

115

菌体外高分子に含まれるタンパク質の凝集能への関与

○渡辺昌規、須田慶人、佐々木健

(広島国際学院大・物質工・生体材料)

【目的】海洋性光合成細菌 *Rhodovulum* sp. PS88 は、RNA 様高分子を菌体外高分子 (EPS) として、蓄積し、自己凝集する事が知られている。RNA は EPS の主要成分である。しかし、詳細な高分子の分泌、蓄積機構は十分解明されていない。そこで、我々は EPS 成分間の凝集能への関わりについて明らかにする事を目的とし、EPS 成分中に含まれるタンパク質に着目して、凝集能への関与及び、機能について検討を行った。

【方法及び結果】 NaCl 1~5% 存在下、*Rhodovulum* sp. PS88 株を好気暗条件下、20℃で5日間培養後、渡辺らの方法¹⁾に従い、凝集菌体から弱アルカリ条件下で粗EPSを菌体表層から抽出後、冷アセトン分画、ゲル濾過クロマトグラフィーで精製を行った。その結果、SDS-PAGE において分子量 35~50kDa 付近に数種の特異的なバンドを検出した。なお、検出したタンパク濃度の増加が、本菌の凝集能の増加と相関が見られることから、特定タンパクの凝集機能への関与が示唆される。現在、ペプチドマッピング法によるタンパク質の特定を行っている。

1) Watanabe et al., Appl. Microbiol. Biotechnol. 50, 682-691, 1998

Involvement of protein toward microbial flocculation in extracellular polymeric substances

○Masanori Watanabe, Yoshito Suda, Ken Sasaki (Dept. Eng., Grad. Sch. Sci. Matter, Hiroshima Kokusai Gakuin Univ.)

【Keyword】: protein, extracellular polymeric substances, marine photosynthetic bacteria, RNA, SDS-PAGE, microbial flocculation.

116

19F-nmr を用いるモノフルオロ酢酸生産の Cosynthesis 実験

○田村 隆、澤本有香子、田中英彦、稲垣賢二 (岡山大・農)

【目的】放線菌 *Streptomyces cattleya* は無機のコス素塩からモノフルオロ酢酸と 4-Fluoro-threonine を生合成する。開発途上国では石炭燃焼による大気及び飲料水のフッ素汚染が広域化しており、本菌のフッ素固定化機構の解明とフッ素汚染環境浄化への応用に興味を持たれる。本研究では、19F-nmr を用いてフッ素代謝を観察することにより、フッ素代謝欠損株の Cosynthesis 解析を行った。【方法・結果】*Str. cattleya* のフッ素代謝能欠損株 7 株を突然変異剤処理により分離した。相補実験では、2 株の欠損株を休止菌体として混合しフッ素代謝の回復を 19F-nmr を用いて検討した。相補実験によりフッ素代謝産物生産を確認できた組み合わせについて、片方の株 (secreter) に蓄積した代謝中間体をもう片方の休止菌体 (converter) でフッ素化させる Cosynthesis 実験を行った。フッ素化反応が確認できれば、Secreter が Converter よりフッ素化反応に近い酵素が欠損しているとされる。Cosynthesis に成功した 7 つの組み合わせから 3 つの株について相対的な欠損順位を特定することが出来た。

【Key Words】Cosynthesis, *Streptomyces cattleya*, 19F-nmr