

# 26W-am03

## 細菌における新規非標準的 D-アミノ酸合成酵素の同定及び機能

○宮本 哲也<sup>1</sup>, 片根 真澄<sup>1</sup>, 斎藤 康昭<sup>1</sup>, 関根 正恵<sup>1</sup>, 本間 浩<sup>1</sup> (北里大薬)

真正細菌において、最近、種々の D-アミノ酸がペプチドグリカンのリモデリングの制御やバイオフィルムの形成抑制・解体に関与していることが明らかとなり、注目されている。この現象には、ペプチドグリカンに一般的に含まれている D-アラニン (D-Ala) や D-グルタミン酸 (D-Glu) 以外の非標準的 D-アミノ酸が、ペプチドグリカンに取り込まれることが関与していると考えられている。すなわち、細菌において D-アミノ酸は、変化する環境に対応して細菌が生存し続けるための生理的機能分子であると考えられる。これらの D-アミノ酸は主にアミノ酸ラセマーゼによって対応する L-アミノ酸から生合成される。実際に各細菌の細胞内及び培養液からは D-Ala や D-Glu に限らず、様々な D-アミノ酸が確認されているが、これらの生合成経路及び生理機能についての知見は乏しい。これらの解明は、細菌の感染抑制、薬剤耐性の克服、抗菌剤ターゲットの拡張に貢献するものである。

本研究では、*Escherichia coli* と *Bacillus subtilis* をモデル細菌として、D-Ala や D-Glu 以外の非標準的 D-アミノ酸の生合成経路の解明を目的としている。各細菌の ORF から推定アミノ酸ラセマーゼ遺伝子を探査し、これらを pET ベクターにクローニングした。大腸菌内で各タンパク質を発現させた後、His-Tag を指標に精製を行った。得られた精製酵素と各アミノ酸とを反応させた後、反応液中の D/L-アミノ酸を蛍光誘導体化し、HPLC により光学分割してラセマーゼ活性を測定した。その結果、各細菌において非標準的 D-アミノ酸合成能を有する酵素を同定した。これらは、種々のアミノ酸に対してラセマーゼ活性を示すというユニークな特徴を有しており、詳細な酵素学的解析を行った。さらに、大腸菌における本酵素の生育に対する影響を検証した。