

563

Hydrogenovibrio marinus MH-110株からの L_2 型 RuBisCOの精製及び性質

(東大、農化) ○鄭 宣龍、西原宏史、五十嵐泰夫、児玉 徹

【目的】 *Hydrogenovibrio marinus* MH-110株は西原ら¹⁾によって、海洋から取得された絶対独立栄養性を示す水素細菌であり、Calvin cycleにより炭酸固定を行っている。今回我々は、本菌よりこのサイクルのキーエンザイムであり、炭酸固定の律速因子となっていると考えられる Ribulose 1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase(RuBisCO)を精製することを試みた。

【方法】 $H_2:O_2:CO_2=7:1:1$ のガス組成下で独立栄養的に培養した菌体から粗酵素液を調製し、DEAE-Sepharose CL-6B、Mono Q、Gelfiltrationによって精製を行った。活性測定はRibulose 1,5-Bisphosphate(RuBP)を基質とした $^{14}CO_2$ の取り込みを測定することによって行った。

【結果】 ゲルろ過及びPAGEにより、本菌のRuBisCOの分子量は約11万と推定された。また、SDS-PAGEにより、このRuBisCOはSサブユニットを持たない L_2 型酵素であることが明らかになった。N-末端からのアミノ酸シーケンスの結果、*Rhodospirillum rubrum*の L_2 型RuBisCOと56%のホモロジーがあった。各基質に対する K_m 値は、 CO_2 : 0.25mM, Mg^{++} : 0.32mM, RuBP: $4.6\mu M$ であった。

1):Nishihara H, Igarashi Y, Kodama T. Arch Microbiol 152:39-43(1989)

Purification and Properties of Form II RuBisCO from *Hydrogenovibrio marinus* MH-110Seon Yong Chung, Hirofumi Nishihara, Yasuo Igarashi and Tohru Kodama
Department of Agricultural Chemistry, The University of Tokyo

564

Rhodococcus erythropolis のフタル酸水酸化酵素の精製と諸性質

(炭化水素類の微生物特異機能 第3報)

(工技院・微工研) ○末森明夫、倉根隆一郎、富塚登

【目的】 グラム陽性細菌 *Rhodococcus erythropolis* S-1 はフタル酸をプロトカテキン酸を経て資化する¹⁾。フタル酸資化性グラム陰性細菌によるフタル酸の初期酸化経路は詳細に研究されているが、グラム陽性細菌による初期酸化経路は殆ど知られていない。そこで本菌のフタル酸初期酸化経路を明らかにするため、フタル酸水酸化酵素の精製を行い、酵素化学的性質を検討した。

【方法】 供試菌株は 0.7%(W/V) フタル酸ジナトリウム(DP)を含む基本培地を用い、30℃にて2日間培養した。炭素源の異なる基質を用いて培養し、フタル酸酸化酵素系の誘導条件の検討を行った。本酵素は菌体破砕液より、60%飽和硫酸分画、Butyl疎水クロマトグラフィー、ゲル濾過ならびにDEAEイオン交換クロマトグラフィーを用いて精製した。酵素活性はDPを基質に用い、反応に伴うNADHの消費を分光光度計により定量測定した。

【結果】 精製により電気泳動的に単一バンドを示す酵素標品を得た。精製酵素の分子量はSDS-PAGEで 5.6×10^4 であり、1分子中にFAD1分子を含んでいた。酵素活性の至適pHは6.5、至適温度は40℃であり、 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} などにより促進され、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} により阻害された。本酵素をDPと30℃で1日間反応させると、4-ヒドロキシフタル酸が生成することが確認された。本菌はフタル酸を資化するとき、ピリジンジカルボン酸をジヒドロキシ化合物にCo-oxidationしないことと併せて、*Pseudomonas* 属細菌におけるフタル酸ジオキシゲナーゼを介在しない初期酸化経路を有するものと考えられる。

1) R. Kurane, et al., Agric. Biol. Chem., 44, 523 (1980)

Purification and some properties of phthalate hydroxylase from *Rhodococcus erythropolis*

○Akio Suemori, Ryuichiro Kurane, Noboru Tomizuka

(Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Technology)