

***Vibrio* 属細菌由来 α -キチン分解性キチナーゼの活性に及ぼす C 末端領域の影響**

鹿股悠奈、 糸井史朗、 杉田治男（日大生物資源）

[目的]一般的に *Vibrio* 属細菌は高いキチナーゼ活性を有することが知られている。我々はこれまでに α -キチン分解性キチナーゼ活性の高い *Vibrio* sp.株のキチナーゼ A 遺伝子の一次構造を決定した。当該遺伝子から演繹されたアミノ酸配列を既報の *Vibrio* 属細菌のキチナーゼ A と比較したところ、他種 *Vibrio* 属細菌のキチナーゼ A で確認されたアルギニン・リジン残基間にあるプロテアーゼ切断サイトが当該 *Vibrio* sp.株ではアルギニン・アラニン残基間と異なっており、切断サイトと思われる部位は検出されなかった。そこで本研究では、C 末端側 250 残基の有無が活性に及ぼす影響について調べることを目的とした。

[方法]決定した塩基配列をもとにプライマーを設計し、当該キチナーゼ A 遺伝子の全演繹アミノ酸配列をコードするコンストラクトおよび C 末端側 250 残基を欠く発現ベクターを構築し、大腸菌株 DH5 α を形質転換したものをコロイダルキチン含有寒天培地に接種・培養して活性の有無を調べた。

[結果および考察]キチナーゼ活性の確認を培地中のキチンの分解により形成される透明環を指標に行った結果、両コンストラクトにおいてキチナーゼ活性が確認されたが、全演繹アミノ酸配列をコードするコンストラクトでは C 末端側 250 残基を欠くコンストラクトよりも活性が高いことが示された。このことから切断サイト以降の C 末端側の配列が本酵素の活性制御に関与していることが考えられた。