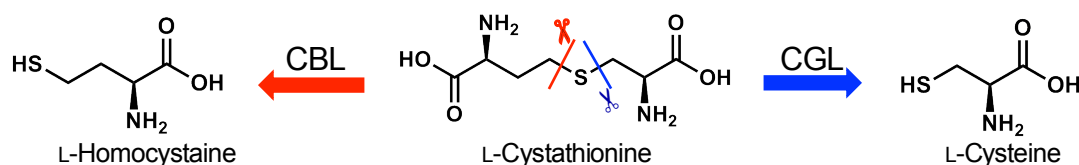


Bifidobacterium longum 105-A のシスタチオン代謝に関与する C-S リアーゼの機能解析

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 微生物生理学 黒瀧 空

1. 背景と目的

ビフィズス菌は宿主に対して整腸作用や免疫賦活化作用などの健康増進効果を示し、プロバイオティクスとして発酵乳製品などに用いられている。ビフィズス菌の有用効果を十分に活用するためにはビフィズス菌自身の栄養生理に関する理解が必要であるが、未だに不明な点が多い。特に生物に必須な含硫アミノ酸であるシステイン (Cys) /メチオニン (Met) の代謝系は研究が進んでいない。我々はビフィズス菌の含硫アミノ酸代謝系に着目し、全容を解明することを目指して研究を行っている。本研究では、含硫アミノ酸代謝系の中でも未だ同定されていないシスタチオニンの C-S 結合を切断し、Cys とホモシステインを与える C-S リアーゼの探索と機能評価を行い、その同定を試みた。



2. 方法

ヒト由来の *Bifidobacterium longum* 105-A のゲノムから、RNA-Seq により Met を単一硫黄源とした場合に誘導される、あるいは他の細菌の C-S リアーゼのアミノ酸配列との比較により、4つの C-S リアーゼ候補遺伝子 (BL105-A_0013, BL105-A_0509, BL105-A_0510, BL105-A_1451) を選抜した。それらの遺伝子を pET ベクターに導入して発現ベクターを構築した。それらが大腸菌に導入して発現誘導剤 (IPTG) を添加し、C-S リアーゼを発現させ、得られた酵素について DTNB 法を用いて活性測定を行った。さらに、タンパク質の生産状況を検証する目的で、無細胞系でのタンパク質合成を行った。

3. 結果と考察

BL105-A_1451 から生産されるタンパク質にのみ活性が認められ、シスタチオンからホモシステインへと変換するシスタチオン β-リアーゼ (CBL) 活性があると考えられた。しかし、大腸菌での活性のあるタンパク質の生産は不安定であった。この原因を探るため、C-S リアーゼ遺伝子であると強く示唆された BL105-A_0509, BL105-A_0510, BL105-A_1451 を *in vitro* での無細胞タンパク質合成に供した。その結果、SDS-PAGE において目的の位置に全ての遺伝子産物のバンドが確認され、活性測定では BL105-A_1451 にはわずかに CBL 活性が検出された。このことから、大腸菌でタンパク質生産は行われている一方で、タンパク質の高次構造形成過程に問題があると考えられた。

BL105-A_1451 産物は CBL 活性を示すことが確認された。これは、ビフィズス菌の C-S リアーゼ遺伝子を同定した初めての例である。ビフィズス菌の酵素は大腸菌などでは正しく生産されない可能性がある。今後は候補遺伝子を破壊して欠損株を作成し、含硫アミノ酸の利用性を調べるなど、ビフィズス菌の表現型の評価を行い、硫黄代謝系の全体像を明らかにする予定である。