

625 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* PK-2 のエチレン生成酵素の精製

(熊工大、応微工) ○長浜一弘、小川隆平、藤井隆夫、福田秀雄

1. 目的 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* PK-2¹⁾は *Penicillium digitatum*²⁾と同様に α -ケトグルタル酸(α -KG)を経由してエチレンを生産する。演者らは、本菌の in vitro エチレン生成系についてすでに報告したが、³⁾今回は本菌のエチレン生成酵素を精製し、その酵素化学的性質を明らかにすることを目的とした。
 2. 方法 *Ps. syringae* pv. *phaseolicola* PK-2を0.5% グルコース含有NB培地、30℃ロータリーシェーカーで約16時間培養し、集菌、洗浄後、超音波破碎し、遠心分離により得られた上清をCell-free extractとした。エチレン生成酵素の活性は、酵素溶液0.1mlに200 mM HEPES Buffer pH 8.0 (0.2ml), 20mM DTT(0.1ml), 0.75mM FeSO₄ · 7H₂O(0.1ml), 2.5 mM α -KG(0.1ml), 100mM L-histidine(0.1ml), 5mM L-arginine(0.1ml), 脱イオン水(0.2 ml)を加えた1.0mlの反応液を15 ϕ (13ml容) 試験管に入れ常法通り25℃で10分間シール反応後、生成エチレン量をガスクロマトグラフィーで定量した。
 3. 結果 Cell-free extractに1% streptomycinを加え、その上澄液に30%硫酸を添加後、Butyl-Toyopearl 650M, DEAE Sepharose CL-6B, Bio-Gel H.T., Sephadex G-100, TSK-gel G-3000 SW, TSK-gel DEAE 5PW columnを用いて精製した。得られた精製酵素の諸性質についても言及する。
- 1) M. Goto and H. Hyodo: Plant Cell Physiol., 28(3): 405-414(1987)
 - 2) H. Fukuda, T. Fujii and T. Ogawa: Agric. Biol. Chem., 50(4): 977-981(1986)
 - 3) 長浜、小川、藤井、福田: 平成2年度日本農芸化学会西日本支部大会講演要旨集

Purification of an ethylene-forming enzyme produced by *Pseudomonas syringae*

Kazuhiro Nagahama, Takahira Ogawa, Takao Fujii and Hideo Fukuda

(Department of Applied Microbial Technology, The Kumamoto Institute of Technology)

626

シュードモナス属細菌におけるハロペルオキシダーゼの多様性とその反応
(福井大・工・生化) 伊藤伸哉、○森永直樹

1. 目的 現在、いくつかの抗菌性ハロゲン化合物が、微生物によって生産されることが報告されている。その一つであるピロールニトリン生産菌 *Ps. pyrroinitrica* B-116を始め種々のシュードモナス属細菌に、性質の異なる臭素化酵素 (bromoperoxidase)^{1, 2)}が存在していることを見出し、これらの酵素によるハロゲン化反応について検討を加えた。
 2. 方法 菌株には、ピロールニトリン生産菌 (藤沢薬品工業株より供与) 及び種々のタイプカルチャーを使用した。培養はピロールニトリン生産培地³⁾を用いて、30℃で48時間培養した。菌体を破碎し得られた粗酵素液を、DEAE-Sepharose 及び Cellulofine によって分離し、種々のペルオキシダーゼ画分を得た。これらの酵素を用い、アニリン等を基質として30℃で18時間反応後、生成物を TLC, GC, HPLC, GC-MSにより分析同定した。
 3. 結果 種々のシュードモナス属細菌に臭素化酵素の存在が認められた。これらの酵素の存在はピロールニトリン生産性とは一致しなかった。また *Ps. pyrroinitrica* と *Ps. putida*の酵素では、DEAE-Sepharoseクロマトグラフィー等の溶出パターンに明かな差異が認められた。*Ps. pyrroinitrica*の酵素は、アニリンから臭素化物を生成するだけでなく、アゾベンゼン、アゾキシベンゼン、ニトロベンゼンを生成した。この反応はヘムタンパクの阻害剤である N₂ の存在下でも進行することから、この臭素化酵素が非ヘムの酵素であり、また臭素化反応以外にもアミン類のニトロ化反応を触媒することが明らかになった。
- 1) 伊藤ら、菌種と工業、45, 665 (1987)
 - 2) V. Weisner et al., J. B. C., 263, 13725 (1988)
 - 3) K. Arima et al., J. Antibiotics, Ser. A 18, 201 (1965)

Some different haloperoxidases in *Pseudomonas* sp. and their reactions

Nobuya Itoh and O Naoki Morinaga (Dept. of Appl. Chem. and Biotechnol., Faculty of engineering, Fukui University, Bunkyo, Fukui 910)