

オリゴ糖合成酵素遺伝子のクローニング

酵素の高い耐熱性が特徴

技術の特徴

チコリなどの植物に含まれる多糖類イヌリンから微生物酵素を用いてオリゴ糖DFAⅢが生産される。DFAⅢはカルシウムや鉄などのミネラルの吸収を促進する機能があり、DFAⅢを含む製品がコンビニエンスストア、薬局で市販されている。。

Arthrobacter sp. L68-1は耐熱性のDFAⅢ合成酵素を生産する。本菌株のDFAⅢ合成酵素の遺伝子をクローン化した。

研究の内容

- ①酵素タンパク質のN-末端付近およびペプチダーゼ断片のアミノ酸配列を決定した。この情報にもとづきPCR反応用のプライマーを合成した。
- ②このプライマーを用いてPCR反応を行い、約0.5Kbの増幅物を得た。
- ③得られたPCR産物をプローブとして、サザンハイブリ、コロニーハイブリを行うことによりpositiveなクローンを得た。
- ④得られたクローンを解析し、酵素遺伝子の全塩基配列を決定した。

表1 DFAⅢオリゴ糖合成酵素の耐熱性

菌株	耐熱性(℃、時間)
<i>Arthrobacter</i> sp. L68-1	80℃、60 min
<i>Arthrobacter globiformis</i> C11-1	75℃、30 min
<i>Arthrobacter</i> sp. H65-7	70℃、20 min
<i>Bacillus</i> sp. snu-7	60℃、10 min

今後の展開

- ①活性のあるクローン化DFAⅢオリゴ糖合成酵素を発現する。
- ②クローン化酵素を固定化したバイオリアクターを設計する。

参 考

- ①K. Haraguchi et al., Carbohydrate Polymers, 59, 411-416 (2005)