

935 *Bacillus circulans* ヘパリチナーゼ遺伝子のクローニングと  
 発現 ○鳥海茂樹、松長泰三、徳山真治、宮園博文\*、丸山 浩\*、  
 森川清志\*、田原康孝(静岡大農・応生化、\*生化学工業東京研)

【目的】 土壌から分離した*Bacillus circulans* HpT298は、グリコサミノ  
 グリカンのヘパリンとヘパラン硫酸をともに分解する熱安定性の高いヘパ  
 リチナーゼT-IVを生産する。本研究は、本酵素の遺伝子をクローニングし、  
 大腸菌で発現させたことについて報告する。

【方法および結果】 精製酵素(113KDa)ペプチド断片のアミノ酸配列からプ  
 ライマーを合成し、PCR増幅とλZAPIIを用いたプラークハイブリダイゼ  
 ーションによって本酵素遺伝子をクローニングした。本遺伝子のORFは  
 3150bp(アミノ酸残基は1050)で、推定分子量は116KDaであった。この  
 ORFに32アミノ酸残基のシグナルペプチドを見出し、成熟酵素の推定分  
 子量は精製酵素の分子量と一致する113KDaであった。*Flavobacterium*  
*heparinum* のヘパリチナーゼ遺伝子との間での類似性はほとんど見られ  
 なかった。本遺伝子をpET11-cに挿入し、本遺伝子を保持する大腸菌BL21  
 の菌体内で本酵素が大量発現していることをSDS-PAGEで確認し、菌体破  
 壊液にヘパリチナーゼT-IVの酵素活性を検出した。

Cloning and expression of heparitinase gene from *Bacillus*  
*circulans*.

○S. Toriumi, T. Matsunaga, S. Tokuyama, H. Miyazono\*, H.  
 Maruyama\*, K. Morikawa\*, Y. Tahara (Dept. Appli. Biol. Chem.,  
 Shizuoka Univ., \*Seikagaku Corp.)

【Key words】 *Bacillus circulans*, heparin, heparitinase gene

936 Poly(P)-AMP phosphotransferaseを利用した新しいATP再生系の構築(北  
 大院・工・分子化学、\*ヤマサ醤油(株)・医薬・化成品事業部) ○亀田充  
 史、柴肇一、佐藤康治、田島健次、棟方正信、\*石毛和也、\*野口利忠

【目的】 *Myxococcus xanthus* はグラム陰性の桿菌で、菌体内に大量の  
 polyphosphate [poly(P)] を蓄積することが知られている。この *M.xanthus* が持つ  
 poly(P)-AMP phosphotransferase(PPAP)活性と polyphosphate kinase(PPK)活性を  
 組み合わせることで、poly(P)を利用するATP再生系を構築することを目的とした。

【方法及び結果】 *M.xanthus* から粗精製したPPAP活性と精製したPPKを組み合わ  
 せてATP再生系を構築しAMPとpoly(P)を出発物質として反応を行ったところ、ATP  
 が合成されるのが確認された。この反応系において、反応系に加えるAMP量、poly(P)  
 量、PPAP活性を含むextract量を変化させ、再生されるATP量への影響を調べた。  
 また、ATPを利用する酵素 acetyl-CoA synthase の反応に、このATP再生系を利用  
 したところ、AMPからATPへの再生が実際に進行していることが確認できた。また、  
 ATP再生系に用いるpoly(P)の鎖長依存性についても調べた。

Construction of novel ATP regeneration system using poly(P)-AMP phosphotransferase

○Atsushi Kameda, Toshikazu Shiba, Yasuharu Satoh, Kenji Tajima, Masanobu  
 Munekata, Kazuya Ishige\*, Toshitada Noguchi\*(Div. Mol. Chem., Gra. Sch. Eng.,  
 Hokkaido Univ., Biochemicals Division, Yamasa Corporation\*)

【Key words】 ATP regeneration, polyphosphate, polyphosphate kinase, poly(P)-AMP  
 phosphotransferase, *Myxococcus xanthus*