ふりがな	ちば れいこ		研 究 室	微生物分子遺伝学研究室		
氏 名		千葉 麗子		(指導教官)	(吉川 博文)	
学 校	東	京農業大学大学院	農学研究科		バイオサイエンス専攻	
連絡先	自宅TEL:047-336-0613 携帯TEL			L:080-1070-2246		
	EY-	Eメール : gene.enz.xyl2012@gmail.com				
	大学TEL:03-5477-2758					
志望分野		発酵・バイオ分野				
学会発表紹	経験					
文献投稿経験						

## 1. 研究室全体のテーマ

「細胞は何故増えるのか」をテーマとして分裂機構、細胞周期関連因子、複製機構などの研究を行なっています。

## 2. ご自身の研究概要

テーマ:「乳酸菌の分子育種に向けたキシラナーゼの探索・評価」

く背景・目的>

近年原料を石油に依存しないバイオプラスチックが注目されていますが、バイオプラスチックの現在の主な原料は サトウキビやトウモロコシなどの食料であるため、食料との競合という問題が懸念されています。そこで当研究室は 食料と競合しない木質系バイオマスであるキシラン(キシロースの重合体)に注目しました。当研究室で扱っている 乳酸菌はキシロースからバイオプラスチックの原料となる乳酸を高効率に生産する事はできますが、キシランを分 解する酵素であるキシラナーゼを保有していないためキシランを分解する事ができません。そこで乳酸菌にキシラ ナーゼを付与する事でキシランからの直接乳酸発酵を目指しています。乳酸菌の分子育種に向けて、付与するキ シラナーゼの探索及び酵素活性の評価を行っております。

## <内容>

キシラナーゼには木質キシランを分解する $\beta$ -1,4-キシラナーゼと、緑藻キシランを分解する $\beta$ -1,3-キシラナーゼの2種類が存在するため、それぞれの探索を行いました。海藻の分解活性を有すると報告されていた海洋乳酸菌のゲノム情報よりアノテーションされた5つのキシラナーゼ遺伝子を大腸菌で発現、タンパク精製した後キシラナーゼ活性を評価しました。その結果1つの精製タンパク質から非常に高い $\beta$ -1,4-キシラナーゼ活性が見られました。 $\beta$ -1,3-キシラナーゼの探索に関しては、基質となる $\beta$ -1,3-キシランが販売されておらず入手不可能であったため、1960年代に nature に投稿された論文をもとに基質の精製を行いました。他大学より基質の評価用に分与して頂いた $\beta$ -1,3-キシラナーゼを用いて基質の評価を行ったところ、精製した基質が $\beta$ -1,3-キシランであると確認できました。その後精製基質を糖源として海洋乳酸菌を培養し、培養上清からの $\beta$ -1,3-キシラナーゼの探索を試みましたが、培養上清中に $\beta$ -1,3-キシラナーゼ活性を見出す事は出来ませんでした。酵素が失活した可能性も考えられますが、海洋乳酸菌が $\beta$ -1,3-キシラン糖源では培養不可能であった事から、元々海洋乳酸菌は $\beta$ -1,3-キシラン糖源では培養不可能であった事から、元々海洋乳酸菌は $\beta$ -1,3-キシラン糖源では培養不可能であった事から、元々海洋乳酸菌は $\beta$ -1,3-キシラナーゼを保持していなかったという結論に至りました。

## <今後の予定>

発見した  $\beta$  -1,4-キシラナーゼについては乳酸菌への導入に向けて、キシラナーゼ遺伝子の発現系、酵素の分泌系の構築に取り組む予定です。 $\beta$  -1,3-キシラナーゼについては海洋乳酸菌からの探索は諦め、既知の  $\beta$  -1,3-キシラナーゼ遺伝子を元に遺伝子合成を行う予定です。合成遺伝子のタンパク質を精製し、その  $\beta$  -1,3-キシラナーゼ活性を評価した際活性が見られれば、発見した  $\beta$  -1,4-キシラナーゼと同様の手順で乳酸菌への導入を試みる予定です。

※研究テーマの背景・目的、内容、今後の予定についてご説明ください。内容については指導教官とご相談の上、

開示できる範囲でご記入ください。尚、本レポートは採用目的以外には使用いたしません。