

【背景・目的】寒天分解組み換え大腸菌 H6 株は、pUC19 の β -ガラクトシダーゼ（以下 β -gal）遺伝子内に存在するマルチクロニングサイトへ β -アガラーゼ（以下 β -aga）遺伝子を組み換えて作成された。一般的に正常に組み換えが行なわれると、X-gal（ β -gal で分解、青色に発色）添加の寒天培地で培養した場合、寒天を分解する白いコロニーとなるが、H6 株では寒天を分解する青い特殊なコロニーとなった。そこで、本研究では H6 株の特性について調べた。

【方法】菌体の培養には LB 培地に IPTG(ラクトースプロモーターの誘導物質)を所定濃度添加した。菌体を所定濃度まで培養後、X-gal 添加の寒天培地に植菌し、増殖したコロニーから遺伝子保持率を調べた。調製された粗酵素を用いて寒天分解実験を行い、HPLC 分析により寒天オリゴ糖濃度の経時変化を測定した。フェリシアナイド試薬と ONPG 試薬を用いて β -aga、 β -gal 酵素活性の測定を行なった。タンパクの測定には BCA assay kit を用いた。

【結果】寒天分解実験を行なったところ、H6 株と既に井上が修論発表で報告した E3 株のオリゴ糖濃度の経時変化が類似しており、同じ又は類似した β -aga 遺伝子を持つと推測した。遺伝子保存率の比較から、H6 株は β -aga、 β -gal 遺伝子共に変異しやすく、特に β -aga 遺伝子の変異しやすいと思われる。IPTG 添加により β -aga、 β -gal の酵素は共に、それぞれの遺伝子保持率で割った比活性が増加したが、その活性比は無添加の場合とほぼ同じであった。この結果より β -aga、 β -gal の酵素が共に同じ lac プロモーターから生産されている可能性と、又は β -aga 独自のプロモーターがあり、lac プロモーターと同様に IPTG 添加により誘導されている可能性が示唆された。