

# *Exiguobacterium oxidotolerans* T-2-2<sup>T</sup> 株における 細胞外カタラーゼ生産及び H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 耐性とカタラーゼ局在性との相関

分子生命化学講座 基礎環境微生物学専門分野  
花岡 賀子

## 【背景と目的】

好気的環境、または宿主に寄生もしくは、共生して生きる多くの細菌がカタラーゼを生産することが知られている。カタラーゼは、過酸化水素を水と酸素に分解し、活性酸素除去システムにおいて重要な機能を担う。一方、酵素利用の観点においても、製紙業、繊維業、水産加工業などで利用された過酸化水素を分解するために、微生物による安価なカタラーゼ生産の需要がある。

*E. oxidotolerans* T-2-2<sup>T</sup> 株（以下、本菌株）は、留萌市水産加工工場の排水から高カタラーゼ生産能と過酸化水素耐性を示す細菌として当研究室で分離された。本研究は、本菌株のカタラーゼ生産の利用性向上の検討、細菌の過酸化水素耐性機構における新しい知見の獲得を目的とした。

## 【方法と結果】

本菌株の生産する細胞外カタラーゼは細胞内カタラーゼと同一分子かどうか不明であったことから、両者の生化学的諸性質を検討した結果、細胞外カタラーゼは細胞内カタラーゼと同一分子であることが証明出来た。また、細胞外カタラーゼ生産の向上のための培養条件検討を行った結果、バッフルなし 2L 三角フラスコにおける培養液量を 200 ml にすることによる通気条件の調整、ヘムの前駆体である 2.0 mM アミノレブリン酸添加、0.1 % Tween60 を添加したとき、検討前と比較して 4.0 倍の 16,000 unit/ml のカタラーゼ活性を示す培養上清を得ることに成功した。この値は現在販売されている酵素のもとの細菌種由来細胞抽出液のカタラーゼと比較して、約 2 倍の値であった。

さらに、培養 6 h, 12 h, 24 h の細胞抽出液ベースで同量のカタラーゼ活性を持つ細胞懸濁液の過酸化水素分解能を調べたところ、24 h が最も高い分解能を有していた。また免疫電子顕微鏡法を用いた解析により、24 h の細胞切片上には、細胞表層構造と考えられる位置に抗体量全体の約 7 割のカタラーゼ抗体が局在していた。また、0.1 % Tween60 処理により得た培養 36 h の洗浄細胞を用いて、200 mM 過酸化水素添加後の生育曲線を得たところ耐性能の低下が見られた。

## 【考察及び結論】

1. 本菌株の生産する細胞外カタラーゼ生産は、市販されているもとの細菌種由来細胞抽出液のカタラーゼの約 2 倍の活性量を細胞外酵素として得られたことから、安価なカタラーゼ工業生産に貢献できる可能性が高いと考えられた。
2. 本菌株の過酸化水素耐性機構に関して、免疫電子顕微鏡より細胞表層構造内部におけるカタラーゼ抗体の局在性が確認され、グラム陽性細菌において初めて細胞表層の内部のカタラーゼ局在とその重要性を示した。