

Flavobacterium multivorum HL-10이 생산하는 Dextran 분해효소의 특성

서은숙 · 유관희¹ · 이형환*

건국대학교 이과대학 생물학과, ¹상지대학교 이과대학 생물학과

Characterization of Dextranase Produced by Flavobacterium multivorum HL-1

Eun-Sook Seo, Kwan-Hee Yoo¹ and Hyung-Hoan Lee*

Department of Biology, Konkuk University, Seoul 133-701, Korea

¹Department of Biology, Sanggi University, Wonju 220-702, Korea

Abstract — Dextranase produced by *Flavobacterium multivorum* HL-1 isolated from soil were characterized. Optimum growth condition for the production of the enzyme by the strain appeared to be at the 1.0% concentration of dextran. When NH_4NO_3 and beef extract was added to the culture media, the enzyme activity increased upto 570 and 680 units per ml respectively, and other nitrogen sources did not increase the activity. Urea, casamino acid, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and KNO_3 inhibited the activity. In the presence of Mg^{2+} in culture media, the enzyme activity increased 124%, but its activity was inhibited in the presences of Ca^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} and Zn^{2+} . The optimum temperature for the enzyme activity was 45~55°C. In the ranges of pH 4 to 10, the activity of the enzyme appeared approximately similar.

덱스트란은 *Leuconostoc* 속(1, 2)와 *Streptococcus* 속(3-5) 등에서 생산되는 포도당의 중합체로서 대부분이 α -1,6-글리코시드 결합으로 구성되어 있으며, 충치원 인균에 의해 생성된 경우에는 α -1,2, α -1,3, α -1,4 결합도 포함되어 있다(4, 5). 덱스트란 분해효소(1,6- α -glucan-6-glucano-hydrolase, EC 3.2.1.11)는 덱스트란의 α -1,6 결합을 가수분해하는 효소로서, 1940년대 후반부터 연구되기 시작하여 초기 연구는 덱스트란을 적당한 분자량으로 절단하여 혈액중량제로 사용하도록 하는데 주안점을 두었으며(6), 최근에는 덱스트란 분해효소를 껌이나 치약에 사용하는 등 충치예방의 한 방법으로 그 관심이 집중되고 있다. 진균류에서의 덱스트란 분해효소 분비에 관한 보고(7)에 의해 최초로 이루어졌는데, *Penicillium lilacinum*, *P. funiculosum*, *P. verruculosum*, *Spicaria violacea* 등이 덱스트란 분해효소를 생산한다고 보고하였다. 그 후 일부 *Penicillium* 속이 분비하는 덱스트란 분해효소에 대한 연구가 계속되었으며(8), *Aspergillus* 속 등에서도 연구 보고되었다(9, 10). Zevenhuizen(11)은 *Bacillus*

*subtilis*와 *B. megatherium*의 덱스트란 분해효소는 세포내에 함유되어 있으며, 가수분해 산물로서 포도당만을 생성한다고 보고하였다. *Flavobacterium* sp.이 분비하는 덱스트란 분해효소 I은 덱스트란을 α -1,2 위치에서 절단하며, 덱스트란 분해효소 II는 분해산물로서 이소말토오스를 생성한다는 연구보고도 있다(12-14). 사람의 치아 플라그에 존재하는 *Streptococci*의 33% 이상이 덱스트란의 (1 \rightarrow 6)- α -D-glucosidic linkage를 가수분해시켜 D-glucose를 생성시키는 exo-dextranase(EC 3.2.1.70)를 분비한다는 연구보고도 있다(15, 16). Ebisu 등(17)은 덱스트란 분해효소가 있을 때와 없을 때 생기는 불용성 글루칸의 구조에 대하여, Matsuda(18)는 구강에 상존하는 미생물의 불용성 글루칸 분해능에 대하여 조사하였다. 또한 충치원인균을 이용하여 충치예방을 위한 백신개발이 연구되기도 하였다(19). 충치예방 등에 중요한 덱스트란 분해효소의 이용과 새로운 균주에서의 효소활성을 찾는 것도 중요하여 이 연구를 하였다.

본 연구에서는 점차 증가되는 충치에 대한 예방 등의 목적으로 *Flavobacterium multivorum* HL-1이 덱스트란 분해효소의 활성을 갖는 지를 조사하였고, 생산하는 효소의 특성과 유용성을 조사하였다.

Key words: *Flavobacterium multivorum*, dextranase
*Corresponding author

재료 및 방법

사용균주와 배지

본 연구에 사용한 균주는 건국대학교 생물학과에 보관되어 있는 *Flavobacterium multivorum* HL-1을 사용하였다. 덱스트란 생산을 위한 덱스트란 최소배지 (dextran 1%, NaNO₃ 0.2%, NH₄NO₃ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.01%, K₂HPO₄ 0.2%, KH₂PO₄ 0.1%, yeast extract 0.01%)를 제조하여 pH 8로 조정후, 121°C에서 15분간 가압숙윤 멸균하여 사용하였다. NB(nutrient broth)와 LB(Luria-Bertani medium, DIFCO)를 사용했다.

균주의 생리적 특성

F. multivorum HL-1의 특성을 알아보기 위해 NB 배지와 덱스트란 1%가 첨가된 NB 배지에서 생화학적 특성을 Cowan & Steel(20)의 방법으로 조사했고, 콜로니 색깔과 형태 등을 관찰했다.

균주의 생장곡선

F. multivorum HL-1의 생장 특성을 알아보기 위해, NB 배지와 덱스트란 1%가 첨가된 NB 배지, LB 배지와 덱스트란 1%가 첨가된 LB 배지 및 덱스트란 최소배지에서 각각 생장곡선을 측정하였다. 먼저 배지 20 ml에 1백금을 접종하여 30°C에서 150 rpm으로 18시간 진탕배양한 후 일정비율로 배지 100 ml에 접종하여 30°C에서 150 rpm으로 회전진탕 배양하면서 접종 즉시부터 일정 시간마다 분광광도계(Schimidzu, UV-120-02)를 이용하여 600 nm에서 O.D.를 측정하여 생장곡선을 작성하였다.

덱스트란 분해효소 용액의 조제

LB 배지 20 ml에 *F. multivorum* HL-1 균 1백금을 접종하여 30°C에서 150 rpm으로 18시간 전배양한 후, 1% 덱스트란이 포함된 덱스트란 최소배지에 50 : 1로 접종하여 30°C에서 150 rpm으로 3일간 진탕배양한 후, 18,000×g로 4°C에서 30분간 원심분리(Centrifuge H-401)하여 얻은 상층액을 조효소액으로 사용하였다.

덱스트란 분해효소 활성도 측정

덱스트란 분해효소의 활성 Somogyi 방법(21)에 의한 유리 환원당 측정과 3,5-dinitrosalicylic acid(DNS)에 의한 환원당 측정방법을 이용하였다(22). 효소 용액의 활성 측정을 위한 표준 곡선 작성은 다음과 같이하였다. 각 시험관에 0.05~1.0 mg/ml 되도록 말토오스 용액을 3 ml 씩 조성하고, 1% DNS를 1.0 ml 씩

첨가하여 끓는 물에서 5분간 중탕시킨 후 흐르는 물로 식혀 실온이 되게 하고, 대조군은 증류수만을 사용하여 같은 처리를 한 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 덱스트란 분해효소 활성은 적정온도, 적정 pH에서 10분간 반응했을 때 환원당인 maltose 1.0 µg을 유리시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

(1) 덱스트란 농도와 배양조건에 따른 효소 활성 측정은 덱스트란 최소배지를 기초배지로 하여 덱스트란 농도(%)를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2와 1.5 등으로 하고, pH를 8.0로 조정하여 덱스트란 농도가 효소 생산에 미치는 영향을 조사하였고, (2) 질소원, 금속 이온에 의한 영향도 조사하였다. (3) pH에 따른 효소 활성 측정은 pH 별 0.05 M 완충액에 덱스트란 농도가 2.5%가 되도록 만든 후에 이를 기질용액으로 사용하여 효소액과 혼합하여 35°C에서 30분간 반응을 시킨 후에 측정했다. (4) 온도의 영향에 따른 효소의 활성도 측정은 덱스트란 농도가 2.5%가 되도록 덱스트란을 Tris-HCl 완충액(pH 8.0)에 녹인 후 효소액과 혼합하여 25°C에서 55°C까지 5°C 간격으로 30분 반응시킨 다음 효소활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

Flavobacterium multivorum HL-1의 특성

F. multivorum HL-1은 간균 형태로서 그람염색에서 음성반응을 나타냈으며, LB 평판배지에서 48시간 배양하였을 때 노란색 집락을 형성하였고, 덱스트란 최소평판배지에서 배양하여 에탄올을 가하였을 때 균



Fig. 1. Clear zone of dextran-degraded area by *Flavobacterium multivorum* HL-1 cultured on 1.0% dextran mineral salts agar plate by ethanol flooding.

Table 1. The biochemical characteristics of *F. multivorum* HL-1

Examinations	Characteristics
Cell shape	rod
Gram stain	-
Colony color	yellow
Motility	-
Growth at 42°C	-
Acid production from rhamnose, xylose, glucose and lactose	+
Production of Urease, catalase, oxidase	+
Esculin hydrolysis	+
Acid from mannitol	-
Productions of arginine dihydrolase	-
lysine decarboxylase	-
ornithine decarboxylase	-
acetamide, gelatinase and indole	-
Citrate utilization	-
Nitrate reduction	-
Production of gas, H ₂ S, alkali on TSI medium	-

-: negative reaction, +: positive reaction

주위에 투명한 환이 형성됨을 관찰하였다(Fig. 1). *F. multivorum* HL-1의 생화학적 특성은 Table 1에서 나타난 바와 같이 rhamnose, xylose, glucose 및 lactose로부터는 산을 생성한 반면, mannitol로부터는 산을 생성하지 않았고, esculine hydrolysis는 양성반응을 나타내었다. arginine dihydrolase, lysine decarboxylase, ornithine decarboxylase, acetamide, gelatinase 및 Indole 생성은 하지 않았으며, 42°C에서는 성장하지 않았고 운동성은 없었다. 또한 citrate는 이용하지 못하였으며, nitrate 환원능력이 없을 뿐 아니라, Triple Sugar Iron(TSI) 배지에서 gas, H₂S, alkali는 생성하지 않았다.

NB 배지와 NB-1% 덱스트란 배지, LB 배지와 LB-1% 덱스트란 배지 및 덱스트란 최소배지에서의 생장곡선은 Fig. 2와 3에 제시됐다. NB 배지 및 LB 배지에서는 약 90분 후부터 대수기가 시작되어 12~13시간 후에 정지기에 도달하였는데, LB 배지에서 보다는 NB 배지에서 좀 더 완만한 성장을 나타냈으며, NB-1% 덱스트란을 함유한 배지에서는 함유하지 않았을 때보다 약간 높은 성장률을 나타냈다. 한편, 덱스트란 최소배지에서는 4시간 후부터 대수기에 들

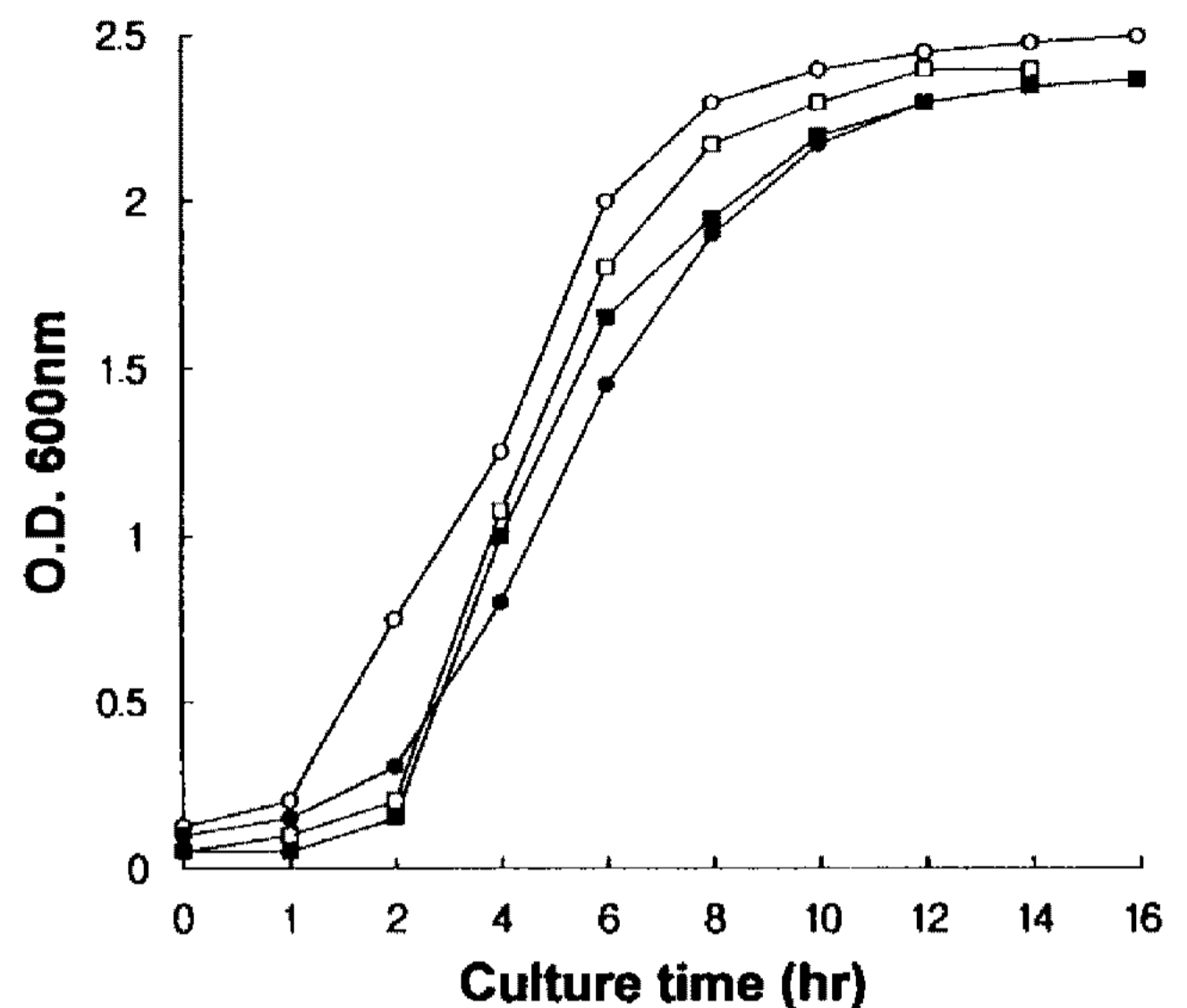


Fig. 2. Growth patterns of *Flavobacterium multivorum* HL-1 in various media at 30°C.

-○-: NB-1% dextran medium, -●-: NB medium, -□-: LB-1% dextran medium, -■-: LB medium

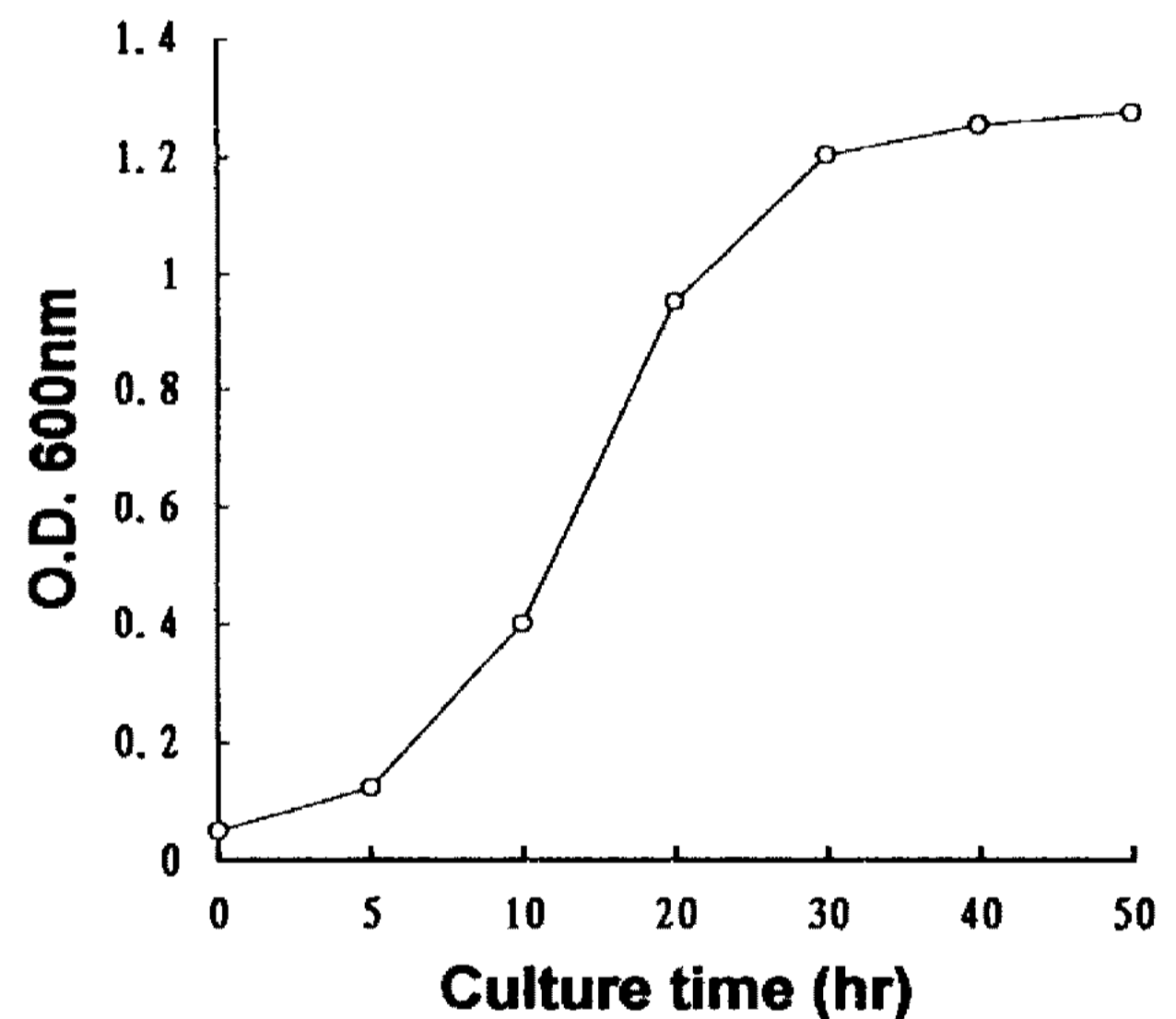


Fig. 3. Growth patterns of *Flavobacterium multivorum* HL-1 in dextran-mineral salts medium at 30°C.

어가 40시간 후에 정지기에 도달하였다(Fig. 3).

덱스트란 분해효소의 생산에 미치는 덱스트란의 농도와 질소원의 영향

덱스트란 농도가 효소활성에 미치는 영향을 조사하기 위해 덱스트란 농도(%)를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.5로 조정된 배지에서 3일간 30°C에서 배양한 후 효소활성을 측정한 결과, 1% 덱스트란을 첨가하였을 때 덱스트란 분해효소의 활성이 185 units/ml로서 가장 높게 나타났다(Table 2). 1% 농도의 활성을 100으로 보았을 때에 0.8% 덱스트란의 경우는 64%

Table 2. Effect of dextran concentration on the dextranase activity from *F. multivorum* HL-1

Dextran Conc. (%)	Dextranase activity (units/ml)	Relative activity (%)
0.2	75	46
0.4	75	46
0.6	85	51
0.8	115	64
1.0	185	100
1.2	65	41
1.5	60	39

Table 3. Effect of nitrogen sources on the dextranase activity produced by *F. multivorum* HL-1

Nitrogen sources	Dextranase activity (unit/ml)
Inorganic	
NaNO ₃	100
NH ₄ NO ₃	570
KNO ₃	70
NH ₄ Cl	140
(NH ₄) ₂ SO ₄	80
NH ₄ H ₂ PO ₄	160
urea	10
Organic	
bactopeptone	140
yeast extract	140
beef extract	680
casamino acid	70

의 상대적 활성을 나타냈고, 1.2% 덱스트란의 경우는 39%의 활성을 나타내었다.

11종의 질소원을 덱스트란 최소배지에 0.2% 농도로 첨가하여 3일간 배양한 다음 3,5-DNS로 활성을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 무기질원으로서 NH₄NO₃ 첨가한 경우는 570 units/ml의 최고의 활성을 나타내었고, 다음은 NH₄H₂PO₄를 첨가한 경우 160 units/ml의 활성을 나타낸 반면, urea는 효소활성을 저해시켰다. 유기질소원으로서 beef extract에서 가장 높은 효소활성(680 units/ml)을 나타내었고, 다음으로 활성이 높은 유기물은 bactopeptone와 yeast extract를 첨가한 경우로서 활성이 140 units/ml이었다. Casamino acid의 경우는 거의 활성이 없었다.

덱스트란 분해효소의 활성에 미치는 영향

9종의 금속이온을 덱스트란 최소배지에 같은 농도로 첨가하여 배양한 후 효소활성에 미치는 영향을 조사한 결과가 Table 4에 제시되었다. 대조군을 100%

Table 4. Effect of various metal ions on the dextranase activity produced by *F. multivorum* HL-1

Metal ions	Conc. (%)	Dextranase activity (Units/ml)	Relative activity (%)
None	0	120	100
MgCl ₂	0.05	145	124
MnSO ₄ ·H ₂ O	0.05	80	67
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.05	85	70
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05	0	0
FeCl ₂ ·6H ₂ O	0.05	110	94
CoCl ₂	0.05	60	48
HgCl ₂	0.005	20	15
CuCl ₂	0.05	75	65
ZnSO ₄	0.05	35	26

Table 5. Effect of pH on the dextranase activity from *F. multivorum* HL-1

pH	Residual sugar (%)
4	35.8
5	34.6
6	33.3
7	33.3
8	32.1
9	32.1
10	33.3

로 보았을 때에 Mg⁺⁺ 이온은 124% 정도 효소활성을 증가시켰고, 다음으로 Fe⁺⁺의 경우는 97%의 활성을 그리고 Mn⁺⁺는 67%의 활성을 나타낸 반면에 다른 금속이온들은 대체로 효소활성을 감소시켰다. 특히 Hg²⁺에서는 효소활성이 미약하였고, Ca²⁺ 이온을 첨가하였을 때는 활성이 거의 나타나지 않았다. Kobayasi 등(23)이 연구한 *Flavobacterium* 속의 덱스트란 분해효소는 Mn²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ 이온에 의해 활성이 저해된다고 보고하였으나, 본 연구에서는 덱스트란 분해효소의 활성은 Mg²⁺에 의해서는 증가되었으나 Ca²⁺ 이온에 의해서는 활성이 거의 나타나지 않은 것으로 보아 Kobayasi 등(12)이 보고한 덱스트란 분해효소와는 다른 것으로 생각된다. Sugiura 등(24, 25), Mitsuishi 등(14), Hiraoka 등(9), Fukumoto 등(26), Yamaguchi 등(27)의 연구 결과 Hg²⁺ 이온은 덱스트란 분해효소 활성을 강력히 저해하는 물질로 알려졌는데, 본 효소는 Hg²⁺ 이온에 의해 활성이 약 85% 정도 저해되었다.

효소의 최적활성 pH를 조사하기 위하여 반응액을 pH 4에서 pH 10까지 조절하여 환원당을 측정된 결과 Table 5에서와 같이 효소활성은 pH 4~10 범위에서

Table 6. Effect of temperature on the dextranase activity produced by *F. multivorum* HL-1

Temp. (°C)	Residual sugar (%)
25	36.1
30	37.6
35	38.8
40	36.9
45	33.9
50	35.1
55	33.9

안정하였으며, 특히 pH 8과 9의 알칼리에서 약간 높은 분해능을 나타내었다. 본 연구의 *F. multivorum* HL-1이 생산하는 덱스트란 분해효소 활성이 알칼리에 높게 나타난 것으로 보아, 본 균주의 덱스트란 분해효소는 치과의학과 산업적으로 매우 유용하다고 생각된다.

덱스트란 분해효소의 최적온도를 조사하기 위하여 25°C에서 55°C 사이에 30분 반응시켜 환원당을 측정 한 결과는 Table 6에서와 같이 45~55°C에서 최적 활성을 나타내었다. Bailey 등(28)은 *Lactobacillus bifidus*의 덱스트란 분해효소는 41~50°C 사이에서 최적 활성을 나타낸다고 연구보고 하였으며, Yamaguchi 등(27)은 *Brevibacterium*의 덱스트란 분해효소는 53°C에서 최적 활성을 나타내며, Fukumoto 등(26)은 *Penicillium luteum*의 덱스트란 분해효소는 50°C에서 최적 활성을 나타낸다고 보고하였다. 상기의 연구결과와 비교하여 볼 때 본 연구에서 사용한 *F. multivorum* HL-1의 덱스트란 분해효소는 최적온도가 40~55°C로서 대부분의 다른 덱스트란 분해효소의 최적온도가 50~55°C인 것과 차이가 나타났다.

요 약

Flavobacterium multivorum HL-1이 생성하는 dextranase의 특성과 이 효소의 활성에 미치는 영향을 조사하였다. 덱스트란 분해효소의 활성은 Somogyi 방법에 의한 유리 환원당 측정과 3,5-dinitrosalicylic acid(DNS)에 의한 환원당 측정방법을 이용하였다. 상기 균주는 배지에 1.0%의 덱스트란이 첨가되었을 때에 생산이 최고치에 달했고, 이 배지에 ammonium nitrate와 beef extract를 첨가했을 때에 효소의 활성은 각각 570과 680 units/ml로서 더욱 높았다. 효소의 활성은 Mg⁺⁺ 첨가했을 때에 124%의 증가를 보였고, 반면에 Ca⁺⁺, Co⁺⁺, Hg⁺⁺, Zn⁺⁺는 효소의 활성을 저해했다. 효소의 활성은 pH 4~10에서 거의 비슷한 활성도를 보였으며, 최적 온도는 45~55°C였다.

참고문헌

- Bourne, E.J., R.L. Sidebotham, and H. Weigel. 1972. Studies on dextrans and dextranases. Part X. Types and percentages of secondary linkages in the dextrans elaborated by *Luconostoc mesenteroides* NRRL B-1299. *Carbohydr. Res.* **22**: 13-22.
- Miyaji, H. and A. Misaki. 1973. The structure of a dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1397: The linkages and length of the branches. *Carbohydr. Res.* **31**: 277-287.
- Gibbons, R.J. and R.J. Fitzgerald. 1969. Dextran-induced agglutination of *Streptococcus mutans* and its potential role in the formation of microbial dental plaques. *J. Bacteriol.* **98**: 341-346.
- Lee, K.J. and B.H. Lee. 1980. Characterization of *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque. 2. Streptococcal polysaccharide. *Kor. J. Microbiol.* **18**: 180-187.
- Robrish, S.A., W. Reid, and M. Krichevsky. 1972. Distribution of enzyme forming polysaccharides from sucrose and the composition of extracellular polysaccharide by *Streptococcus mutans*. *Appl. Microbiol.* **24**: 184-190.
- Whiteside-Carlson, V. and W.W. Carlson. 1952. Enzymatic hydrolysis of dextran. *Science* **115**: 43.
- Tsuchiya, H.M., A. Jeans, H.M. Bricker, and C.A. Wilham. 1952. Dextran-degrading enzymes from molds. *J. Bacteriol. (Baltimore)* **64**: 513-519.
- Hutson, D.H. and H. Weigel. 1963. Studies on dextrans and dextranases. IV. Mechanisms of the actions of intra-and extra-cellular mould dextranases. *Biochem. J.* **88**: 588-591.
- Hiraoka, N., J. Fukumoto, and D. Tsuru. 1972. Studies on mold dextranases. III. Purification and some enzymatic properties of *Aspergillus carneus* dextranase. *J. Biochem.* **71**: 57-64.
- Lee, K.J. 1980. Studies on mold dextranases. 1. Dextranase production by a strain of *Aspergillus ustus*. *Kor. J. Microbiol.* **18**: 188-192.
- Zevenhuizen, L.P.T.M. 1968. Cell-bound exodextranase of *Bacillus* species. *Carbohydr. Res.* **6**: 310-318.
- Kobayashi, M., S. Takaki, M. Shiota, Y. Mitsuishi, and K. Matsuda. 1983. An isomaltotriose-producing dextranase from *Flavobacterium* sp. M-73: Purification and properties. *Agric. Biol. Chem.* **47**(11): 2585-2594.
- Mitsuishi, Y., M. Kobayashi, and K. Matsuda. 1979. Dextran α -1,2 debranching enzyme from *Flavobacterium* sp. M-73.: Its production. *Agric. Biol. Chem.* **43**(11): 2283-2290.
- Mitsuishi, Y., M. Kobayashi, and K. Matsuda. 1980. Dextran α -(1-2) debranching enzyme from *Flavobacterium* sp. M-73. Properties and mode of

- action. *Carbohydr. Res.* **83**: 303-313.
15. Pulkownik, A. and G.J. Walker. 1977. Purification and substrate specificity of an endo-dextranase of *Streptococcus mutans* K1-R. *Carbohydr. Res.* **54**: 237-251.
 16. Walker, G.J., A. Pulkownik, and J.G. Morrey Jones. 1981. Metabolism of the polysaccharides of human dental plaque; release of dextranase in batch cultures of *Streptococcus mutans*. *J. Gen. Microbiol.* **127**: 201-208.
 17. Ebisu, S. and A. Misaki. 1974. The structure of water-insoluble glucans of cariogenic *Streptococcus mutans*, formed in the absence and presence of dextranase. *Carbohydr. Res.* **38**: 374-381.
 18. Matsuda, Y. 1976. Dextran degrading bacteria in human oral cavity and their activity against insoluble glucan from *Streptococcus mutans*. *Bull. Tokyo. Med. Dent. Univ.* **23**: 27-40, 49.
 19. Lehner, T., S.J. Challacombe, and J. Caldwell. 1976. Immunologic basis for vaccination against dental caries in Rhesus Monkeys. *J. Dent. Res. Special Issue C* 166-180.
 20. Cowan, S.T. and K.J. Steel. 1974. Manual of the identification of medical bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press.
 21. Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *J. Biol. Chem.* **160**: 61-73.
 22. Janson, J.C. and J. Porach. 1966. A Bacterial dextranase. *Methods in Enzymology* **8**: 615-621.
 23. Kobayashi, M., Y. Mitsuishi, and K. Matsuda. 1978. Pronounced hydrolysis of highly branched dextrans with a new type of dextranase. *Biochem. Biophys. Res. Commu.* **80**: 306-312.
 24. Sugiura, M., A. Ito, T. Ogiso, K. Kato, and H. Asano. 1973. Studies on dextranase. Purification of dextranase from *Penicillium funiculosum* and its enzymatic properties. *Biochemica et Biophysica Acta.* **309**: 357-362.
 25. Sugiura, M., A. Ito, and T. Yamaguchi. 1974. Studies on dextranase II. New exo-dextranase from *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum*. *Biochemica et Biophysica Acta.* **350**: 61-70.
 26. Fukumoto, J., H. Tsuji, and D. Tsuru. 1971. Studies on mold dextranases. I. *Penicillium luteum* dextranase: Its production and some enzymatic properties. *J. Biochem.* **69**: 1113-1121.
 27. Yamaguchi, T. and S. Gocho. 1973. Production and properties of alkaline dextranase from a newly isolated *Brevibacterium*. *Agr. Biol. Chem.* **37** (11): 2527-2533.
 28. Bailey, R.W. and R.T.J. Clarke. 1959. A bacterial dextranase. *Biochem. J.* **72**: 49-54.

(Received 25 November 1994)