

2P-2130 ϵ -PL 合成酵素 (PIs) におけるペプチド鎖長制御機構の解析

○吉村 友宏¹, 山中 一也¹, 丸山 千登勢², 濱野 吉十²
(¹チッソ・横浜研, ²福井県大生物資源)

【目的】放線菌 *Streptomyces albulus* が生産する ϵ -PL は、L-リジンがイソペプチド結合で直鎖状に繋がった鎖長の多様性を有するホモポリアミノ酸である。この ϵ -PL は、新規ドメイン構造を有する単一モジュール型の非リボソームペプチド合成酵素 (ϵ -PL 合成酵素, PIs) によって合成され、鎖長及びその多様性も PIs 自身によって導かれる。我々は将来的に PIs の機能を改変することでポリアミド系バイオプラスチック創製への応用を目指しているが、PIs における ϵ -PL 鎖長の制御機構については未解明なままであった。一方、*S. albulus* 以外にも数種の放線菌および一部の糸状菌が、それぞれ異なる鎖長の ϵ -PL を生産することが知られている。そこで、本研究では PIs 鎖長制御機構解明を目的に、種々 ϵ -PL 生産菌から *pls* ホモログ遺伝子を取得し、その機能を解析した。

【方法・結果】*S. albulus* 由来 *pls* 遺伝子と取得したホモログ遺伝子からなる各種キメラ遺伝子を構築し、*S. albulus* の *pls* 遺伝子破壊株に導入した。導入株が生産する ϵ -PL の鎖長は、ペプチド合成ドメイン由来株が生産する ϵ -PL 鎖長と一致していたことから、 ϵ -PL の鎖長は PIs のペプチド合成ドメインによって制御されることが明らかとなった。

Chain length determination in epsilon-Poly-L-lysine synthetase

○TOMOHIRO YOSHIMURA¹, KAZUYA YAMANAKA¹,
CHITOSE MARUYAMA², YOSHIMITSU HAMANO²

(¹Chisso, ²Dept. Biosci., Fukui Pref. Univ.)

Key words NRPS, peptide synthetase, biopolymer

2P-2132 沖縄微生物ライブラリーの機能評価 (抗マラリア活性抽出物の探索)

○松井 徹¹, 稲福 征志¹, 鈴木 幸一¹, 李 長春¹, 新里 尚也¹,
渡嘉敷 唯章²
(¹琉大・熱生研, ²トロピカルテクノセンター)

【目的】国内唯一の亜熱帯地域である沖縄地方から分離した微生物の利用を目的に検討を行い、石油化学品分解(1)、新種提案(2)、土壌改良の可能性(3)について報告してきた。本報では、微生物代謝物による抗マラリア治療薬の可能性を探るため、ハイスループットな抗マラリア活性試験の確立と沖縄微生物ライブラリーからの抗マラリア活性スクリーニングを行った。

【方法及び結果】沖縄本島、八重山諸島を含む地域より収集した土壌から HV 培地を用いて分離した各菌株ライブラリーの飢餓培養液の抽出物約 5000 を評価試料として、in vitro におけるヘミンの重合阻害活性を測定したところ、4 株について阻害活性が認められ、内 2 株はマラリア原虫 *Plasmodium yoeli* のマウス感染抽出物を用いたヘム重合活性阻害試験においても阻害活性を示した。これら 2 株の 16SrRNA による系統解析を行った結果、*Serratia* sp.、*Ochrobactrum* sp. と高い相同性を示した。さらに、該菌株の培養抽出物投与によるマウスマラリア感染血液を用いたマウスの感染試験を行ったところ、マウス生体内でのマラリア原虫の増殖抑制効果が認められた。

参考文献：1) Matsui et al., Chemosphere, 76, 1278 (2009)、2) Matsui et al., IJSEM, 59, 536-539 (2009)、3) 松井ら H21 生物工学会大会要旨

Phenotypic analysis for Okinawa-microbial-library (application as anti-malarial drug)

○Toru MATSUI¹, Masashi INAFUKU¹, Koichi SUZUKI¹,
Changchun LI¹, Naoya SHINZATO¹, Tadaaki TOKASHIKI²

(¹TBRC, Univ. Ryukyus, ²Trop. Technol. Center, Ltd.)

Key words Okinawa microbial library, anti-malaria, heme polymerization inhibitor

2P-2131 *Massilia* sp. BS-1 のピオラセイン生産

○上松 仁, 鈴木 一也, 津谷 浩晃
(秋田高専・物質工)

【目的】秋田市内の土壌から分離した新規なピオラセイン生産菌 *Massilia* sp. BS-1 のピオラセイン生産はこれまでの生産菌と同様に Quorum sensing によることが示唆された。そこで、本菌の autoinducer (AI) を明らかにすることを目的とした。

【方法及び結果】BS-1 株は好気性桿菌で運動性を有し凝集菌体を形成した。0.1% 酵母エキス、0.1% ポリペプトン、0.1% KH_2PO_4 からなる培地で 25℃ でジャー培養すると、培養時間 16 時間の対数増殖期後期でピオラセイン (1) を急激に生産し始め、5 時間後に最大生産量 62mg/L に達し、培養 24 時間で生産は終了した。この生産パターンから AI による誘導が示唆された。そこで、本菌の AI を検出するために、良好に生育するが (1) の生合成原料である L-トリプトファン (L-Trp) を添加しても (1) を生産しない合成培地を設定した。この合成培地では (1) の生産には L-Trp 以外に L-ヒスチジン (L-His) が必要であった。0.02% の L-Trp を添加した合成培地で L-His を 0 から 63 μM へ上げていくと (1) は次第に生産され、63 μM 以上では (1) は増加しなかった。また、0.01% の L-His を添加した合成培地で L-Trp を 0 から 0.1% まで上げていくと (1) は L-Trp の濃度に依存して生産された。これらの結果から、L-His は必要添加量が微量であること、

(1) の生合成原料でないことから AI の生合成に関与していることが考えられた。また、BS-1 株の培養液の酢酸エチル抽出物では (1) の生産が誘導されなかったことから、BS-1 株の AI は親水性物質と考えられる。

Violacein production by *Massilia* sp. BS-1

○Hitosi AGEMATU, Kazuya SUZUKI, Hiroaki TSUYA

(Dept. Applied Chem., Akita NCT)

Key words violacein, quorum sensing, autoinducer, massilia