powodowały ją aminokwasy. Sugeruje się także, że wpływ aminokwasów na biosyntezę enzymów proteolitycznych sprowadza się do represji jonami amonowymi (23). Przy takim założeniu jony amonowe i hydrolizat kazeiny powinny wywierać podobne działanie na *B. subtilis* IBTC-3. Tymczasem, dodatek NH_4Cl do podłoża modelowego II powoduje

słabszy wzrost bakterii, a w stężeniach około 0,5% hamuje całkowicie biosyntezę alkalicznej proteinazy, przy częściowym zahamowaniu biosyntezy metaloproteinazy i α -amylazy. Natomiast hydrolizat kazeiny w warunkach eksperymentów nie wpływa na wzrost bakterii, hamuje równomiernie biosyntezę obu proteinaz i nieco zwiększa ilość α -amylazy. Bardziej prawdopodobne wydaje się, że regulacja biosyntezy proteinaz u badanych bakterii przebiega według modelu represji końcowym produktem. Proteinazy rozkładając białko, tworzą zapas aminokwasów dla komórki, wówczas gdy jest on znaczny, dalsza synteza proteinaz jest zbędna. Jednakże pojedyncze aminokwasy (do badań wybrano Ser, Phe, Tyr, His, Ala, Lys, Glu i Asp) dodane do podłoża modelowego II w ilościach 250 mg/100 cm³ nie wywołują represji biosyntezy proteinaz u *B. subtilis* IBTC-3 (tab. 5). Natomiast mieszanina tych ośmiu aminokwasów (w ilościach po 50 mg/100 cm³) obniża nagromadzenie proteinaz w podłożu modelowym II o 25% (dośw. 3, tab. 5). W literaturze (24,25) również można znaleźć informację, że nie pojedyncze aminokwasy, lecz dopiero ich mieszaniny hamują wytwarzanie enzymów proteolitycznych u bakterii z rodzaju *Bacillus*.

TABELA 4
ZAWARTOŚĆ WOLNYCH AMINOKWASÓW I NH₃ W PODŁOŻU
W RÓŻNYCH FAZACH HODOWLI WSTRZASANEJ *B. SUBTILIS* IBTC-3

Wolne aminokwasy i NH ₃	Zawartość w podłożu hodowlanym [mg/100 cm ³]					
	Czas hodowli [h]					
	0	9	15	24	48	72
Lys	8,4	7,8	7,5	9,2	9,6	9,5
His	1,3	ślady	ślady	3,4	4,1	4,1
Arg	0,9	ślady	ślady	3,5	3,3	3,6
Asp	6,8	3,2	2,9	11,3	14,3	16,7
Thr	9,9	7,6	6,4	13,0	12,1	13,2
Ser	10,1	4,6	2,1	10,4	10,3	10,5
Glu	19,6	15,9	13,0	26,3	30,5	29,4
Pro	18,1	9,6	6,9	9,8	12,4	14,7
Gly	9,0	7,3	7,0	12,5	13,8	15,0
Ala	20,9	9,4	6,8	22,7	26,7	25,0
Cys	ślady	ślady	0	ślady	ślady	ślady
Val	11,7	7,7	6,1	9,9	9,9	9,6
Met	5,1	1,6	0,6	0,3	0,3	0,5
Ile	5,7	3,5	2,7	5,3	6,6	6,7
Leu	17,3	11,8	9,8	14,5	14,3	14,1
Tyr	4,7	1,1	0,4	2,6	4,3	5,1
Phe	5,9	2,7	1,2	4,8	5,2	5,8
NH ₃	10,7	16,3	19,5	23,1	21,5	19,3

Trp, Asn i Gln nie oznaczano.

TABELA 5
 BIOSYNTETA PROTEINAZ PRZEZ *B. SUBTILIS* IBTC-3 W PODŁOŻACH Z DODATKIEM AMINOKWASÓW

Nr dośw.	Podłoże i dodatkowy składnik	Aktywność proteinaz [mJA/cm ³]		Wzrost bakterii [l.kom./cm ³]
		subtilizyna	metaloproteinaza	
1	Modelowe II	1,86	1,91	6,6 · 10 ⁹
2	aminokwas	1,79 – 1,88	1,83 – 1,90	7,0 · 10 ⁹
3	mieszanina aminokwasów	1,49	1,56	7,0 · 10 ⁹
4	Podłoże P	5,42	3,44	9,6 · 10 ⁹
5	aminokwas	5,32 – 5,42	3,41 – 3,49	9,6 · 10 ⁹

Do podłoża MII dodawano pojedyncze aminokwasy (Ser, Phe, Tyr, His, Ala, Lys, Glu, Asp) w ilości 250 mg/100 cm³ lub mieszaninę tych aminokwasów w ilości po 50 mg/100 cm³ każdego z nich. Do podłoża P dodawano pojedyncze aminokwasy (Cys, Tyr, Phe lub Ser) w ilości 50 mg/100 cm³.

4. Podsumowanie

Celem przedstawionej pracy było wstępne rozpoznanie mechanizmów regulujących biosyntezę subtilizyny, metaloproteinazy, α -amylazy oraz lipazy wytwarzanych pozakomórkowo przez bakterie *B. subtilis* IBTC-3. Uzyskane wyniki wskazują, że enzymy te można zaliczyć do indukcyjnych — dodatek odpowiedniego substratu do podłoża kilkakrotnie zwiększa ich produkcję. Biosynteza proteinaz u badanych bakterii nie podlega typowej represji katabolicznej (łatwo przyswajalne źródła węgla nie hamują ich wytwarzania). *B. subtilis* IBTC-3 podatny jest na represję azotową (jony NH₄⁺ wywołują silne hamowanie biosyntezy obu proteinaz i α -amylazy). Represorem biosyntezy proteinaz okazały się także substancje zawierające w swoim składzie wolne aminokwasy (represja końcowym produktem).

Literatura

1. Priest F. G., (1984), *Extracellular Enzyme*, in: Aspects of Microbiology, 9ed. by Van Nostrand Reinhold (UK) Co. Ltd.
2. Aunstrup K., Andersen O., Falch E. A., Nielsen T. K., (1979), *Microb. Technol.*, 1, 282.
3. Priest F. G., (1977), *Bacteriol. Rev.*, 41, 711.
4. Forgarty W. M., Griffin P. J., Joyce A. M., (1974), *Process Biochem.*, 9, 11.
5. Forgarty W. M., Griffin P. J., Joyce A. M., (1974), *Process Biochem.*, 9, 27.
6. Zemek I., Augustin J., Borriss R., Kuniak L., Svabova M., Pacova Z., (1981), *Folia Microbiol.*, 26, 403.
7. Suzuki Y., Hatagaki K., Oda H., (1991), *Appl. Microbiol. Biotech.*, 34, 707.
8. Shen G-J., Srivastova K. C., Saha B. C., Zeikus J. G., (1990), *Appl. Microbiol. Biotech.*, 33, 340.
9. Rajaram S., Varnia A., (1991), *Appl. Microbiol. Biotech.*, 34, 141.

10. Talbot G., Sugusch J., (1990), Appl. Environ. Microbiol., 56, 3505.
11. Nogi Y., Horikoshi K., (1990), Appl. Microbiol. Biotech., 32, 704.
12. Patent No 4 945 053, (1990), USA.
13. Meghji K., Ward O. P., Araujo A., (1990), Appl. Environ. Microbiol., 56, 3735.
14. Bierbaum G., Giesecke U. E., Wandrey C., (1991), Appl. Microbiol. Biotech., 35, 725.
15. Trzmiel T., (1983), *Biotechnologia serynowej proteiny Bacillus subtilis*, (praca doktorska), Politechnika Łódzka.
16. Patent nr 137479, (1988), Polska.
17. Anson M. L., (1939), J. Gen. Physiol., 22, 79.
18. Stein J., (1961), Biochemical Preparation, 8, 27.
19. Ruban E. L., (1977), in: *Mikrobnuje lipidy i lipazy*, Izd. Nauka Moskwa, 83 - 214.
20. Nehete P., Shah V., Kothari R., (1986), Enzyme Microb. Technol., 8, 370.
21. Aronson A. I., Angelo N., Holt S. C., (1971), J. Bacteriol., 106, 1016.
22. Levishon S., Aronson A. J., (1967), J. Bacteriol., 93, 1023.
23. Chaloupka J., Kreckova P., (1966), Folia Microbiol., 11, 89.
24. Egorov N. S., Lorija Z. K., Yudina T. G., (1983), Prikl. Biochim. Mikrobiol., 19, 610.
25. May B. K., Elliott W. H., (1968), Biochem. Biophys. Acta, 157, 607.

Regulation of biosynthesis of some egzoenzymes of *Bacillus subtilis* IBTC-3 — effect of culturing media

Summary

Subtilisin, metalloproteinase, α -amylase and lipase are produced by culturing *B. subtilis* IBTC-3. The regulation of biosynthesis of these enzymes is described. They are produced in the various media containing their inductors. Addition of yeast extract or corn steep liquor markedly increases proteinases production. The catabolic repression of proteinases biosynthesis isn't observed in the media containing glucose. In the medium with NH_4^+ ions both proteinases and amylase activities are completely lowered. The addition of casein hydrolysate markedly reduces proteinases production.

Key words:

Bacillus subtilis, enzymes, enzyme biosynthesis regulation, proteinases, subtilisin, metalloproteinase, α -amylase, induction of biosynthesis, catabolic repression, azote repression.

Adres dla korespondencji:

Tadeusz Trzmiel, Instytut Biochemii Technicznej, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90 - 924 Łódź.