

90 微生物代謝, 生理

319 酵素法による S-ラクトイルグルタチオンの生産
(京大食研, *日本メナード化粧品)○小杉信彦[†], 井上善晴, 李海翊, 村田幸作, 小西宏明[†], 木村光

1)目的 S-ラクトイルグルタチオン(S-LG)は, メチルグリオキサル(MG)とグルタチオン(GSH)からグリオキサラーゼIの触媒により生合成され, 細胞増殖や炎症反応等に関与していると考えられている。今回, 演者らは, S-LGの有効利用の開発を目的として, 酵素法によるS-LGの生産法について検討を行なった。

2)方法 グリオキサラーゼI源としては, 酵母 *S. cerevisiae* DKD-5D-H株及び, *P. putida* 由来のグリオキサラーゼI遺伝子を導入することにより活性が約150倍に増大した組換え大腸菌 *E. coli* C600 (pGI4-23)株の細胞抽出液を使用した。S-LG量は, グリオキサラーゼIIを用いて240nmの吸光度の減少から算出した²⁾。

3)結果 酵母をグリセロールを炭素源とする無機塩培地で培養することにより, グルコースを炭素源とした場合の約20倍グリオキサラーゼI活性が増大した。このグリセロール誘導酵母の細胞抽出液を用い, 10mM MGと50mM GSHを基質として37°C, 1時間の反応により約5mM(2%)のS-LGが生成した。一方, グリオキサラーゼI活性が増大した組換え大腸菌の細胞抽出液を使用した場合, 50mM MGと100mM GSHから37°C, 1時間の反応により約40mM(15%)のS-LGが生成した。大腸菌においてはグリセロールによるグリオキサラーゼIの誘導効果は認められなかったが, 最小培地で培養することによりグリオキサラーゼI活性は, 栄養培地に比べ約10倍増大した。

1) Rhee et al. (1987) Biochem. Biophys. Res. Commun. (in press)

2) Murata et al. (1986) Agric. Biol. Chem. 50, 135-142

Enzymatic Production of S-Lactoylglutathione

○Nobuhiko Kosugi*, Yoshiharu Inoue, Hae-ik Rhee, Kousaku Murata, Hiroaki Konishi* and Akira Kimura
Research Institute for Food Science, Kyoto University, Uji, Kyoto 611, Japan.

*Biochemical Research Institute, Nippon Menard Cosmetic, Co., Ltd., Ogaki, Gifu 503, Japan.

320

Pseudomonas putida の glyoxalase I 遺伝子のクローニング

(京大・食研) ○李海翊, 村田幸作, 木村光

1)目的 α-ケトアルデヒドの微生物における生理作用の解明及び有用物質への転換を目的として検討を行なっている。今回は *P. putida* の glyoxalase I 遺伝子を大腸菌でクローニングとその遺伝的解析を行なった¹⁾。

2)方法 *P. putida* より抽出した染色体DNAをSau 3AIで部分分解後得られたDNA断片をpBR 322に連結し *E. coli* C600株を形質転換することによりgene bankを作製した。スクリーニングは形質転換株のメチルグリオキサルに対する耐性を指標として行なった。酵素活性測定は前報²⁾の方法により, DNA塩基配列はジデオキシヌクレオチド法で決定した。

3)結果 メチルグリオキサルに対する耐性株のうち1株が *E. coli* C600野性株より約150倍以上高いglyoxalase I活性を示した。その株より抽出したプラスミドpGI 318はBamHI部位に7.5 kbのDNA断片を保持していた。さらにサブクローニングによりpBR 322のBamHI-HindIII内に2.2 kbのDNA断片を持つpGI 423を作製した。pGI 423の遺伝子産物は電気泳動的にかつ活性染色により, 精製 *P. putida* の glyoxalase I²⁾と一致することが判った。pGI 318又はpGI 423で形質転換した大腸菌は1.0 mMのメチルグリオキサールの存在下で正常な細胞形態を維持したが, 野性株は極端に伸びた細胞形態を示し, メチルグリオキサールが細胞増殖に関連していることが判った。またglyoxalase I遺伝子の全塩基配列も決定したので併せて報告する。

1) Rhee et al. (1987) Biochem. Biophys. Res. Commun. (in press)

2) Rhee et al. (1986) Biochem. Biophys. Res. Commun. 141, 993-999

Molecular Cloning of the *Pseudomonas putida* Glyoxalase I Gene in *Escherichia coli*

○Hae-ik Rhee, Kousaku Murata and Akira Kimura

Research Institute for Food Science, Kyoto University, Uji 611, Japan