

333

Rhodanese 産生放線菌 —

シアン化合物除去微生物

(大阪市立大学 理学部) 大井 進, 山本武彦

目的. *Rhodanese* は CN^- の処理用としても注目される酵素であるが, ロダニース (*Rhodanese*) 力の強い微生物は少い。

演者等は, 高濃度のチオ硫酸を含む培地を用い土壌中の微生物をスクリーニングして, 或る種放線菌が高い *Rhodanese* とチオ硫酸酸化活性を有することを見出した。同菌はかなり高濃度のシアン添加培地に生育しシアンをロダンにすることが判った。

方法. 各1% グルコース, マルトース, N源として0.15% $(NH_4)_2HPO_4$ を含むチオ硫酸添加培地に分離放線菌を振盪培養し, 最大の生育量に達したのち菌体を遠心分離して集め, 0.1 M 磷酸緩衝液 pH5.5 にて数回洗浄し, まずそれについて *Rhodanese* 活性とチオ硫酸酸化活性を調べた。

Rhodanese 活性は 0.04 M KCN, 0.0125 M $Na_2S_2O_3$ 存在で pH7.0, 60 分間反応を行なわせ, のちホルマリン添加で反応をとめ生じたロダンを H_2SO_4 (硝酸溶液) にて発色させ比色定量した。ロダン $1 \mu mole$ を生成する酵素量をもって 1 単位とした。チオ硫酸酸化活性は, 上記反応溶液中 KCN 無添加にて反応させ, $1 \mu mole$ の四チオン酸の生成を以て 1 単位とした。酵素の抽出は, 菌体のフレンチプレスで破砕 (12,000 psi) により, 或は界面活性剤 Tween 80 (0.05%) による抽出などで行った。

結果. 分離菌は 100 mM チオ硫酸添加培地ではやゝ生育は抑制されるが, 強力な *Rhodanese* 活性並びにチオ硫酸酸化活性を示した。N源としてはポリペプトン, C源としてはグルコースとマルトース, 或はグリセロールが生育にも, 又酵素の生成にも有効であった。

分離菌は, チオ硫酸ソーダが存在すれば, KCN を添加した培地中でも生育する。KCN 濃度が高くなると (10~30 mM) lag phase はかなり遅滞するが, やはり生育し, CN^- を定量的に SCN^- に転換した。

同菌菌体をフレンチプレスにて破砕しても酵素はわずがしが抽出されないが, 破砕菌体を 0.05% Tween 80 に懸濁すれば殆んど抽出出来, DEAE 及び CM cellulose によるカラムクロマトグラフィーにて, ディスク電気泳動的に単一標品として分離精製することが出来た。

なお, 分離菌は糖の資化性試験, 各種斜面培養上での胞子形成, 胞子の形態等より, *Streptomyces lavendulae* に属する 1 株であると思われた。