

22PO-am263

*sliv37110*の機能解析と D-サイクロセリン生産系における利用

谷本 桃子², 青田 達明¹, 黒田 照夫¹, 森田 大地¹, 杉山 政則¹, 〇熊谷 孝則¹ (¹広島大院医歯薬保, ²広島大薬)

【目的】

私たちは、これまで、抗結核薬D-サイクロセリン (D-CS) の生合成遺伝子を大腸菌に導入することにより、大腸菌を宿主とした D-CS 生産系の構築に成功している。しかしながら、その生産は数時間でプラトーに到達し、原因としては D-CS 合成の際に必要な ATP の枯渇が考えられた。そこで本研究では、ATP 再生酵素であるポリリン酸キナーゼ (PPK) に着目し、*Streptomyces lividans* 由来の PPK をコードすると考えられる *sliv37110* の機能解析、および、その D-CS 生産系における利用を試みた。

【方法および結果】

sliv37110 の機能解析を行うため、まず、本遺伝子を大腸菌の宿主・ベクター系を用いて発現させた。その結果、Sliv37110 タンパク質は、シャペロン GroES/GroEL の共存下、可溶性のタンパク質として良好に発現した。そこで、精製した Sliv37110 を用いて活性を評価したところ、Mg²⁺イオンおよび鎖長 6 のポリリン酸存在下、ADP から ATP の生成が認められた。続いて、ATP 生成反応における Sliv37110 の至適温度、および、至適 pH を調べたところ、それぞれ 37°C および 9.5 であることが明らかになった。また、ポリリン酸の鎖長 (3, 4, および 6) の嗜好を調査した結果、鎖長 6 のポリリン酸を良好な基質とすることが判明した。以上の結果から、Sliv37110 は PPK2 であることが明らかになった。そこで、既存の D-CS 生産系に *sliv37110* を共存させ、D-CS 生産を試みた結果、非共存時に比べ、D-CS 生産の向上が認められた。