

## 焦曲霉右旋糖酐酶的纯化和性质

程秀兰 孙晋武 王海燕\* 严自正 张树政

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

用制备凝胶电泳从焦曲霉 (*Aspergillus ustus*) 菌株的培养液中分离纯化了右旋糖酐酶 (EC 3.2.1.11)。纯酶经聚丙烯酰胺凝胶电泳分析为均一的, 比活力为 820 u/mg, 提高 20.5 倍。酶作用最适 pH 为 5.0—5.5, 最适温度为 50℃, 在 pH 4.5—7.5 和 40℃ 以下稳定, 在 50℃ 保温 30 分钟酶活力损失 55%。用 SDS-凝胶电泳测定酶的分子量为 68000, 用聚丙烯酰胺凝胶薄层等电聚焦电泳测得 pI 值为 5.5。紫外吸收光谱在 274 nm 有最大吸收值, 低谷在 252 nm。纯酶只作用于  $\alpha$ -1,6-葡萄糖苷键, 水解右旋糖酐的产物为异麦芽糖、异麦芽三糖、葡萄糖和少量的较高聚合度的异麦芽寡糖, 该酶为内切型的。作用于交联葡聚糖凝胶 (Sephadex) 时, 随其交联度的增加酶作用能力减弱。纯酶作用于不同分子量的右旋糖酐 (MW:  $2 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^5$ ) 的  $K_m$  值分别为 0.30%, 0.61% 和 0.70%。 $Hg^{2+}$ 、 $Ag^+$  对酶完全抑制,  $Cu^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ 、 $Be^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$  和  $F^-$  对酶有一定的抑制作用, 金属螯合剂 EDTA 对酶活性无影响, N-溴代琥珀酰亚胺 (NBS) 对酶强烈抑制。

**关键词** 焦曲霉; 右旋糖酐酶; 纯化和性质

我们曾报道过右旋糖酐酶产生菌的筛选及其酶学性质的比较<sup>[1]</sup>和右旋糖酐酶对牙齿斑物质的降解作用<sup>[2]</sup>。我们从三千多株真菌中筛选出 528 株右旋糖酐酶产生菌, 复筛后选出 46 株产酶较高的菌株, 这些酶绝大多数是内切型的胞外酶。

右旋糖酐酶有很重要的应用价值<sup>[3,4]</sup>, 除用于龋齿防治<sup>[5,6]</sup>和制糖工业外<sup>[6,7]</sup>, 还可应用于药用右旋糖酐的生产<sup>[8,9]</sup>。目前, 药用右旋糖酐的生产主要是采用酸水解法, 条件激烈, 得率低, 要求生产设备条件苛刻, 如能采用酶法生产, 可提高产率, 降低成本。在我们比较过的几株真菌中, 有一株焦曲霉产酶能力高, 周期短, 培养到第四天就达到产酶高峰, 而且酶系比较纯, 不含转化酶和葡萄糖淀粉酶等。该酶耐热性不高, 在分解底物到一定程度后易于灭活, 故更适用于药用右旋糖酐的生产。为此, 我们对其酶进行了纯化和酶学性质的进一步研究。

## 材 料 和 方 法

### (一) 菌种和培养基

1. 菌种: 焦曲霉 (*Aspergillus ustus*) 是本组从土壤中分离筛选得到的, 经本所真菌室齐祖同教授鉴定, 在察氏培养基斜面上接种传代。

2. 液体培养基组成 (%): 右旋糖酐 1、聚胨 0.5、 $K_2HPO_4$  0.4、 $MgSO_4$  0.02、 $FeSO_4$

本文于 1990 年 10 月 24 日收到。

\* 北京大学生物系生化专业 1986 年毕业生。

焦曲霉由中国科学院微生物研究所齐祖同先生和孙增美同志鉴定, 一并致谢。

0.001、酵母抽提物 0.1, pH 6.5,  $1.05 \text{ kg/cm}^2$  灭菌 30 分钟。

## (二) 主要生化试剂

右旋糖酐 (MW: 10 万和 7 万) 为天津华津药厂产品, 异麦芽糖、异麦芽三糖、昆布多糖、地衣多糖为 Sigma 公司产品, 右旋糖酐 T-2000、Sephadex、DEAE 或 CM-Sephadex、分子量和等电点标准蛋白为 Pharmacia 公司产品, 茁霉多糖为日本林原公司产品, NBS 为北京化工厂产品, 变聚糖 (mutan) 是本组制备的。

## (三) 主要分析方法

1. 右旋糖酐酶活力测定: 同前报<sup>[1]</sup>。
2. 蛋白质浓度测定: 按 Lowry 法<sup>[10]</sup>。
3. 盘状凝胶电泳: 按 Davis 方法<sup>[11]</sup>。凝胶浓度为 7%, 电极缓冲液为 pH 8.3。
4. 分子量测定: 用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定<sup>[12]</sup>。胶浓度为 10%, 电极缓冲液为 pH 7.2。
5. pI 值测定: 采用聚丙烯酰胺凝胶薄层等电聚焦电泳法<sup>[13]</sup>。
6. 酶解产物的分析: 用硅胶薄层色谱法<sup>[14]</sup>。

# 结 果 和 讨 论

## (一) 酶的纯化

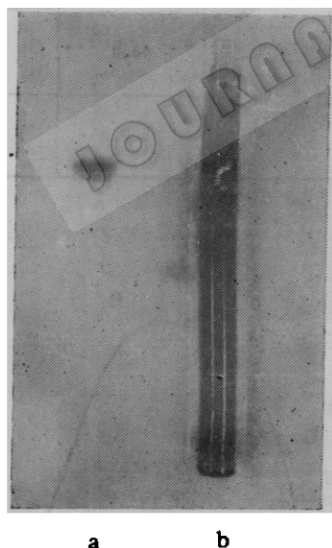


图 1 粗酶的 PAGE 图和酶活性区带

a. 酶活性区带; b. 粗酶的 PAGE 图

Fig. 1 PAGE pattern of crude enzyme and enzyme activity band

a. Enzyme activity band; b. PAGE pattern of crude enzyme

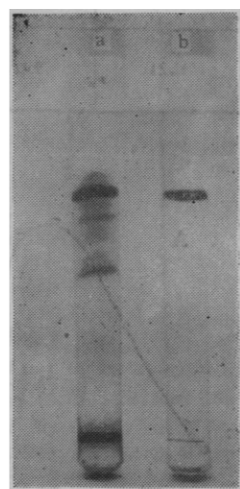


图 2 右旋糖酐酶的 PAGE 图谱

a. 培养液; b. 纯酶

Fig. 2 PAGE pattern of dextranase

a. Culture supernatant on 7% polyacrylamide gel; b Purified enzyme on 7% polyacrylamide gel

1. 培养液的制备: 焦曲霉菌株在察氏培养基斜面上培养 5 天 (28℃), 转接到装有 30 ml 液体培养基的 250 ml 三角瓶中, 于 28℃ 在 200 r/min 摇床上培养 4 天, 离心除去菌体, 其上清液作为粗酶液。

2. 酶区带的定位: 先将培养液进行盘状电泳, 取出凝胶柱, 将其对半切开, 一半进行染色, 另一半置于含 1% 右旋糖酐的琼脂板上 (pH 5.2), 在 37℃ 保温 30 分钟, 加入 95% 的乙醇, 置冰箱中冷冻 2 小时, 将琼脂板上出现的透明区带与染色的那半凝胶进行比较, 便可确定酶活性区带的位置 (图 1)。

3. 酶的纯化: 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳法进行提纯。用垂直板框电泳仪制备 70 × 95 × 5 (mm) 的凝胶板, 胶浓度为 7%, 加样体积为 10 ml, 电流为 25—30 mA, 在 pH 8.3 电泳 4 小时, 从凝胶板两侧各切下 5 mm 的胶条, 立即置 0.1% 的考马斯亮蓝 G 250 溶液中染色, 待三色区带出现后, 将胶条冲洗干净放回原位, 根据酶定位的结果, 把所要的部分切下来, 用 4 ml 蒸馏水在 4℃ 抽提过夜, 过滤除去凝胶。滤液经电泳鉴定为一条区带 (图 2)。酶纯化的结果见表 1。纯酶的比活力为 820 u/mg, 提高 20.5 倍。

表 1 焦曲霉右旋糖酐酶的纯化

Table 1 Purification of dextranase from *Aspergillus natus*

步 骤 Procedure	总蛋白 Total protein (mg)	总活性 Total activity (u)	回收率 Recovery (%)		比活力 Specific activity (u/mg)	提纯倍数 Purification factor
			蛋白 Protein	活力 Activity		
上清液 Culture supernatant	44.67	1786.8	100	100	43.0	1
制备电泳 Preparative PAGE	1.21	992.2	2.7	55.5	820.0	20.5

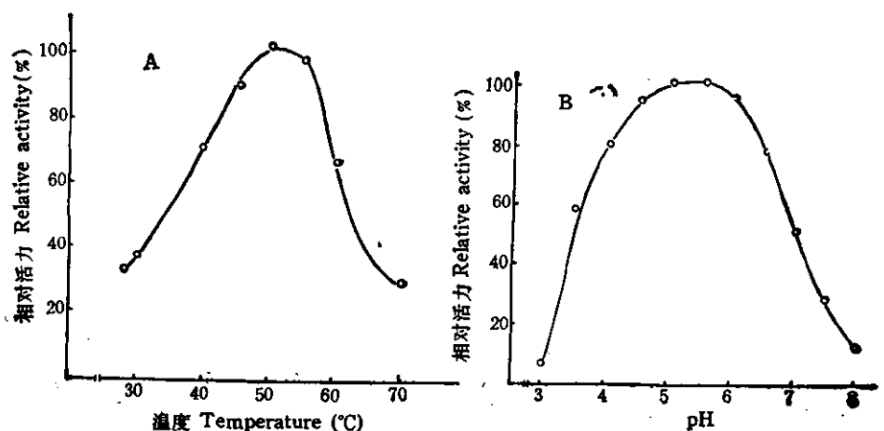


图 3 温度 (A) 和 pH (B) 对酶活力的影响

Fig. 3 Effect of temperature (A) and pH (B) on enzyme activity

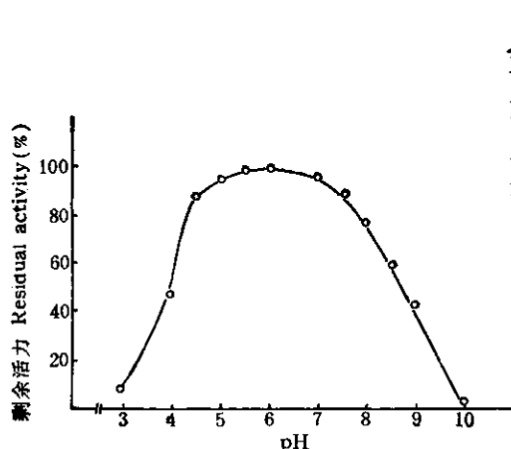


图4 pH 对酶稳定性的影响

Fig. 4 Effect of pH on the stability of dextranase

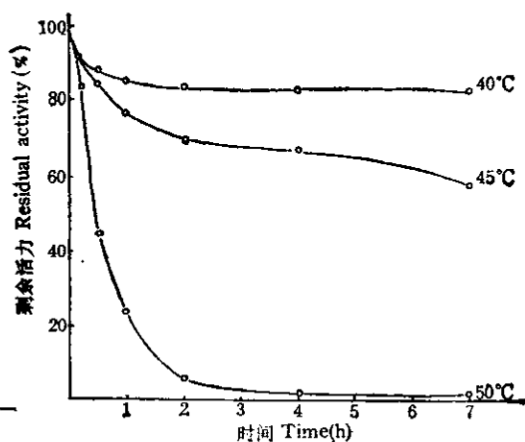


图5 温度对酶稳定性的影响

Fig. 5 Effect of temperature on the stability of dextranase

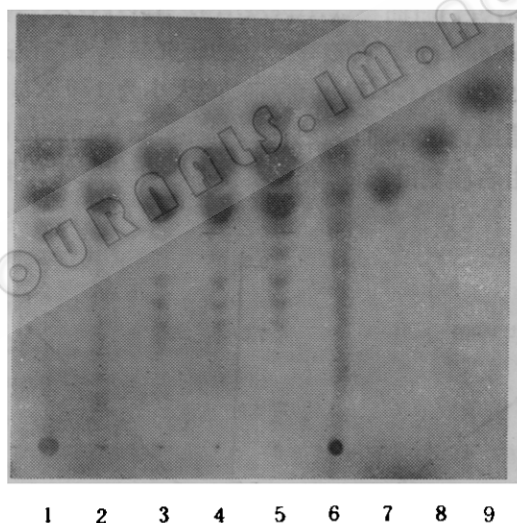


图6 右旋糖酐酶解产物的薄层析图谱

Fig. 6 TLC pattern of enzymatic products of dextran

酶解产物 Enzymatic products: 1. 10min; 2. 30min; 3. 2h; 4. 4h; 5. 24h;  
 6. 酸水解产物 Products of dextran T-2000 hydrolyzed by acid; 标准样 Standard;  
 7. 异麦芽三糖 Isomaltotriose; 8. 异麦芽糖 Isomaltose; 9. 葡萄糖 Glucose

## (二) 酶的性质

1. 酶的最适作用温度: 在不同温度下测定酶活力, 结果如图 3-A。酶作用最适温度为 50°C。

2. 酶的最适作用 pH: 取 0.2 mol/L 不同 pH 的柠檬酸- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液各 2 ml, 分别加入 2 ml 2% 用水配制的右旋糖酐溶液, 混匀后测定酶活力。由图 3-B 可以看出,

在 pH 5.0—5.5 酶活力最高,在 pH 4.5—6.5 范围之外酶活力迅速下降。

3. 酶的 pH 稳定性: 将对蒸馏水透析过的酶液与不同 pH 的缓冲液 (pH 3.0—8.0 为柠檬酸- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、pH 7.5—9.0 为 tris 缓冲液、pH 9.0—10.5 为甘氨酸- $\text{NaOH}$  缓冲液)一起在 40℃ 保温 30 分钟,立即置于冰水浴中,用醋酸缓冲液调 pH 到 5.2,再测其酶活力(图 4)。该酶在 pH 4.5—7.5 范围内稳定。

4. 酶的热稳定性: 用 0.2 mol/L pH 6.0 的缓冲液将透析后的酶液稀释 1 倍,分别置于 40℃、45℃、50℃ 保温不同时间,测其剩余酶活力,如图 5 所示。该酶的热稳定性不太好,在 40℃ 保温 7 小时,剩余酶活力为 85% 以上,在 50℃ 保温 30 分钟,剩余酶活力为 45%。

5. 酶作用于右旋糖酐的产物分析: 将酶液和 5% 的底物 (Dextran T-2000) 在 40℃ 保温不同时间,煮沸 5 分钟灭活。用硅胶薄层色谱分析酶解产物(图 6)。作用 10 分钟、30 分钟时,只有异麦芽三糖、异麦芽糖等异麦芽寡糖产生。作用到 2 小时,开始出现葡萄糖斑点,到 24 小时,异麦芽糖的斑点最大。由此可见,该酶水解右旋糖酐时首先生成的不是葡萄糖,而是异麦芽寡糖,只是随作用时间延长逐渐生成葡萄糖,说明此酶的作用方式为内切型的。主要产物是异麦芽糖、异麦芽三糖和葡萄糖及少量的较高聚合度的异麦芽寡糖。这与孙晋武等人对黄柄白曲霉 (*Aspergillus flavipes*)<sup>[1]</sup> 和 E. J. Bourne 等人对绳状青霉 (*Pen. funiculosum*)<sup>[12]</sup> 右旋糖酐酶的研究结果很相似。

6. 酶的分子量: 用 SDS-PAGE 法测定。胶的大小为 170 × 100 × 0.79 (mm), 电流为 20—30 mA, 在室温电泳 2 小时,染色后根据标准蛋白质样品的  $R_m$  值和分子量的对数绘制标准曲线,再由右旋糖酐酶的  $R_m$  值在标准曲线上求得其分子量为 68000 (图

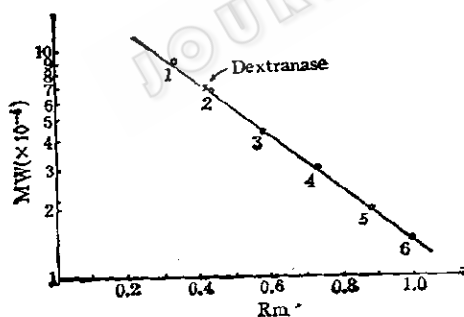


图 7 SDS-凝胶电泳测定酶的分子量

Fig. 7 Determination of molecular weight of dextranase by SDS-PAGE

标准蛋白 Standard protein: 1.磷酸化酶 b Phosphorylase b (94000); 2.清蛋白 Albumin (67000); 3.卵清蛋白 Ovalbumin (43000); 4.碳酸酐酶 Carbonic anhydrase (30000); 5.胰蛋白酶抑制剂 Trypsin inhibitor (21000); 6.乳清蛋白  $\alpha$ -Lactalbumin (14400)

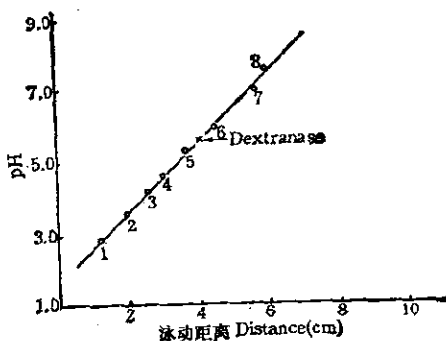


图 8 PAGIF 法测定酶的等电点

Fig. 8 Determination of isoelectric point of dextranase by PAGIF

标准蛋白 Standard protein: 1.胃蛋白酶原 Pepsinogen (2.80); 2.淀粉葡萄糖苷酶 Amyloglucosidase (3.50); 3.葡萄糖氧化酶 Glucose oxidase (4.15); 4.大豆胰蛋白酶抑制剂 Soybean trypsin inhibitor (4.55); 5.  $\beta$ -乳球蛋白 A  $\beta$ -lactoglobulin A (5.20); 6.牛碳酸酐酶 Bovine carbonic anhydrase (5.58); 7.马肌红蛋白 Horse myoglobin (6.85); 8.马肌红蛋白 Horse myoglobin (7.35)

7)。这一结果与 A. Hattori 等人报道的细丽毛壳霉 (*Chaetomium spirale*)<sup>[16]</sup> 右旋糖酐酶 II 的分子量 (71000) 接近。到目前为止, 所报道的右旋糖酐酶的分子量一般均在 30000—70000, 最小者是油脂酵母 (*Lipomyces starkeyi*)<sup>[17]</sup> 酶 (分子量 23000), 最大者是黄杆菌 (*Flavobacterium*)<sup>[18]</sup> M-73 酶 II (分子量 114000)。

7. 酶的等电点: 用聚丙烯酰胺凝胶薄层等电聚焦电泳法。薄层大小为  $20 \times 10 \times 0.1$  (cm), 胶浓度为 6%, 恒功率 10 W, 在水冷条件下电泳 3 小时 15 分钟。根据标准蛋白质样品的泳动距离和等电点绘制 pH-距离曲线, 再根据右旋糖酐酶的泳动距离在标准曲线上求得该酶的等电点 pH 为 5.5 (图 8)。

8. 作用于右旋糖酐的米氏常数 ( $K_m$ ) 和最大反应速度 ( $V_{max}$ ): 用 0.1 mol/L pH 5.2 的醋酸缓冲液将不同分子量的右旋糖酐 (MW:  $2 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^4$ ) 配成溶液, 使反应体系中的底物浓度分别为 (%) 0.2、0.25、0.4、0.5、0.625、0.8 和 1.0, 在 40℃ 测定酶活力, 按 Lineweaver-Burk 法作图, 求其  $K_m$  值和  $V_{max}$  (图 9)。该酶对右旋糖酐 T-2000、T-100 和 T-40 的  $K_m$  值分别为 0.30%、0.61% 和 0.70%,  $V_{max}$  为 57.1、53.0 和 47.6  $\mu\text{mol}$  葡萄糖  $\text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。这一结果说明右旋糖酐酶与底物的亲和力随底物分子量的降低而变小, 与 D. Tsuru 等人对肉色曲霉 (*Aspergillus carneus*)<sup>[19]</sup> 和 E. Webb 等人对油脂酵母 (*Lipomyces starkeyi*)<sup>[17]</sup> 右旋糖酐酶的研究一致。

9. 紫外吸收光谱: 用日立 557 型双光束、双波长的紫外分光光度计测定酶 (先对蒸馏水透析, 0.27 mg/ml, pH 6.0) 的紫外吸收光谱。该酶在 274 nm 有最大的吸收值, 低谷在 252 nm。

10. 化学试剂对酶活性的影响: 将酶液与各种试剂 (终浓度为 1.25 mmol/L, pH 6.0) 在 40℃ 保温 30 分钟, 测定剩余酶活力, 以不加其它试剂的酶液活力为 100%。 $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Ag}^{+}$  对酶完全抑制,  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Be}^{2+}$  和 F<sup>-</sup> 对酶有一定的抑制作用, 其余对酶活性无明显影响。金属螯合剂 EDTA 对酶活力无影响。表明该酶的活性不需要金属离子。还试验了 7 种蛋白质侧链修饰剂对酶活性的影响, 发现 1.25 mmol/L N-溴代琥珀酰亚胺 (NBS, pH 5.0) 存在时, 酶活力完全丧失, 说明色氨酸残基对右旋糖酐酶活性是非常必需的。

#### 11. 酶的底物专一性:

(1) 对天然底物的专一性: 用 0.1 mol/L pH 5.2 的醋酸缓冲液将各种天然底物配成 1% 的溶液, 在标准条件下测定酶活力, 以作用右旋糖酐 T-2000 的酶活力为 100%。表 2 结果说明了此酶只作用于右旋糖酐和变聚糖分子中连续的  $\alpha$ -1, 6-糖苷键, 对  $\alpha$ -1, 4-、 $\alpha$ -1, 3-、 $\beta$ -1, 6-、 $\beta$ -1, 4-、 $\beta$ -1, 3-和  $\beta$ -1, 2-键均不作用, 对以  $\alpha$ -1, 4-键为主的只

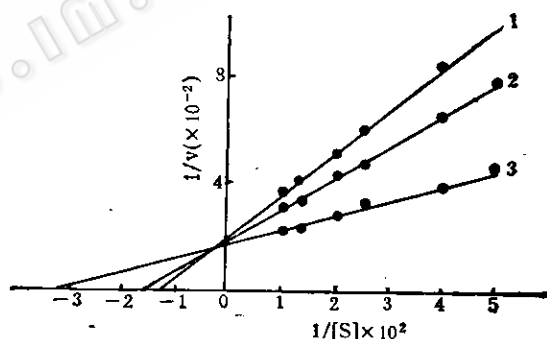


图 9 酶作用右旋糖酐的 Lineweaver-Burk 图  
Fig. 10 Lineweaver-Burk plots of dextranase for dextran

1. Dextran T-2000 2. Dextran T-100  
3. Dextran T-40

在分枝点处有  $\alpha$ -1,6-键的茁霉多糖、糯米淀粉、糖原和只在分子外层分枝点处有  $\alpha$ -1,6-键的  $\beta$ -极限糊精也不作用。这与很多文献报道的右旋糖酐酶的底物专一性相同<sup>[19-21]</sup>。因右旋糖酐主要是以  $\alpha$ -1,6-键构成的,变聚糖是以  $\alpha$ -1,3-键为主,而且是水不溶性的,所以作用于右旋糖酐的酶活性高。

(2) 对交联葡聚糖凝胶 (Sephadex) 及其衍生物的作用: 用与上述相同的缓冲液将不同交联度的 Sephadex 分别配成 2% 的悬液,测定其酶活力。在反应过程中不断摇动,使酶与凝胶充分作用,以作用 Sephadex G-100 的酶活力为 100%。由表 3 看出,随 Sephadex 交联度的增大活力下降,CM-或 DEAE-Sephadex 均不能被水解,与绳状青霉<sup>[20]</sup>右旋糖酐酶相同。

表 2 右旋糖酐酶对天然底物的专一性

Table 2 The specificity of dextranase for natural substrates

底物 Substrates	主要键型 Main linkages	相对活力 Relative activity (%)
右旋糖酐 Dextran T-2000	$\alpha$ -1,6 (95%)	100
右旋糖酐 Dextran MW: $1 \times 10^5$	$\alpha$ -1,6 (95—98)	96.4
茁霉多糖 Pullulan	$\alpha$ -1,4 $\alpha$ -1,6	0
糯米淀粉 Glutinous rice starch	$\alpha$ -1,6 $\alpha$ -1,4	0
可溶性淀粉 Soluble starch	$\alpha$ -1,4 $\alpha$ -1,6	0
$\beta$ -极限糊精 $\beta$ -limit dextrin	$\alpha$ -1,4 $\alpha$ -1,6	0
糖原 Glycogen	$\alpha$ -1,4 $\alpha$ -1,6	0
变聚糖 Mutan	$\alpha$ -1,3 (53%), $\alpha$ -1,6 (21%)	4.0
地衣多糖 Lichenin	$\beta$ -1,3 $\beta$ -1,4	0
昆布多糖 Laminarin	$\beta$ -1,3	0
$\beta$ -1,6-葡聚糖 $\beta$ -1,6-glucan	$\beta$ -1,6	0
$\beta$ -1,2-葡聚糖 $\beta$ -1,2-glucan	$\beta$ -1,2	0
纤维素 Cellulose	$\beta$ -1,4	0

表 3 右旋糖酐酶对不同交联度的葡聚糖凝胶的作用

Table 3 Action of dextranase on sephadex with different degree of cross linking

凝胶 Sephadex	相对活力 Relative activity (%)
Sephadex G-100	100
Sephadex G-75	60.5
Sephadex G-50	16.1
Sephadex G-25	2.4

## 参 考 文 献

- [1] 孙晋武等: 微生物学报, 28(1): 45—55, 1988.
- [2] 孙晋武等: 微生物学报, 28(3): 242—248, 1988.
- [3] 秦贞正: 日本农芸化学会誌, 57(2): 155—166, 1983.
- [4] 赵 莹: 生物科技动态, 4: 16—21, 1988.
- [5] Woodruff, H. B. et al.: *Dev. Ind. Microbiol.*, 17: 405—416, 1976.
- [6] Scott, D.: *Enzyme in Food Processing* (ed. Reed, G.), p. 493—517, Academic Press London, 1975.
- [7] 佐山晃司等: 日本农芸化学会誌, 59(2): 143—151, 1985.
- [8] Charles, A. F. et al.: *Can. J. Microbiol.*, 3: 239, 1957.
- [9] 石家骏治等: 国外生物科技, 3: 30—33, 1985.
- [10] Lowry, O. H.: *J. Biol. Chem.*, 193: 256, 1951.
- [11] Davis, B. J.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121: 404, 1964.
- [12] 孙晋武: 酶制剂工业(上册)(张树政主编): p. 321, 科学出版社, 北京, 1984 年.
- [13] 杨寿钧: 酶制剂工业(上册)(张树政主编): p. 307, 科学出版社, 北京, 1984 年.
- [14] 李春荣等: 复合多糖生化研究技术(张惟杰主编): p. 65—68, 上海科学出版社, 上海, 1987 年.
- [15] Bourne, E. J. et al.: *Biochem. J.*, 85: 158, 1962.
- [16] Hattori, A. et al.: *Agric. Biol. Chem.*, 45 (11): 2409—2416, 1981.
- [17] Webb, E. et al.: *Can. J. Microbiol.*, 29: 1092—1095, 1983.
- [18] Kobayashi, M. et al.: *Agric. Biol. Chem.*, 47 (11): 2585—2593, 1983.
- [19] Tsuru, D. et al.: *J. Biochem.*, 71: 653—660, 1972.
- [20] Sugiura, M. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 309: 357—362, 1973.
- [21] Fukumoto, J. et al.: *J. Biochem.*, 69: 1113—1121, 1971.



## PURIFICATION AND PROPERTIES OF DEXTRANASE FROM *ASPERGILLUS USTUS*

Cheng Xiulan Sun Jinwu Wang Haiyan Yan Zizheng Zhang Shuzheng

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080*)

An extracellular dextranase (EC. 3.2.1.11) was purified approximately 20-fold from culture broth of *A. ustus* by preparative gel electrophoresis. The purified enzyme was demonstrated by PAGE to be a homogeneous protein. Optimum conditions for the enzyme reaction were pH 5.0—5.5 and 50°C, respectively. The enzyme was stable over a pH range of 4.5 to 7.5 and a temperature lower than 40°C. The Half-live at 50°C was 30 min. The molecular weight estimated by SDS-PAGE was 68,000. The isoelectric point determined by PAGIF was pH 5.5. Michaelis constants ( $K_m$ ) for three kinds of dextran (MW:  $2 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $4 \times 10^4$ ) were 0.30%, 0.61% and 0.70%, respectively. The ultraviolet absorption spectrum showed a maximum at 274 nm and a minimum at 252 nm. The enzymatic products of dextran T-2000 analysed by TLC were mainly isomaltose, isomaltotriose, glucose and less higher oligomers, thus, the enzyme was proved to be an endo-type. The enzyme attacked only  $\alpha$ -1,6 glycosidic linkage. Enzyme activity decreased with increase of cross-linking degree of sephadex. The enzyme activity was inhibited completely by  $Hg^{2+}$ ,  $Ag^+$  and partially by  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Be^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $F^-$ . The enzyme was strongly inhibited by N-bromosuccinimide, and partially 2-hydroxy-5-nitrobenzyl bromide, which suggested that tryptophan residue was essential for enzyme activity.

### Key words

*Aspergillus ustus*; Dextranase; Purification and properties