

## 放線菌 *Amycolatopsis* sp. NT115 由来ホスファチジルグリセロール特異的ホスホリパーゼ C の異種組換え発現検討

(\*福大院・理工、\*\*福大・理工) ○梶山 聖人<sup>\*,</sup>, 松井 萌<sup>\*,</sup>, 杉森 大助<sup>\*,\*\*</sup>

### 1. 緒言

ホスホリパーゼ C (PLC) は、グリセロリン脂質のリン酸エステル結合を加水分解し、ジアシルグリセロール (DG) とホスホリル塩基を遊離する加水分解酵素である (Fig. 1). 放線菌や大腸菌の細胞膜には総リン脂質の約 10%以上のホスファチジルグリセロール (PG) が含まれている。したがって、それらバイオマスに PG 特異的 PLC (PG-PLC) を作用させることによりバイオディーゼル燃料 (BDF) 製造の原料となる DG を生産できる。そこで、PG-PLC の大量生産 (調製) を目指し、異種組換え発現検討を行った。

### 2. 実験

大腸菌および放線菌を用いて *Amycolatopsis* sp. NT115 株の PG-PLC 遺伝子の異種組換え発現を試みた。大腸菌発現では宿主 JM109, 発現ベクター pCold TF を用い、放線菌発現では宿主 *Streptomyces lividans*, 発現ベクター pUC 702 を用いて発現させた。さらに、精製を簡略化するため PG-PLC の C 末端に Ni キレート His6 タグを付加させた。

### 3. 結果

大腸菌発現では活性型の酵素の発現には至らなかった。放線菌発現では菌体内外に目的酵素が

生産され、菌体外に分泌生産された酵素は微弱ながら活性を示した (Fig. 2)。一方、菌体内可溶性画分を His-tag タンパク質精製用カラムクロマトグラフィーに供したところ、電気泳動的に単一バンドまで精製でき、PG-PLC が約 70 倍精製されたことを確認した。現在、精製 PG-PLC について酵素学的な諸特性解析を行っている。

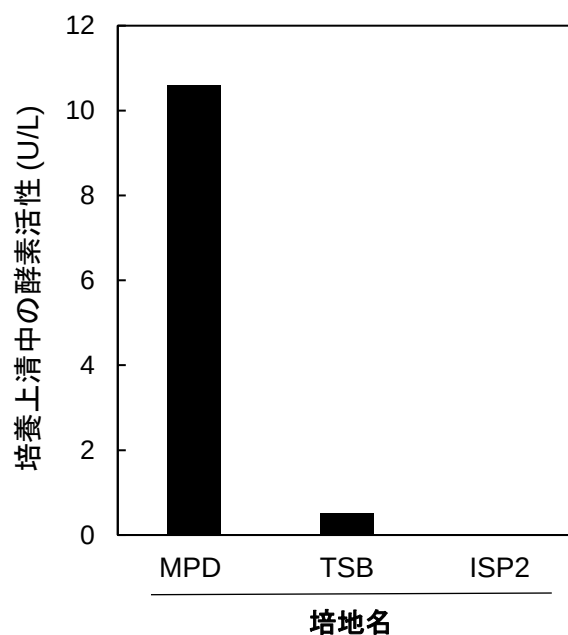


Fig. 2. Relationship between PG-PLC productivity and culture medium.

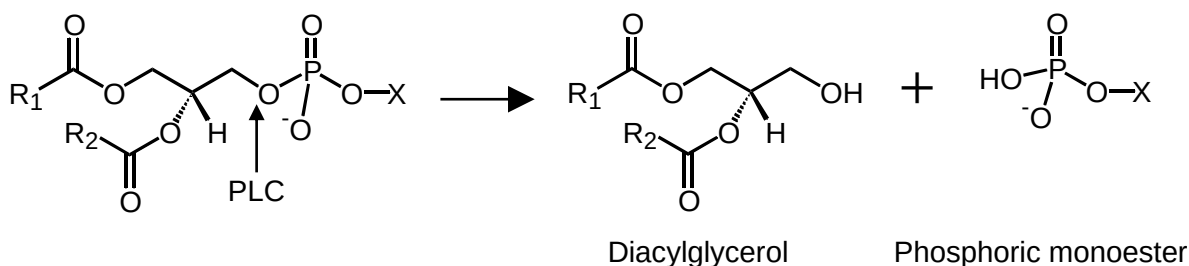


Fig. 1. Hydrolysis of phospholipid by PLC.