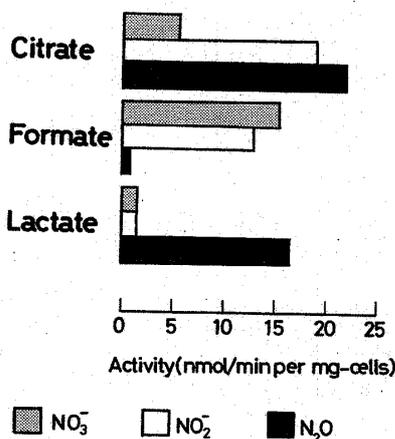


128 脱窒菌 *Pseudomonas denitrificans* の亜酸化窒素還元における電子供与体
(京大・工・工化) °西村有史 大神泰孝・Irene Tam Kit Ping
上原操次郎・福井三郎

1.目的 *Escherichia coli* や *Pseudomonas denitrificans* が硝酸呼吸を行う際、一般にギ酸が硝酸還元における主な電子供与体として働くと考えられている。*E. coli* は亜硝酸をアンモニアに還元する亜硝酸還元を行うが、この反応に於てもギ酸が電子供与体となり得る事が示されている。*P. denitrificans* の亜硝酸還元は脱窒反応の一段階であって *E. coli* のようにアンモニアを生成するものではないが、我々はこの反応に於てもギ酸が有効な電子供与体として機能する事を既に報告した¹⁾。またギ酸を培地に添加したとき硝酸還元・亜硝酸還元両活性が変動する事から、ギ酸がこれらの活性の調節に関与している可能性を示唆した²⁾。亜酸化窒素還元は硝酸の分子状窒素への還元における最終段階と考えられる。今回はこの反応の電子供与体について、前の二段階の反応と比較して検討した。

2.方法 *Pseudomonas denitrificans* ATCC 13867 をクエン酸・硝酸を含む合成培地を用い、30°C嫌気条件(He下)で培養した。亜酸化窒素還元反応は生菌懸濁液を用い、脱気後上部気相を亜酸化窒素で置換し30°Cで振盪しながら行った。上部気相を経時的に採取し、熱電導度検出器付ガスクロマトグラフで分析した。生成した窒素量をもって亜酸化窒素還元活性とした。硝酸還元及び亜硝酸還元の測定には生菌懸濁液を用い、生成及び消失する亜硝酸量をもって各々の活性とした。

Comparison of enzyme activities in denitrification with different electron donors



3.結果 図に示すように、培養基質として使用したクエン酸は亜酸化窒素からの窒素の生成に於て電子供与体として高い活性を示した。しかし硝酸還元・亜硝酸還元の段階で良好な電子供与体として働いたギ酸は、亜酸化窒素還元に於ては極めて低い活性しか示さなかった。乳酸はクエン酸と比べると活性は低かったもののかなり良い電子供与体となる事が明らかになった。亜酸化窒素還元の前段階である硝酸・亜硝酸還元には於ては乳酸はごくわずかの活性しか示さなかった。このように硝酸・亜硝酸還元の段階と亜酸化還元の段階で、電子供与体としての有効性に関しギ酸と乳酸の挙動は際立った違いを示した。生菌体懸濁液における脱窒の各段階に対するギ酸と乳酸の効果の差異は、両者の菌体での膜透過性の差異によるものではないと考えられる。また高濃度(10mM)のギ酸の亜酸化窒素還元反応の阻害を考慮し、低濃度(2mM, 5mM)の場合も検討したが、低い活性しかみられなかった。

一連の反応である脱窒の各段階で有効な電子供与体がこのように異なる事は脱窒の反応を考える上で興味ある現象である。

¹⁾ Nishimura et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **87** 140-145 (1979), ²⁾ Nishimura et al. *Arch. Microbiol.* **124** 191-195 (1980)