

一株节杆菌胆甾醇氧化酶的产生及其酶性质的研究

法幼华 苏起恒

(中国科学院微生物研究所, 北京)

胆甾醇氧化酶 (Cholesterol oxidase) 是近年来临床上用于检测血清游离胆甾醇的主要分析用酶。用酶法分析胆甾醇专一性强, 简便而准确所用试剂无腐蚀性, 特别适于人工操作^[1,2], 已有不少关于产酶菌种, 产酶条件及酶的分离提取等方面的报道^[3-7]。最近我们从几株降解胆甾醇能力较强的微生物中^[8]选到一株产胆甾醇氧化酶活力较高的节杆菌 (*Arthrobacter* sp.)。在营养培养基中振荡培养 72 小时后, 采用改进的 Richmond 法^[4]分别测定菌液(总酶), 菌液经离心后的上清液(胞外酶)及残留细胞(胞内酶)中的酶活力。根据在 37℃ 每分钟转化 $1\mu M$ 的胆甾醇为胆甾-4-烯-3-酮的酶量为一个胆甾醇氧化酶活性单位 (U)。

实 验

(一) 产酶情况

在培养的不同时间取样, 测定各部份酶液的酶活力。结果表明最活跃的产酶期在 36 小时内, 这期间, 菌液或者上清液中的酶量均达总酶量的 89%, 尤其在 12 小时以内, 酶的产生非常迅速, 不同培养时间渗出胞外部份酶量约为总酶量的 58—60%。但随着培养时间的延长, 可被提出的胞内酶量逐渐增加, 培养 72 小时胞外酶活力超过 400U/L。

(二) 酶性质的初步研究

用 70% 饱和度的 $(NH_4)_2SO_4$ 沉淀上清液中

的胆甾醇氧化酶可得到粗的酶制备物。根据酶性质的初步研究, 发现此酶的最适 pH 为 8.5, 酶反应的最适温度为 55℃, 酶液在不同温度中保温 30 分钟, 残余酶活力分别为 (%): 37℃, 98.1; 40℃, 92.6; 50℃, 81; 60℃, 41; 70℃, 5.7。以各种 3β -羟基甾体化合物作为底物进行反应, 相对氧化率 (%) 分别为胆甾醇 100, β -谷甾醇 7.1, 豆甾醇 6.9, 胆酸 5.4, 5α -胆甾烷 3.8, 薯蓣皂素 3.5, 海柯吉宁 2.6, 替可吉宁 1.7, 不能氧化麦角甾醇。

参 考 文 献

- [1] Allain, C. C., et al.: *Clin. Chem.*, **20** (4): 470—475, 1974.
- [2] Smith, A. G. and C. J. W. Brocks: *J. Steroid Biochem.*, **7**(9): 705—713, 1976.
- [3] Arima, K. M. et al.: *Agr. Biol. Chem.*, **33** (11): 1636—1643, 1969.
- [4] Richmond, W.: *Clin. Chem.*, **19**(12): 1350—1356, 1973.
- [5] Buckland, B. C. et al.: "Industrial Aspects of Biochemistry", (Ed. B. Spencer), Fed. Europ. Biochem. Soc., Amsterdam, 1974, pp. 65—79.
- [6] Buckland, B. C. et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, **18**(5): 601—621, 1976.
- [7] Lin, W. H. and C. H. Chen: *J. of Chinese Agr. Chem. Soc.*, **18**(3—4), 1—11, 1980.
- [8] 于连生、法幼华: 中国微生物学会第四届代表大会暨建会卅周年纪念会, 论文摘要汇编, p. 176 天津 82 年 10 月。