

УДК: 577.15:577.152.3

О. М. Рзаєва, Л. Д. Варбанець, О. С. Броварська

Інститут мікробіології і вірусології НАН України, вул. Академіка Заболотного, 154,
Київ МСП, Д03680, Україна,
тел.: 8 (044) 526 23 39, e-mail: varbanets@serv. imv. kiev. ua

ДЕЯКІ ВЛАСТИВОСТІ α -L-РАМНОЗИДАЗ *PENICILLIUM COMMUNE* 266

Встановлено, що Penicillium commune 266 продукує дві високоефективні α -L-рамнозидази, які активні в діапазоні рН 4,0 - 6,0 з оптимумом 4,0 - 4,2. Активність α -L-рамнозидаз 1 та 2 в розчині не змінюється впродовж 120 хв при 37 °С в інтервалі значень рН 4,0 - 6,0; термооптимум обох препаратів 60 °С. Молекулярна маса за даними гель-фільтрації на сефарозі 6В становить 120 ± 10 та 105 ± 10 кДа, відповідно, для α -L-рамнозидаз 1 та 2. В молекулах ферментів переважають основні (29 та 24 %), гідрофобні (25 та 36 %) та кислі (10 та 13 %) амінокислоти, відповідно для α -L-рамнозидази 1 і 2. В молекулах обох ферментів присутній вуглеводний компонент (2 %), який представлений в препараті 1 – галактозою, манозою, рамнозою та глюкозаміном, а в препараті 2 – галактозою та рамнозою.

К л ю ч о в і с л о в а: α -L-рамнозидаза, рН-оптимум, термооптимум, компонентний склад, молекулярна маса.

Одним з ферментів, що привертає увагу багатьох дослідників протягом останніх десятиріч, є α -L-рамнозидаза. Це фермент класу гідролаз (α -L-рамнозид-рамногідролаза, КФ 3.2.1.40), який характеризується специфічністю щодо залишків L-рамнози, яка присутня у деяких біофлавоноїдах, глікопротеїнах, гліколіпідах та інших глікокон'югатах. Сфера застосування α -L-рамнозидази доволі широка: в харчовій промисловості, зокрема в виноробстві для покращення якості та аромату вин, при виробництві цитрусових соків та отриманих з них напоїв, для видалення гірких компонентів (нарингін), завдяки чому покращується якість та харчова цінність цих продуктів; в науково-дослідних роботах як аналітичний інструмент для вивчення структури складних вуглеводмісних біополімерів. Відсутність вітчизняних препаратів α -L-рамнозидази поставила перед нами завдання пошуку продуцента даного ферменту. В результаті скринінгу, проведеного серед музейних штамів мікроорганізмів з колекції ІМВ НАН України, нами був відібраний перспективний штам *Penicillium commune* 266 [3], підібрано оптимальне середовище та умови культивування [5]. З культуральної рідини продуцента було отримано два препа-

© О. М. Рзаєва, Л. Д. Варбанець, О. С. Броварська, 2008



рати α -L-рамнозидази, які відрізнялись між собою за рівнем питомої активності та ступенем очистки.

Метою даної роботи було вивчення деяких фізико-хімічних, біохімічних характеристик та компонентного складу отриманих препаратів α -L-рамнозидаз *P. commune* 266.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень був *P. commune* 266, люб'язно наданий нам з колекції живих культур відділу фізіології і систематики мікроміцетів ІМВ НАН України.

Культуру мікроміцету *P. commune* 266 вирощували як описано раніше [3, 5].

Ферментний препарат α -L-рамнозидази, одержаний із культуральної рідини *P. commune* 266 шляхом осадження сульфатом амонію (від 30 до 90 % насичення), діалізували, концентрували і наносили на колонку з DEAE-TSK 650 М гелем, урівноважену 0,01 М Tris-HCl буфером рН 7,0 промивали цим самим буфером і елюювали білки, що сорбувалися, стартовим буфером в лінійному градієнті NaCl від 0 до 1 М. Фракції, які проявляли α -L-рамнозидазну активність, збирали, об'єднували і діалізували проти стартового буферу [2].

Ідентифікацію нейтральних моноцукридів проводили після гідролізу препаратів у 2 н розчині HCl протягом 5 год при 100 °С. Обробку зразків здійснювали за методом Albersheim із співав. [6]. Після гідролізу проби висушували (під вакуумом) та тричі промивали дистильованою водою, додавали боргідрид натрію та залишали на 10 годин при кімнатній температурі (в захищеному від світла місці). Нейтралізували за допомогою йонообмінної смоли КУ-2 в H⁺ формі, фільтрували, висушували і тричі обробляли метанолом (по 1 мл), випаровуючи. До проби додавали 0,5 мл піридину (перегнаного) та 0,5 мл оцтовокислого ангідриду і гідролізували протягом 15 хв при 100 °С. Висушували, додавали 2-3 мл перегнаного хлороформу, центрифугували при 2500 g, 20 хв. Супернатант, який містив суміш нейтральних моноцукридів у вигляді ацетатів поліолів, розділяли на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert, колонка DB-225 mS 30м x 0,25мм x 0,25мкм, газ носій — гелій, потік через колонку 1 мл/хв. Температура випаровування — 250 °С, інтерфейса — 280 °С, термостата — 220 °С (режим ізотермічний). Пробу вводили з діленням потоку 1:100. Ідентифікацію моноцукридів проводили шляхом порівняння часу утримання ацетатів поліолів стандартних і досліджуваних зразків, а також з використанням комп'ютерної бази даних ChemStation. Кількісне співвідношення окремих моноцукридів визначали у відсотках від загальної суми площ піків.

Для визначення амінокислотного складу ферментні препарати гідролізували в 6 н HCl при 105 °С у вакуумованих ампулах протягом 24 годин. Кількісний і якісний склад гідролізатів амінокислот досліджували на автоматичному амінокислотному аналізаторі "Hitachi" KLA-5, Японія. Для внесення поправки на розклад деяких амінокислот (треонін, серин, тирозин) застосовували інтерполяцію до нульового часу гідролізу. Результати аналізу інших амінокислот усереднювали.

Визначення молекулярної маси ферментів у нативній системі проводили за допомогою гель-фільтрації [1] на колонці (1,3x50 см) з Sepharose 6B. Вільний об'єм колонки, який був встановлений із застосуванням блакитного декстрану 2000, становив 20 мл. Колонку було урівноважено 0,01 М фосфатним буфером рН 6,0. На колонку наносили 1 мл розчину ферменту (10 мг), збільшивши попередньо густину



розчину додаванням цукрози в кінцевій концентрації 0,5 М. Елюцію проводили тим самим буфером з 0,1 М NaCl. Швидкість елюції — 0,3 мл/хв. Калібрувальну криву для розрахунку молекулярної маси будували за допомогою високомолекулярних білків-маркерів фірми “Pharmacia” (Швеція): альдолази (158 кДа), каталази (232 кДа), феритину (440 кДа) та тіроглобуліну (669 кДа).

Дослідження впливу температури і рН на α -L-рамнозидазну активність і стабільність ферменту визначали в отриманих нами препаратах ферменту та при постійному контролі рН. Дослідження здійснювали в інтервалі температур від 0 °С до 80 °С та рН 2,0 — 8,0 (інтервал рН створювався 0,01 М фосфатно-цитратним буфером (ФЦБ)). При визначенні рН- і термостабільності по завершенні часу дії на ферменти відповідного фактору відбирали аліквоти по 0,1 мл, додавали по 0,2 мл ФЦБ, рН 5,2 та по 0,1 мл субстрату, розчиненого в цьому самому буфері. Термостабільність препаратів визначали при температурі 37 °С (час експозиції 90 хв), рН-стабільність — при показниках рН середовища 4,0; 5,0; 6,0 та 7,0 (час експозиції 24 год).

Реакційна суміш для визначення активності α -L-рамнозидази містила 0,1 мл розчину ферменту в 0,1 М ФЦБ, рН 5,2; 0,2 мл цього ж буферу і 0,1 мл 2,5 мМ розчину відповідного *n*-нітрофеніл- α -L-рамнопіранозиду. Суміш інкубували впродовж 10 хв при 37 °С. Реакцію зупиняли додаванням 2 мл 1 М розчину Na₂CO₃. Кількість *n*-нітрофенолу, який вивільнився в результаті ферментативної реакції, вимірювали колориметричним методом [3, 5] за поглинанням при 400 нм (КФК-2МП). Кількість білка в пробі становила 6 — 12 мкг/мл.

Вміст білка на всіх етапах дослідження реєстрували на спектрофотометрі СФ-26 при 280 нм, його кількість визначали за методом Lowry et al. [10].

Вміст вуглеводів визначали фенол-сірчанним методом [8].

Результати та їх обговорення

Отримані препарати було досліджено на амінокислотний та моноцукридний склад. Дані щодо амінокислотного складу ферментних препаратів 1 та 2 представлені у табл. 1. Як видно з наведених даних, спостерігаються розходження за якісним та кількісним амінокислотним складом α -L-рамнозидаз 1 та 2. Досліджувані ферменти характеризуються невисоким вмістом дикарбонових та сірковмісних амінокислот: α -L-рамнозидаза 1 містить більшу кількість аспарагінової кислоти порівняно з глутаміною (6,1 % та 4,1 %, відповідно), на відміну від α -L-рамнозидази 2, яка, навпаки, характеризувалася вдвічі більшим вмістом глутамінової кислоти порівняно з аспарагіною кислотою (9,3 % та 4,5 %, відповідно). Препарат α -L-рамнозидази 1 містив 2,1 % цистеїну та 1,3 % метіоніну, тоді як в препараті α -L-рамнозидази 2 кількість цистеїну складала (1,9 %), а метіонін відсутній.

Цікавим є те, що у препараті α -L-рамнозидази 1 відсутній пролін, в той час як у препараті α -L-рамнозидази 2 відмічали його значний вміст (17,4 %), що може свідчити про наявність неупорядкованих ділянок у поліпептидному ланцюгу фермента. Обидва ферментні препарати не містили триптофану.

У складі α -L-рамнозидази 1 відзначали вдвічі більший вміст лізину, гліцину та серину (9,1; 6,7 та 11 % %) порівняно з α -L-рамнозидазою 2 (3,4; 3,1 та 5,9 % %, відповідно). Слід відзначити значний вміст (більше 10 %) у складі обох ферментів тирозину та гістидину.



За вмістом інших амінокислот обидва препарати майже не відрізнялися між собою.

Ферментні препарати α -L-рамнозидаз 1 та 2 містять у своєму складі 25 та 36 % неполярних гідрофобних амінокислот, 10 % та 13 % кислих амінокислот, а також порівняно високий вміст основних позитивно заряджених амінокислот – 29 % та 24 %, відповідно. Такий значний вміст гідрофобних амінокислот сприяє створенню та стабілізації структури, яка є специфічною для кожного білка.

Таблиця 1

**Амінокислотний та моноцукридний склад ферментних препаратів
 α -L-рамнозидаз 1 та 2 *P. commune* 266**

Table 1

**Aminoacidic and monosaccharide contents of enzyme preparations of
 α -L-rhamnosidases 1 and 2 *P. commune* 266**

Компонентний склад	% від загальної площі піків	
	α -L-рамнозидаза 1	α -L-рамнозидаза 2
Аспарагінова кислота	6,1	4,5
Треонін	4,1	3,6
Серін	11,0	5,9
Глутамінова кислота	4,1	9,3
Пролін	—	17,4
Гліцин	6,7	3,1
Аланін	5,1	3,2
Цистеїн	2,1	1,9
Валін	5,1	4,2
Метіонін	1,3	—
Ізолейцин	3,9	3,0
Лейцин	5,0	3,4
Тирозин	11,1	11,5
Фенілаланін	5,3	5,7
Гістидин	16,9	15,5
Лізін	9,1	3,4
Аргінін	3,1	4,4
Галактоза	14,1	75,9
Маноза	6,7	—
Рамноза	1,9	24,1
Глюкозамін	77,3	—

Примітка: “—” не виявлено.



Наступним етапом було дослідження моноцукридного складу отриманих препаратів. Треба відзначити, що частіше дослідники просто вказують на наявність вуглеводів у молекулі та їх кількість, але не ідентифікують компоненти. Нами встановлено, що в препаратах рамнозидази 1 і 2 вміст вуглеводів складав 2 % від їх сухої маси. У препараті 1 були ідентифіковані як нейтральні моноцукриди: галактоза, маноза та рамноза, так і заряджені — глюкозамін, тоді як у препараті 2 виявлені тільки галактоза та рамноза (табл. 1).

Факторами, які суттєво впливають на активність ферментів, є температура та рН середовища. Оптимуми рН глікозидаз можуть коливатися у досить широкому діапазоні. В деяких випадках ферменти навіть можуть мати два оптимуми дії, але зазвичай α -L-рамнозидази мають один широкий оптимум. Оптимум рН для ферменту змінюється залежно від використаного субстрату, його концентрації, йонної сили розчину, присутності інгібітору, а також ряду інших факторів.

Було показано, що α -L-рамнозидази 1 та 2 *P. commune* 266 досить активні у всьому дослідженому інтервалі значень рН (рис. 1). Оптимуми рН знаходилися при 4,0 для препарату 1 і 4,2 - для препарату 2. У діапазоні від 3,0 до 5,2 зберігалось до 65 – 90 % від максимальної активності (рис. 1).

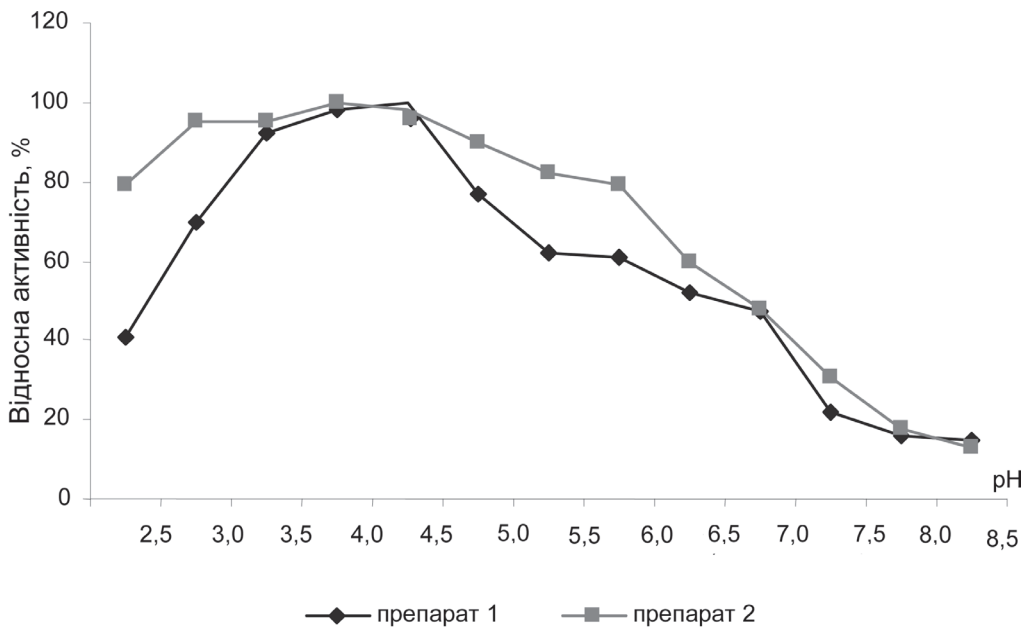


Рис. 1. Визначення рН-оптимуму препаратів α -L-рамнозидази 1 і 2 (у відсотках від максимальної активності)

Fig. 1. Determination of α -L-rhamnosidases 1 and 2 pH activity (percentage from maximum activity)

При визначенні рН-стабільності препаратів α -L-рамнозидази 1 і 2 за різних значень рН буфера було показано, що найбільш суттєвий вплив рН спостерігався з першої по четверту годину інкубації ферментної суміші, причому в деяких випадках



(при рН 4,0 на 4-у год інкубації, при рН 4,5 на 3-ю год інкубації, при рН 6,0 на 2-у год інкубації) спостерігалася незначна втрата активності для препарату 1, яка дещо підвищувалася при рН 5,0; для препарату 2 активність при всіх досліджених значеннях рН зростала з 1-ї по 4-у год інкубації (рис. 2).

Такий вплив рН середовища на молекули ферменту, можливо, є наслідком взаємодії стану та ступеню йонізації деяких функціональних груп (COOH-групи дикарбонних амінокислот, SH-групи цистеїну, імідазольної групи гістидину та ін.), оскільки білкова молекула ферменту є амфотерним поліелектролітом. При різних значеннях рН середовища активний центр може знаходитися в частково йонізованій та дейонізованій формі, що впливає на третинну структуру білка і відповідно, на формування активного фермент-субстратного комплексу. Крім того, можливо, має вплив і стан йонізації субстрату.

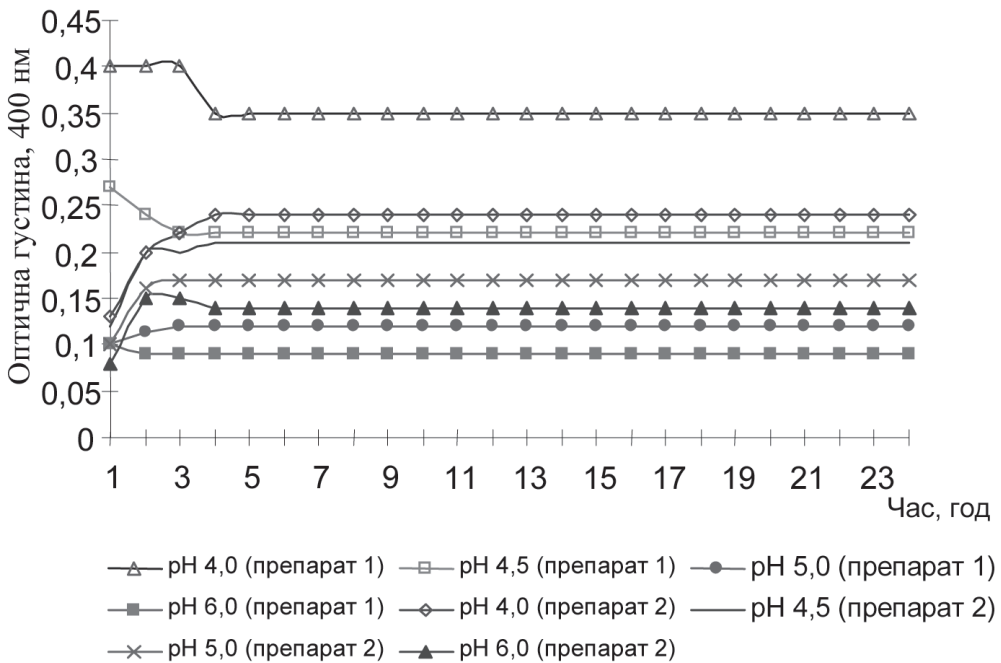


Рис. 2. Визначення рН-стабільності препаратів α -L-рамнозидази 1 і 2

Fig. 2. Determination of pH stability of α -L-rhamnosidases 1 and 2

Максимальна активність α -L-рамнозидази 1 та 2 спостерігалася при 60 °С та при оптимальних значеннях рН (рис. 3). Була також показана висока термостабільність досліджуваних ферментів (рис. 4). Так, спостерігалася повне збереження активності препаратів при кімнатній температурі 18 °С протягом доби та впродовж 120 хв — при 37 °С.

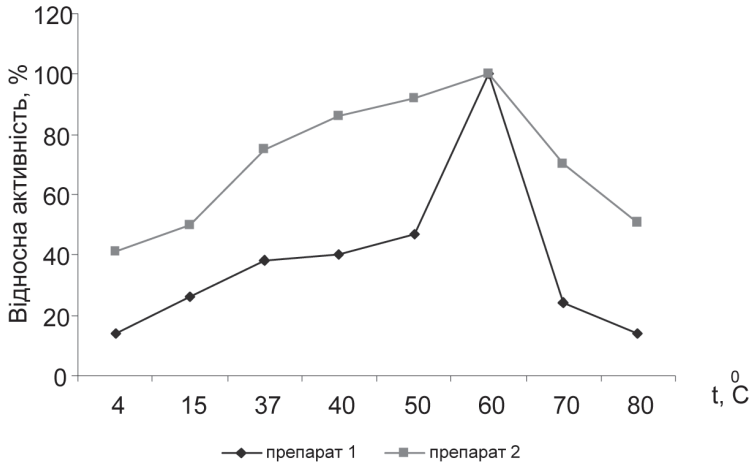


Рис. 3. Визначення термооптимуму дії препаратів α -L-рамнозидаз 1 і 2 *P. commune* 266 (у відсотках від максимальної активності)

Fig. 3. Determination of thermooptimum action of α -L-rhamnosidases 1 and 2 of *P. commune* 266 (percentage from maximum activity)

За даними гель-фільтрації на Sepharose 6В молекулярні маси ферментів у нативній системі становлять 120 ± 10 кДа та $105 \pm$ кДа, відповідно для препарату 1 і 2 (рис. 5). Такі значення є характерними для глікозидаз, що продукуються грибовими продуцентами (до 100 кДа) [4, 9], на відміну від грамнегативних бактерій [4], для яких характерною є продукція ферментів з більш високою молекулярною масою (більше 150 кДа).

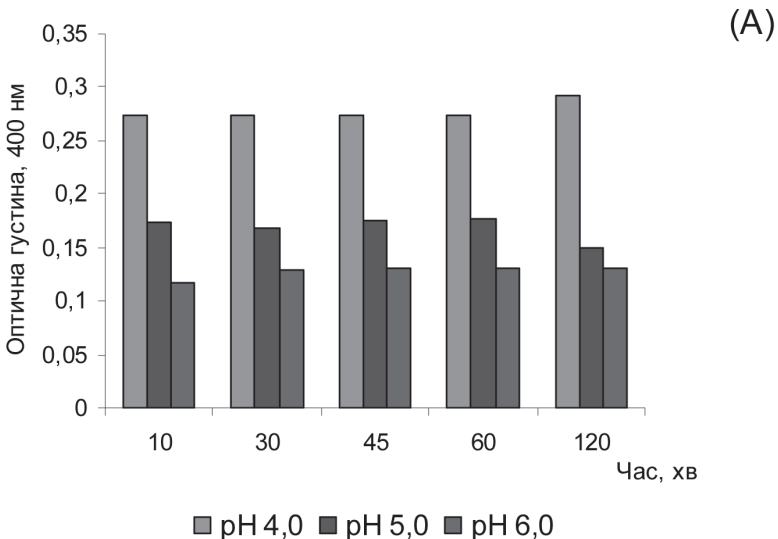


Рис. 4. Термостабільність ферментних препаратів α -L-рамнозидази *P. commune* 266 при 37 °С: (А) – α -L-рамнозидаза 1; (Б) – α -L-рамнозидаза 2

Fig. 4. Thermostability of *P. commune* 266 α -L-rhamnosidases at 37 °С: (А) – α -L-rhamnosidases 1; (Б) – α -L-rhamnosidases 2

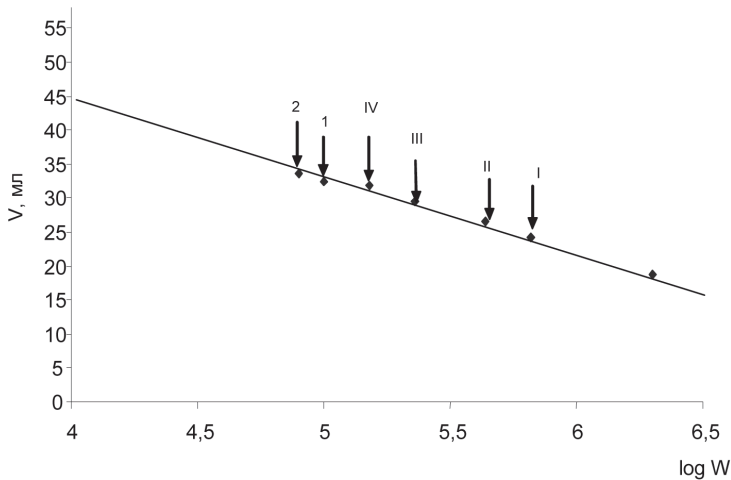


Рис. 5. Визначення молекулярної маси α -L-рамнозидаз 1 та 2 *P. commune* 266 у нативній системі.

Маркери молекулярних мас: I - тироглобулін - 669 кДа; II - феритин - 440 кДа; III - каталаза - 232 кДа; IV - альдолаза - 158 кДа; фракції з активністю ферментного препарату *P. commune* 266

Fig. 5. Determination of molecular masses of *P. commune* 266 α -L-rhamnosidases 1 and 2 in native system.

The markers of molecular masses: I - thyroglobulin; II - ferritin; III - catalase; IV - aldolase; fractions with *P. commune* 266 enzyme activity

Наявність субодиночної структури молекул ферментів досліджували додаванням у реакційну суміш таких денатурувальних агентів, як сечовина та гуанідингідрохлорид (рис. 6, 7).

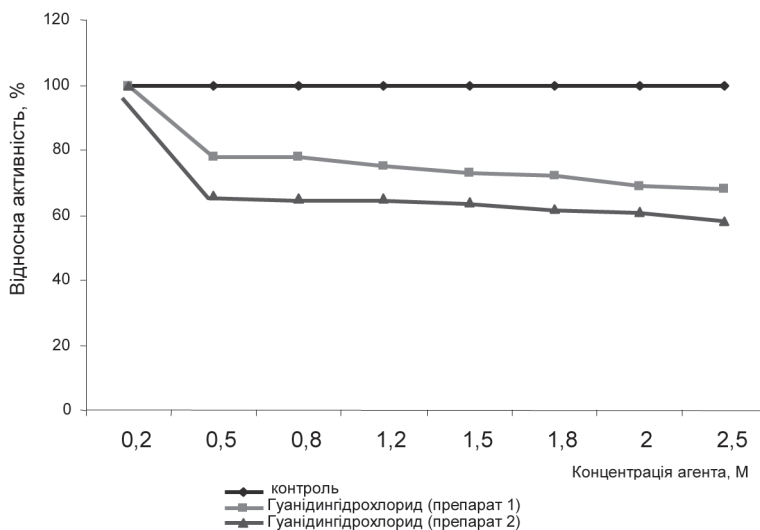


Рис. 6. Залежність активності α -L-рамнозидаз 1 та 2 *P. commune* 266 від концентрації гуанідингідрохлориду (у відсотках від максимальної активності)

Fig. 6. α -L-rhamnosidases 1 and 2 *P. commune* 266 activity dependence from guanidine hydrochloride concentration (percentage from maximum activity)

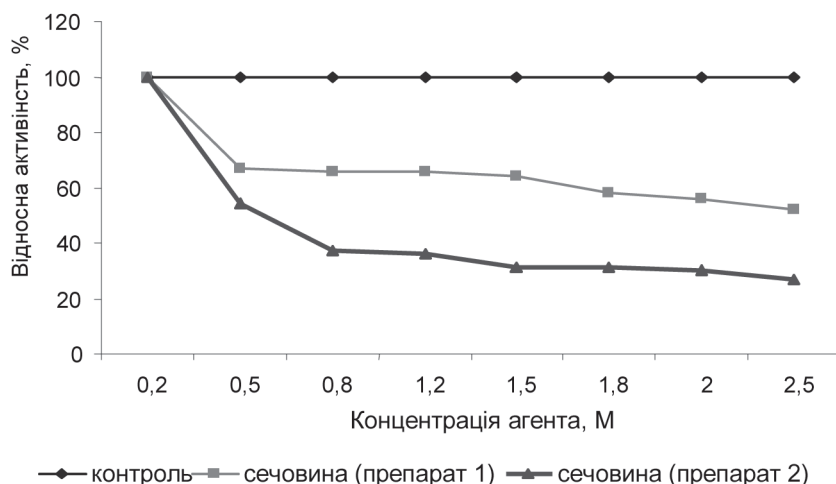


Рис. 7. Залежність активності α -L-рамнозидаз 1 та 2 *P. commune* 266 від концентрації сечовини (у відсотках від максимальної активності)

Fig. 7. α -L-rhamnosidases 1 and 2 *P. commune* 266 activity dependence from urea concentration (percentage from maximum activity)

Ферментативна активність α -L-рамнозидази 1 знижувалася на 65 % та 78 % від максимальної активності при додаванні у реакційну суміш 0,5 М сечовини та гуанідингідрохлориду, відповідно α -L-рамнозидаза 2 виявилася також чутливою до даних концентрацій агентів, втрачалася майже половина активності, а при концентрації сечовини 2,5 М залишалося лише 27 % від початкової активності.

Проте стверджувати про субодичну структуру даних ферментів, навряд чи можна, тому що за літературними даними більшість грибних рамнозидаз мають мономерну структуру, а при додаванні таких концентрацій денатурувальних речовин до ферментів з гліколітичними властивостями спостерігалася повна втрата ними активності [1].

Таким чином, встановлено, що оптимальними умовами для гідролізу синтетичного субстрату ферментними препаратами є значення рН 4,0 — 4,2, температури 60 °С. Ферментні препарати стабільні при температурі від 0 до 20 °С в діапазоні рН від 4,0 до 6,0. Молекулярна маса обох ферментів за даними гель-фільтрації на сефарозі 6В становить 120 ± 10 та 105 ± 10 кДа. В молекулах ферментів переважають основні (29 та 24 %), гідрофобні (25 та 36 %) і кислі амінокислоти (10 та 13 %). В молекулах обох ферментів також присутній вуглеводний компонент (2 %), який представлений в препараті 1 галактозою, манозою, рамнозою та глюкозаміном, а в препараті 2 — галактозою та рамнозою.

Тобто, α -L-рамнозидази 1 та 2 *P. commune* 266 характеризуються подібними фізико-хімічними властивостями, проте відрізняються між собою за молекулярними масами та компонентним складом.

Висловлюємо подяку доктору біологічних наук Н. М. Ждановій і кандидату біологічних наук О. В. Соколовій за люб'язно наданий для досліджень штам *P. commune* 266.



ЛІТЕРАТУРА

1. Бакунина И. Ю., Иванова Е. П., Михайлова В. В., Недашковская О. И., Горшкова Н. М., Парфенова В. В. Распространение α -N-ацетилгалактозаминидазы среди морских и пресноводных микроорганизмов // Микробиология. - 1994. - Т. 63, № 5. - С. 847-853.
2. Варбанец Л. Д., Рзаева О. М., Сейфулліна І. Й. та ін. Індукція синтезу та активація α -L-рамнозидази // Укр. біохім. журн. - 2007. - Т. 79, № 4. - С. 19-29.
3. Рзаева О. М., Борзова Н. В., Варбанец Л. Д. та ін. Скринінг мікроорганізмів — продуцентів α -L-рамнозидази // Микробиол. журн. - 2005. - Т. 67, № 5. - С.19-27.
4. Рзаева О. М., Варбанец Л. Д. α -L-рамнозидаза мікроорганізмів // Микробиол. журн. - 2006. - Т. 68, № 1. - С.69-84.
5. Рзаева О. М., Варбанец Л. Д. Оптимізація умов культивування *Penicillium palitans* штаму 266, що синтезує α -L-рамнозидазу // Микробиол. журн. - 2006. - Т. 68, № 6. - С.10-20.
6. Albershein P., Nevis D. J., English P. D., Karr A. A method of analysis of sugars in plant cell wall polysaccharides by gas-liquid chromatography // Carbohydr. Res. - 1976. - Vol. 5, № 3. - P. 340-345.
7. Andrews P. Estimation of the molecular weights of proteins by Sephadex gel-filtration // Biochem. J. - 1964. - Vol. 91, № 2. - P. 222-233.
8. Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebers P. A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. // Anal. Chem. - 1956. - Vol. 28, № 2. - P. 350-356.
9. Kubo S. Glycosidases from soil microorganisms // J. Forensic. Sci. - 1989. - Vol. 34, № 1. - P. 96-104.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. - 1951. - Vol. 193, № 2. - P. 265-275.

О. Н. Рзаева, Л. Д. Варбанец, О. С. Броварская

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, ул. Академика
Заболотного, 154, Киев МСП, Д03680, Украина, тел.: 8 (044) 526 23 39, e-mail:
varbanets@serv. imv. kiev. ua

НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА α -L-РАМНОЗИДАЗ *PENICILLIUM COMMUNE* 266

Реферат

Показано, что *Penicillium commune* 266 образует две высокоэффективные α -L-рамнозидазы, которые проявляли активность в диапазоне pH 4,0 — 6,0 с оптимумом 4,0 — 4,2. Активность α -L-рамнозидаз 1 и 2 в растворе не изменялась в течение 120 мин при 37 °С в интервале значений pH 4,0— 6,0; термооптимум обоих препаратов составляет 60 °С. Молекулярная масса по данным гель-фильтрации на сефарозе 6В составляет 120 ± 10 и 105 ± 10 кДа соответственно для α -L-рамнозидаз 1 и 2. В молекулах ферментов обнаружены основные (29 и 24 % %), гидрофобные (25 и 36 % %) и кислые (10 и 13 % %) аминокислоты, соответственно. В молекулах обоих ферментов присутствует углеводный компонент (2 %), который представлен в препарате 1 — галактозой, манозой, рамнозой и глюкозамином, а в препарате 2 — галактозой и рамнозой.

К л ю ч е в ы е с л о в а : α -L-рамнозидаза, pH-оптимум, термооптимум, компонентный состав, молекулярная масса, *Penicillium commune* 266.



O. N. Rzaeva, L. D. Varbanets, O. S. Brovarska

Institute of Microbiology and Virology, NASU, Academ. Zabolotny str., 154, Kyiv, Ukraine, tel.: 8 (044) 526 23 39, e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua

SOME PROPERTIES OF α -L-RHAMNOSIDASES FROM PENICILLIUM COMMUNE 266

Summary

*It has been shown that *Penicillium commune* 266 has formed two high-level α -L-rhamnosidases which reveal activity in the range from 4.0 to 6.0, with optimum 4.0, 4.2. Activity of α -L-rhamnosidases 1 and 2 was constant during 120 min at 37 °C in the range of pH values 4.0 – 6.0; thermooptimum of both preparations was 60 °C. The molecular weights of the enzymes 1 and 2 estimated by gel filtration, were 125 ± 10 kDa and 105 ± 10 kDa, respectively. Enzyme preparations included high contents of basic, hydrophobic and acidic aminoacids, and carbohydrate component, represented by galactose, mannose, rhamnose, glucosamine (preparation 1) and galactose, rhamnose (preparation 2).*

Key words: α -L-rhamnosidase, pH-optimum, thermooptimum, composition, molecular weight, *Penicillium commune* 266.

