

357

ATP誘導体の合成と各種グルコキナーゼに対する基質活性

(関東学院大・工・工化) ○鈴木 篤、古城周久、冨田耕右

【目的】 ATP誘導体は、ATP関連酵素反応を行う場合の固定化ATPの前駆体や特異的吸着体のリガンドなどとして重要である。本研究ではATPのN-6位にアミノ基を導入したN-6 aminohexyl carbamoyl ATPを合成し、我々の各種グルコキナーゼについての研究の一環として、本誘導体の各種グルコキナーゼに対する基質活性の変動を観察し、我々が昨年報告したN-6 succinyl ATPとの比較を行った。

【方法及び結果】 N-6 aminohexyl carbamoyl ATPの合成はATPとhexamethylene diisocyanate(HMDI)との反応によるが、HMDIが水に不安定であることを考慮し、我々*の方法に従い、非水系で行った。即ち、LiClを含有したdimethyl sulfoxideがATPを溶解することから、この溶媒系にATPを溶解し、HMDIを添加し、30℃で20時間反応させた。生成物をH₂O(pH2)に投じ4℃で一晩放置した後、Dowex 1-X8カラムに吸着させLiCl水溶液で溶出させて精製した。グルコキナーゼとしては好熱菌*Bacillus stearothermophilus*(BS)由来と嫌気性菌*Zymomonas mobilis*(ZM)由来のものを用いた。これらの酵素に対する本ATP誘導体の動力学的パラメーターを測定したところ、BS由来、ZM由来のいずれについても、ATPと比べてKm値は若干増大するがV_{max}値は殆ど変化なく、昨年報告したN-6 succinyl ATPとは異なり、グルコキナーゼの起源によらず類似の挙動を示すことが分かった。

* K. Tomita, K. Imahori, *J. Appl. Biochem.*, 4, 234(1982)

Synthesis of ATP derivative and its substrate activities to some glucokinases

○Atsushi Suzuki, Kanchisa Kojoh and Kosuke Tomita
(College of Engineering, Kanto Gakuin University)

【Key Word】 ATP derivative, N-6 aminohexyl carbamoyl ATP, Glucokinase

358

高度不飽和脂肪酸生産性*Mortierella*属糸状菌のcytochrome b₅の精製と諸性質

○神前 紀彦、河島 洋*、清水 昌 (京大 農化)

【目的】 昨年度本大会において、演者らは、高度不飽和脂肪酸生産菌である*Mortierella hygrophila*のミクロソームよりcytochrome b₅を精製したことを報告した¹⁾。その後の研究により、分子量が異なる2種類のcytochrome b₅が存在することがわかった。各々を精製し、諸性質を検討したので報告する。

【方法・結果】 *Mortierella hygrophila*の菌体破砕物から超遠心分離によって調製したミクロソーム画分を1.5% Triton X-100で可溶化した。この可溶化酵素液を亜二チオン酸ナトリウムで還元し、還元型-酸化型差スペクトルを調べたところ、cytochrome b₅に由来すると思われる555 nm、526 nm、423 nm付近に極大のあるスペクトルが得られた。これを手がかりとして、DEAE-toyopearl、Sephadex G-75、Mono Qの各カラムクロマトグラフィーを試みたところ、最終段階のMono Qカラムにおいて、活性が2つに分かれ、しかも、両者とも電気泳動的に均一であった。SDS-PAGEによる分子量は、各々16 kDa (b₅₁)、19 kDa (b_{5H})と推定された。両者のN末端は、保護されていたので、リジルエンドペプチダーゼによる消化後、内部ペプチドのアミノ酸配列を決定したところ、b₅₁については、ホ乳動物のcytochrome b₅と高い相同性を示す断片を得た。b_{5H}については現在検討中である。

1) 河島ら、1993年度日本生物工学会講演要旨集 p.95 (*サントリー 生医研)

Purification and characterization of cytochrome b₅ from arachidonic acid producing *Mortierella* fungi

○Norihiko Kozaki, Hiroshi Kawashima, and Sakayu Shimizu (Dept. Agric. Chem. Kyoto Univ.)

【Key Words】 *Mortierella* fungi, cytochrome b₅