

〔背景〕本研究室が室戸海洋深層水から得た細菌 *Pseudoalteromonas* sp. 520P1 株は青紫色素 violacein を産生する。violacein は、抗菌作用、抗腫瘍作用、抗トリパノソーマ作用などの生理活性を有することが報告されている。この色素の合成のためには、*vioA* ~ *vioE* までのヴィオラセイン合成酵素遺伝子群から発現した VioA ~ VioE までの 5 種の合成酵素が必要であることがわかっている。

VioA 酵素がトリプトファンを基質として反応を触媒する酵素であり、他の合成酵素よりも酵素活性の測定が容易であるという理由から、本研究では 520P1 株から得た *vioA* 遺伝子を大腸菌において大量に発現させることを目的とした。

〔方法・結果〕*vioA* 遺伝子を挿入した発現用ベクター pET28a で形質転換した大腸菌において VioA タンパク質を発現させ、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって酵素タンパク質の確認を行った。その結果、VioA タンパク質の発現は確認できたが、そのほとんどが細胞内の不溶性画分に見られた。そのため、正常な立体構造を取った活性のある酵素は生成されていないと考え、新生タンパク質が正常な立体構造を取ることを介助する分子シャペロンと VioA タンパク質の共発現を行った。まず、大腸菌をシャペロン発現用のプラスミドで形質転換し、次に *vioA* 遺伝子を挿入した発現用ベクター pET28a で形質転換した。こうして作製した組み換え大腸菌で発現の確認をしたが、分子シャペロンの発現によって VioA タンパク質の発現が抑制され、可溶性の VioA タンパク質を得ることができなかった。