

548 Methanol/質化性酵母 *Kloeckera* sp. No. 2201 の catalase の結晶化と諸性質
(京大・工・工化, 京大・農・農化*) Sabiha Mozaffar, 植田亮美
清水 昌*, 田中 隆夫

1. 目的: Methanolを唯一の炭素源およびエネルギー源として生育させた酵母 *Kloeckera* sp. No. 2201 の細胞内には, crystalloid (結晶構造) をもつ, 隣接した大きなペルオキシゾーム (マイクロボディ, Ps) が出現する。Ps の発達とその指標酵素であり, crystalloid を構成する酵素の一つでもある catalase の生合成および局在化機構を解析するために, まず本酵母より catalase を精製し結晶化するとともにその諸性質を明らかにすることを試みた。

2. 方法: 全菌体を破碎して得た無細胞抽出液, 細胞分画して得た Ps を含む顆粒画分, およびその画分を除いた上清画分から, それぞれ column chromatography により精製した。

3. 結果: 全菌体より精製した catalase (M-Kkl) は, 針状結晶を示し, 分子量 6.2 万のサブユニットからなる四量体で, 吸収スペクトルから T-type に属することがわかった。至適 pH は 7.2 であったが, 5 から 9 の pH 域で高い活性を示した。また, H_2O_2 に対する K_m 値は 25 mM で, peroxidase 活性の methanol に対する K_m 値は 0.3 mM であった。本酵素に対して調製したウサギ抗血清との免疫化学的実験ならびに column chromatography での挙動から, 細胞内に他の type の酵素は存在しないことが判明した。さらに, 本酵素の Ps への局在化機構に対する知見を得るために, 細胞分画後, Ps を含む顆粒画分 (Ps-Kkl) と上清画分 (Cy-Kkl) に回収されるそれぞれの catalase を精製して比較検討した。Ps, Cy-Kkl はともに分子量, H_2O_2 に対する K_m 値, N-末端アミノ酸は同じであり, また protease を用いて部分分解して得た peptide fragment のパターンも非常に類似していた。これらの結果より, Ps-Kkl と Cy-Kkl は, タンパク分子としては同一である可能性が強く示唆された。

Crystalization and Some Properties of Catalase from Methanol-grown Yeast, *Kloeckera* sp. No. 2201. Sabiha Mozaffar, Mitsuyoshi Ueda, Sakayu Shimizu*, and Atsuo Tanaka (Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, Kyoto University, Yoshida, Sakyo-ku, Kyoto 606; *Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kyoto University, Kitashirakawa, Sakyo-ku, Kyoto 606)

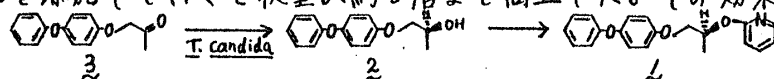
549 微生物を利用したケトン類の不斉還元反応
(住友化学 生命工学研)

西沢完治・大神泰寿・杉本千晶・広原日出男

1. 目的 我々は幼若ホルモン様活性を有する 1 (S-31183 (S-isomer)) の前駆体である (S)-アルコール 2 の合成法としてケトン 3 の微生物還元反応を検討し, *Torulopsis candida* IFO-0380 等に高い活性を見出した^{1,2)}。今回, 本菌株等による他のケトン類の不斉還元反応について検討し, 基質構造による反応性及び選択性の相違について調べた。又反応時における大豆油の添加効果についても検討したので報告する。

2. 方法 微生物を培地 100 ml に接種し, 好気条件下 24 時間培養後, 基質及び所定量の大豆油を添加した。5 日間反応後生成物を抽出し, ガスクロマトグラフィー及び高速液体クロマトグラフィーにて収率・光学異性体比を測定した。

3. 結果 *T. candida* IFO-0380 は 3 の他に 4, 5, 6, 7 も不斉還元する。3, 4 は収量・% 比ともに差はないが, 5, 6, 7 では収量も低く % 比も低下した。高収量・高選択率を得る為に 4 におけるエーテル結合型酸素原子が重要と考えられる。又, 4 の不斉還元において大豆油を添加していくと収量が約 3 倍まで向上した。その効果についても議論する。



化合物					
収量 (mmole / L. culture) [% 比]	19.2 [98.8/1.2]	14.8 [98.0/2.0]	1.4 [80.1/19.9]	1.6 [56.8/43.2]	3.3 [80.1/19.9]

1) 日本農芸化学会 5. 60 年度大会要旨集 p. 540 2) 同 p. 68

Microbial Asymmetric Reduction of Ketones.

° Kanji Nishizawa, Yasutaka Ohgami, Chiaki Sugiki, and Hideo Hirohara

(Takarazuka Research Center, Biotechnology Laboratory, Sumitomo Chemical Co., Ltd.)