

卒業論文要旨

Cellvibrio sp. のアガラーゼ遺伝子 *agaB* の上流に位置するアガラーゼ遺伝子のクローニング Cloning of agarase gene located upstream of the agarase gene *agaB*

1140224 川本雄基
Yuuki Kawamoto

【緒言】寒天を分解して得られる寒天オリゴ糖には様々な生理活性が報告されている。寒天オリゴ糖生産のため、本研究室では、寒天分解菌 *Cellvibrio* sp. を単離し、アガラーゼ遺伝子は大腸菌にクローニングすることに成功した。そのうちの1つである *agaB* の上流にアガラーゼ遺伝子と思われる遺伝子が存在することが分かっている。そこで、本研究ではその遺伝子のクローニングを試みた。

【実験方法】アガラーゼ遺伝子 *agaB* の上流の塩基配列を基に、制限酵素サイトを付加したプライマーを設計して PCR を行い、プラスミド pUC19 へのライゲーションを行った。組み換えプラスミドを導入した大腸菌を寒天プレートに塗り、アガラーゼ陽性コロニーの選別を行った。得られた組み換え菌を培養し、粗酵素液を調製し、agarose Type II の分解反応を行い、生成物を HPLC 及び TLC を用いて分析した。

【結果】アガラーゼ遺伝子 *agaB* の上流に位置する遺伝子のクローニングに成功し、寒天を分解したことからアガラーゼ遺伝子であることが分かった。*agaB* から得られるアガラーゼと今回クローニングして得られたアガラーゼの寒天オリゴ糖の生産性が同じであることが分かった。また、TLC を行った結果、*agaB* を持つ組み換え大腸菌を用いて得られた寒天オリゴ糖と同じ位置にスポットが観察され、同じ分解様式を持つ β -アガラーゼであることが分かった。