

F-2. 真菌 *Penicillium funiculosum* の細胞外ポリ-3-ヒドロキシ酪酸分解酵素

神奈川大学理学部 白木麻里、宮崎咲江、高橋和平、齊藤光実

真核生物であるカビの細胞外ポリ-3-ヒドロキシ酪酸 (PHB) 分解酵素は、細菌由来の酵素に比べるとあまり研究されていない。本研究では *Penicillium funiculosum* の PHB 分解酵素を単離し、その性質を細菌由来の *Ralstonia pickettii* T1 の酵素と比較した。

[結果] *Penicillium funiculosum* は IFO6345 を使用した。カビを PHB を含む液体培地で培養し、培養上清からフェニルトヨパールによって分子量 33,000 のタンパク質を得た。このタンパク質のアミノ末端のアミノ酸配列は TALPAFNVNPNSVSVSGLSSGGYMAAQL であった。酵素活性は diisopropylfluorophosphate と dithiothreitol により完全に阻害された。動力学的性質 (表) より、カビの酵素は *R. pickettii* T1 の酵素に比べ PHB を加水分解する活性は弱く、3-ヒドロキシ酪酸 (3HB) オリゴマーを比較的好く分解した。カビの酵素には高マンノース型の糖鎖がついていた。PHB の加水分解の推移をカビ酵素と細菌酵素で比較した (図)。PHB の加水分解による濁度の減少と遊離した総 3HB 量の時間変化はカビと細菌の酵素の間で変化がなかった。

[討論] カビの酵素は N-末端に典型的なリパーゼボックス (GXSG) 配列を持ちこの点では細菌の酵素と類似していた。しかし分子量が細菌の酵素の約 5 万に比べかなり小さく PHB 結合部位がどうなっているか等の構造上の違いに興味がある。カビの酵素は 3HB-オリゴマーを極めて効率よく分解し、PHB の分解産物も大部分 3HB モノマーであった。しかし PHB 分解の全体の様子は細菌の酵素と変わらず、細菌の酵素がエンド型の加水分解酵素であることから、カビの酵素もエンド型であると思われる。

表 K_m と V_{max}

		PHB	3HB-trimer	3HB-dimer
<i>P. funiculosum</i>	K_m	3.0 mg/ml	2.6 mM	<50mM
	V_{max}	20 u/mg	190 U/mg	<1000 U/mg
<i>R. pickettii</i> T1	K_m	0.30 mg/ml	0.50 mM	
	V_{max}	550 U/mg	2.1 U/mg	

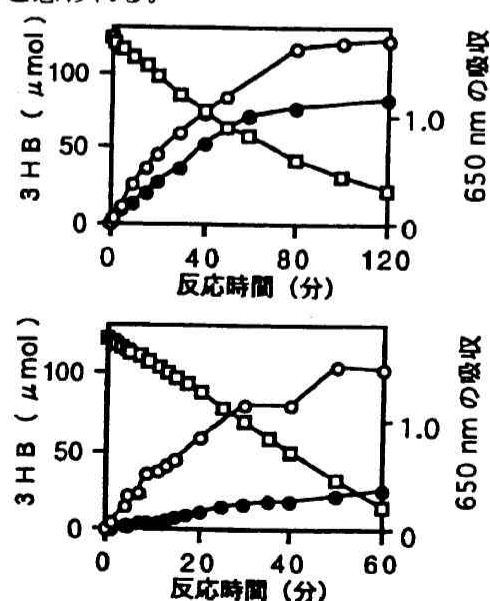


図 *R. pickettii* PHB分解酵素と *P. funiculosum* のPHB分解酵素の比較。●：反応生成物中の3HB量、○：反応生成物をすべて3HBに変えたときの3HB量、□：650 nmの吸収の変化。(上) *P. funiculosum* の酵素：反応溶液 15 ml 中に精製酵素 0.18 mg (12 μg/ml)、(下) *R. pickettii* の酵素：反応溶液 20 ml 中に精製酵素 0.0068 mg (0.34 μg/ml) を用いた。