

研究快报

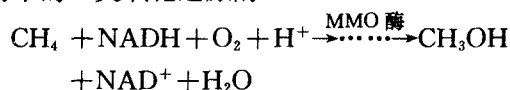
甲烷单加氧酶的高压离子交换色谱分离* **

刘爱民*** 左雄军 陈立仁 李树本

(中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州 73000)

关键词 甲烷单加氧酶, 高压离子交换色谱, 甲烷氧化细菌

甲烷单加氧酶 (methane monooxygenase, EC 1.14.13.25, 以下简称 MMO) 是近年来发现的, 能够在温和条件下活化分子氧 (O_2) 并将其直接插入到烷烃 (如下式), 烯烃和芳香化合物中的一类氧化还原酶^[1].



MMO 的酶促过程在工业上有着潜在的, 并有巨大的应用前景. 该酶在低碳烃类的选择氧化和某些精细化学品的不对称合成方面已被看作是自然界赋予的化学催化剂的最佳模型之一^[2].

迄今为止, 尚未有应用 HPIEC 分离 MMO 的报道. 我们从我国玉门油田土样中筛选出一株甲基单胞菌菌株^[3,4], 并从无细胞抽提液中分离到了壹溶性甲烷单加氧酶系^[5,6]. 在此基础上又首次应用高压离子交换色谱成功实现了 MMO 从无细胞抽提液中的高效分离. LCP SAX-II 和 LCP-DPIC 阴离子交换柱均得到三组分 (蛋白 A, B 和 C) 的 MMO 酶系; 并且三个组分都可在 HPIEC 上得到有效的分离. LCP-DPIC 的分离度比 LCP SAX-II 略高. 蛋白 A, B 和 C 的分子量分别为 220 000, 14 000 和 44 000; 与 DEAE-Sepharose CL-6B 色谱制备分离结果^[5,6]相一致. 不同的仅是分离时间更短、效率更高. 表明 HPIEC 方法适于 MMO 的分离分析和半制备量分离.

实验还发现, 新鲜制备的酶粗提液与已在 4℃ 冰箱中放置 15d 以上、酶活力明显下降的样

品在相同条件下经 HPIEC 分离后只有对应蛋白 A 的组分峰峰高下降, 峰亦展宽, 估计是蛋白变性所致. 表明蛋白 A 是起氧化还原作用的最重要组分.

参 考 文 献

- 1 Hou C T. Recent progress in research on methanotrophs and methane monooxygenases. *Biotechnol Gen Eng Rev*, 1986;4:145
- 2 Liu A M, Li S B. Oxygenation of CH_4 to CH_3OH by methane monooxygenase of *Methylomonas* sp. strain GYJ-3. *J Nat Gas Chem*. 1993;2(2):109
- 3 宁治中, 缪德坝, 易淑云等. 微生物学通报, 1990;17(5):283
- 4 Liu A M, Li S B, Xu T *et al.* Relations between methane-oxidizing activity and membrane morphology in *Methylomonas* sp. strain GYJ-3. *Proc of BCEIA'91*, Science Press, Beijing, 1991;A153
- 5 Liu A M, Li S B, Miao D X *et al.* Isolation and purification of methane monooxygenase from *Methylomonas* sp. strain GYJ-3. *Chinese Chem Lett*, 1991;2(5):419
- 6 Liu A M, Li S B, Yu W L *et al.* Preparative slab electrofocusing of methane monooxygenase from a type I methanotroph *Methylomonas* GYJ-3. *Biochem J*, 1990;22(6):959

* 国家自然科学基金青年项目及羰基合成与选择氧化国家重点实验室 (OSSO) 资助课题.

** 本文曾被美国化学会第 205 届年会 (1993. 4, Denver) 录用为大会口头报告.

*** 现为厦门大学化学系博士后研究人员, 厦门 361005.

收稿日期: 1993-08-09 修回日期: 1993-08-27