

54 代謝・生理

211 好熱性ラン藻由来のRuBisCOとその遺伝子について
(東大・農・農化)

○矢口敏昭、鄭 宣龍、石井正治、五十嵐泰夫、児玉 徹

【目的】 RuBisCO(Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase)は最も一般的な炭酸固定経路であるカルビンサイクルのキーエンザイムである。今回、我々は好熱性ラン藻由来のRuBisCOについて遺伝子レベル、蛋白レベルでの知見を得ることを目的とした。

【方法と結果】 伊豆の温泉より60℃で生育するラン藻を取得した。顕微鏡観察およびGC含量測定の結果、本菌を単細胞性の*Synechococcus* spp.と同定した。cell free extracts中に、強いRuBisCO活性が確認されたことから、本菌はカルビンサイクルにより炭酸固定を行なっていると考えられた。このRuBisCOの最適反応温度(1分間の反応)は約60℃であり、現在報告されているRuBisCOの中でも高い熱安定性を持つことが分った。

次に、中温性ラン藻*Anacystis nidulans*由来のRuBisCO Large subunit DNAをプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行なったところ、7kbの*Eco*RI断片が強くハイブリダイズすることを見出し、pUC19を用いて大腸菌JM109を宿主としてクローン化した。サブクローニングの結果、RuBisCO遺伝子は3.5kbの断片中に存在することが明らかとなった。さらに大腸菌を大量培養してRuBisCO活性を測定したところ、本RuBisCOは大腸菌において活性型で発現していることが確認された。また、IPTGの添加の有無にかかわらず活性が確認されたので本断片中にはRuBisCOのプロモーター配列が含まれ、それが大腸菌で働いていると考えられた。大腸菌よりの本RuBisCOの精製は耐熱性酵素であることを利用した熱処理、陰イオン交換により容易に行なうことができ、本酵素はLaS_a型であることが確認された。

RuBisCO and its gene from thermophilic *Synechococcus* spp.
Toshiaki Yaguchi, Seong Yong Chung, Masaharu Ishii, Yasuo Igarashi, Tohru Kodama
Dept. of Agric. Chem., The Univ. of Tokyo

212 海底下かん水より分離した高温細菌によるフェノール類の分解

(鳥取大・工・生物応用) 加藤暢夫、° 頭山和義、築瀬英司

1) 目的 新潟県沿岸海底下のかん(鹹)水には10~20 ppmのフェノール類が含まれており、採取時の水温は約80℃である。私達はこの高温かん水より性質の異なる2種のフェノール分解細菌を分離し、各々の菌学的性状と生育およびフェノール類の分解特性などを明らかにしたので報告する。

2) 方法 フェノール分解菌の分離は以下のように行った。まず、かん水に0.2%ペプトン、0.1% NH₄Cl、0.01% K₂HPO₄および200 ppmのフェノールを添加して50℃で3~5日間振盪し、フェノールの減少したものにつき、同様の操作を繰り返し行った。次いで人工海水で調製した培地(1%ペプトン、0.5%酵母エキス、200 ppmフェノール、pH 7.0)で液体培養、寒天平板培養を数回行い純粋分離した。

3) 結果 上記の分離法により、フェノール分解菌を2株(401株および501株)得た。401株は*Bacillus stearothermophilus* subgroup 2と同定した。本菌の生育温度は37~60℃であり、真水で調製した培地でもよく生育した。一方、501株はグラム不定の桿菌で、運動性を有し、胞子を形成しない。菌学的、生理学的性状から本菌はRhizobiaceae科に属すると判定できるが、該当する属・種はなく、また、通性の海洋由来細菌とも異なっていた。生育温度は30~55℃であり、海水培地でのみ増殖した。両菌ともフェノールを単一炭素源とする培地では生育しないが、上記の培地、50℃の培養で、401株、501株ではそれぞれ、18および24時間でフェノールは完全に消失した。フェノールの分解に際して501株の培地は黒褐色に着色した。両菌ともクレゾールもよく分解した。

Degradation of Phenol by Bacteria Isolated from Submarine Brine

Nobuo Kato, Kazuyoshi Zusan, and Hideshi Yanase (Department of Biotechnology, Faculty of Engineering, Tottori University, Koyama-cho, Tottori 680)