

- 610 *Deleya marina* N-1 株由来のアルギン酸生合成系遺伝子群の解析
(北大院・工・分子化学) ○浅井俊司, J. Kraiwatanapong, 大井俊彦, 木下晋一

【目的】アルギン酸分解菌として単離された *Deleya marina* N-1株のアルギン酸リアーゼをコードする *algA* 遺伝子がクローニングされ、その塩基配列が決定された。その *AlgA* の下流領域には ORF の存在が示唆された。 *Pseudomonas aeruginosa* (PS 菌) や *Azotobacter vinelandii* (AZ 菌) ではアルギン酸リアーゼ遺伝子 (*algL*) の上流と下流にはアルギン酸生合成遺伝子がクラスターすることが知られている。そこで *algA* の下流領域に存在する ORF のクローニングおよび塩基配列を決定することを目的とした。

【方法および結果】 *algA* の下流領域の塩基配列 3,390bp を決定したところ、 *algA* の後ろ 211 bp を隔てて 521 アミノ酸をコードする ORFB、および 10 bp を隔てて 350 アミノ酸をコードする ORFC が存在した。PS 菌および AZ 菌のアルギン酸リアーゼ遺伝子の下流のアルギン酸生合成に関与する遺伝子のアミノ酸配列とのホモロジーを検索した結果、ORFB は *AlgI* とはそれぞれ 79% および 77% の高いホモロジー (PS と AZ ではホモロジー 84%) を示し、また ORFC は PS 菌の *AlgJ* と 42% また AZ 菌の *AlgV* と 43% のホモロジー (PS と AZ ではホモロジー 58%) を示した。さらに、ORFC の下流領域に新しい ORFD の存在が示唆された。

Analysis of the alginate biosynthetic gene clusters in *Deleya marina* N-1.
○Shunji Asai, Jintana Kraiwatanapong, Toshihiko Ooi, Shinichi Kinoshita
(Dept. Mol. Chem., Grad. Sch. Eng., Hokkaido Univ.)

【Key word】 alginate biosynthesis, cloning, *Deleya marina* N-1

- 611 超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 由来の耐熱性トリプトファン合成酵素の解析
(京大院工・合成生化、CREST 今中プロジェクト)
○唐曉峰、江崎聡、跡見晴幸、今中忠行

【目的】Tryptophan synthase は微生物にとって重要な代謝経路であるトリプトファン合成経路における最後の 2 つの反応を触媒する。本研究は、超好熱始原菌 *T. kodakaraensis* KOD1 由来の *trpA* と *trpB* 遺伝子を *Escherichia coli* で発現し、超好熱菌由来 tryptophan synthase (TS) の酵素化学的性質を検討することを目的とした。

【方法及び結果】 *T. kodakaraensis* KOD1 由来の *trpA* と *trpB* 遺伝子をそれぞれ *E. coli* で発現した。さらに、別々に発現させた α サブユニット、 β サブユニットを混合した後、熱処理によって TS complex を形成させた。そして、 α 、 β および TS complex の三種類の酵素を精製し、酵素化学的性質を解析した。ゲル濾過カラムクロマトグラフィーの結果から、 α サブユニットはモノマー (α)、 β サブユニットはダイマー (β_2)、TS complex はテトラマー ($\alpha_2\beta_2$) であることが明らかになった。しかし、 α サブユニットの活性は TS complex の 6.4% しかなく、複合体の方が高い活性を示した。同様に、 β 反応を触媒する β サブユニットの酵素活性は、85°C で TS complex の 24% であった。また、熱安定性についても検討を行ったところ、TS complex は各サブユニット酵素より高い熱安定性を示した。以上の結果より、tryptophan synthase はサブユニット単位で活性を示すが、複合体を形成することによってより効率的に機能し、且つ熱に安定な酵素となっていることが示された。

Characterization of a thermostable tryptophan synthase from the hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakaraensis* KOD1
(Dept. of Synth. Chem. & Biol. Chem., Grad. School Eng., Kyoto Univ., CREST Imanaka Project)
○XiaoFeng Tang, Satoshi Ezaki, Haruyuki Atomi, Tadayuki Imanaka
【Key Words】tryptophan synthase, archaea, hyperthermophile, *Thermococcus*