

低温菌*Bacillus psychrosaccharolyticus* 由来アラニンラセマーゼの構造と機能
○横井川久己男、大久保陽子、河合弘康（奈良女大・生活環境）

目的) 低温細菌は自然界に広く分布し、低温で保存される食品の品質をしばしば低下させる。低温細菌は加熱により容易に死滅させることができるが、低温菌の菌体外加水分解酵素は耐熱性であることが多く、殺菌処理後も残存する加水分解酵素によって食品の品質は低下する。従って、食品中で低温菌を増殖させないことが必要となるが、低温菌の効果的な増殖抑制法は知られていない。本研究では、低温菌の増殖に必須な酵素であるアラニンラセマーゼの特異的不活性化によって、低温細菌の増殖抑制を行うことを目的として、*Bacillus psychrosaccharolyticus* 由来アラニンラセマーゼの構造と機能を調べた。

方法) *Bacillus psychrosaccharolyticus* 由来アラニンラセマーゼ遺伝子断片を、コンセンサスプライマーを用いたポリメラーゼチェーンリアクションにより増幅し、続いて、ジゴキシゲニンで標識したものをプローブとするプライクハイブリダイゼーション法により、本酵素遺伝子をクローニングした。遺伝子の配列はジデオキシ法により決定した。また、クローン株から電気泳動的に均一に精製した酵素標品を特性分析に用いた。

結果) クローニングされた本酵素遺伝子は、1149塩基対からなり383個のアミノ酸をコードしていた。塩基配列から推定されるアミノ酸配列は、好熱菌*Bacillus stearothermophilus* 由来の本酵素と高い相同性を示したが、予測される高次構造は有意な違いを示した。クローン株から、精製倍率約50倍で均一に精製した本酵素は、耐熱性が低く、低温で高い活性を有する低温性酵素であり、低濃度の有機溶媒や界面活性剤により容易に不活性化された。また、本低温性酵素のこれらの性質は、低温細菌の増殖抑制に適用可能であった。