



Title	ロドスピリルム・ルブルムのヒドロゲナーゼとフェレドキシンの精製と性質
Author(s)	日裏, 久英
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32732
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	日 裏 久 美
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 5190 号
学位授与の日付	昭和 56 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	ロドスピリルム・ルブルムのヒドロゲナーゼとフェレドキシンの精製と性質
論文審査委員	(主査) 教授 堀尾 武一 (副査) 教授 松原 央 教授 福井 俊郎 助教授 山下 仁平

論文内容の要旨

光合成細菌 *R. rubrum* を光照射下で培養すると、菌体の増殖に伴って、ヒドロゲナーゼが産生される。菌体を破壊して得られる抽出液に含まれるヒドロゲナーゼ（菌体内ヒドロゲナーゼ）の活性は培養 2 日目まで増加し、その後は最大値の約 1/5 に減少する。一方、培養液中に放出されるヒドロゲナーゼ（菌体外ヒドロゲナーゼ）の活性は、培養 3 日目まで増加し、その後はほぼ一定となる。4 日目で産生される菌体外ヒドロゲナーゼの全活性は、菌体内ヒドロゲナーゼの全活性よりも約 10 倍高い。

菌体内および菌体外ヒドロゲナーゼは、いずれも、硫安分画、イオン交換クロマトグラフィ、水素結合クロマトグラフィ、分子篩クロマトグラフィなどを組み合わせることによって精製された。精製された両ヒドロゲナーゼには次のような共通点および相違点が見られた。Ⅰ) 菌体外ヒドロゲナーゼの分子量は約 55,000 であり、菌体内ヒドロゲナーゼよりも約 13,000 大きい。Ⅱ) 1 M NaCl 存在下で両ヒドロゲナーゼは 4°C で保存すると失活しない。Ⅲ) 1 M NaCl 存在下で 50% 失活する温度は菌体内ヒドロゲナーゼは 77°C、また菌体外ヒドロゲナーゼは 55°C である。Ⅳ) 菌体外ヒドロゲナーゼは 400 nm 付近に吸収をしめすが、菌体内ヒドロゲナーゼは可視領域に吸収をほとんどしめさない。Ⅴ) 菌体外ヒドロゲナーゼの比活性は、菌体内ヒドロゲナーゼよりも約 100 倍高い。Ⅵ) 両ヒドロゲナーゼの等電点は約 5、また至適 pH は 7~8 であり、両者に著明な差はない。

培養液中には、ヒドロゲナーゼに加えて、フェレドキシンが存在することを見い出した。培養液を濃縮した後、分子篩クロマトグラフィ、イオン交換クロマトグラフィなどによって菌体外フェレドキシンを精製した。このフェレドキシンの分子量は約 9,000 また酸化還元電位 ($E_{m,7}$) は -0.29 V であり、4Fe-4S のクラスターを 2 個含んでいると思われる。菌体外フェレドキシンを、既に菌体抽出液

およびクロマトホア膜から分離、精製されている4種類のフェレドキシンと比較すると、特に、酸化還元電位とアミノ酸組成が異っていた。菌体外ヒドロゲナーゼと還元型の菌体外フェレドキシンを反応させると、水素ガスが発生した。この反応のフェレドキシンに対する K_m 値は $4.1\mu M$ であり、メチルビオロゲンに対する K_m 値の約700分の1であった。

菌体外ヒドロゲナーゼは、クロマトホアによって光還元された後に菌体外へ放出されたフェレドキシンと反応して、菌体外で水素ガスを発生させる可能性がある。

論文の審査結果の要旨

ヒドロゲナーゼは水素の分解および生成を触媒する酵素であり、本研究においては、太陽エネルギーによる水素発生系の組み立てに、将来、利用することを考えて、光合成細菌のヒドロゲナーゼの検索を行い、*Rhodospirillum rubrum*のG9株の酵素の精製と性質が、主として、研究されている。

日裏君は、*R. rubrum*を光照射下で液体培養すると、菌体内ヒドロゲナーゼに加えて、培養液中にヒドロゲナーゼとフェレドキシンが分泌されることを見出し、この菌体外ヒドロゲナーゼと菌体外フェレドキシンの精製を行った。

菌体外フェレドキシンは、アミノ酸組成、標準酸化還元電位などの点において、これまでに報告されている菌体内フェレドキシンと明らかに異なる。

菌体外ヒドロゲナーゼに加えて、菌体内ヒドロゲナーゼを高度に精製した結果、これらのヒドロゲナーゼは、分子量、比活性、などの種々の点において著しく異なる。これまでに報告されているすべてのヒドロゲナーゼが鉄硫黄蛋白質であるのに対して、菌体内ヒドロゲナーゼは全く別種の酵素である。また、菌体外ヒドロゲナーゼは既知のヒドロゲナーゼよりも遙かに高い比活性をもつ。

以上のように、日裏君の研究業績は、従来のヒドロゲナーゼとフェレドキシンの知見に加えて、画期的なものであり、また、将来のこの方面的研究指針となるものもある。よって、日裏君の研究業績は理学博士の学位論文として十分に価値あるものと認められる。