

1Fp12

嫌気性メチロトロフ *Butyribacterium methylotrophicum* の
フェレドキシンとルブレドキシン佐伯和彦¹、Gwo-Jenn Shen²、Roger C. Prince³、J. G. Zeikus²(阪大・理・生物¹、ミシガン州立大²、ミシガン・バイオテクノロジー研²、エクソン R & D³)

嫌気条件下で C_1 化合物をエネルギー源として成長し酢酸あるいは酪酸またはその両者を生産する細菌は、Acetogenと呼ばれている¹⁾。 *B. methylotrophicum* は、Marburgの污水处理場から単離された一種のAcetogenである²⁾が、成長基質としてメタノール、 CO 、 CO_2 、蟻酸などの C_1 化合物以外に、ブドウ糖、乳酸、ピルビン酸などの C_n 化合物を利用することができる。この細菌は、メタノールを成長基質として与えると酪酸を、 CO では酢酸と水素、蟻酸では酢酸と CO_2 を主として生産し、 CO_2 を与えたときには還元力として水素を消費しつつ酢酸を生産する。また、ブドウ糖を与えると酢酸と水素の生産が主となる。成長基質の還元度と菌体内の酸化還元バランスが生産物を制御しているのではないかと考えられるが、その機構は不明である。この細菌の酸化還元系を調べる一端として、フェレドキシン (Fd) とルブレドキシン (Rd) の精製を行ない性質を調べたので報告する。

Fdについては、菌体抽出液からDEAE-セファロースを用いたイオン交換クロマトグラフィーを2回繰り返したのち、セファデックスG-75とPROTEIN PAK-125を用いたゲルろ過を行ない精製した。このFdは酸素に対して不安定であったため、菌体の破壊をフレンチプレスを用いて窒素気流中に行い、最終段階のHPLCを除いて嫌気グローブボックス中でクロマトグラフィーを行なった。Rdについては、2回目の陰イオン交換クロマトグラフィーによってFdと分離したので、さらに硫酸分画とフェニル-セファロースを用いたクロマトグラフィーを行なったのち、Fdと同様にゲルろ過を繰り返すことによって精製した。

2種の電子キャリアの分子量はFdで約6,000、Rdで約5,500と見積られ、1分子当りにそれぞれ8と1個の鉄を含んでいた。酸化型の電子キャリアは、280と391 nm (Fd) に、276、378と492 nm (Rd) にそれぞれ吸収極大を示した。EPRスペクトルから、*B. methylotrophicum* Fdは、2個の4鉄4硫黄クラスターを持ち、Rdは1個の非ヘム鉄を持つ *Clostridium* 型のFdやRdとであると判明した。Fdの $E_{m.}$ はいずれのクラスターも -410 ± 20 mV、Rdの $E_{m.}$ は -40 mVであった。

精製標品について、 CO を利用する反応に関与すると考えられる CO 脱水素酵素 ($CODH$)、水素の取り込みおよび生産に関与していると考えられる uptakeヒドロゲナーゼとproductionヒドロゲナーゼとの反応性を菌体抽出液を酵素試料として用いて調べた。2種のヒドロゲナーゼとの反応性では、FdとRdの間で大きな差異は認められなかったが、 $CODH$ の電子受容体として用いとRdは高い活性を示した。これらの結果は、好熱性Acetogenの一種である *Clostridium thermoaceticum* で精製酵素を用いた結果とよく似ていた。Rdの菌体内における機能として、*B. methylotrophicum* においても、 CO からの還元力を受け取っている可能性が示唆された。

¹⁾ Zeikus et al. (1985) Science 227:1167-1173

²⁾ Zeikus et al. (1980) Curr. Microbiol. 3:381-386