

Cellvibrio sp. OA-2007 由来のキシラナーゼ遺伝子の大腸菌へのクローニング 1160209 坂口直人
Cloning of a xylanase gene from *Cellvibrio* sp. OA-2007 into *Escherichia coli* Naoto Sakaguchi

【緒言】キシランをキシロオリゴ糖に分解するキシラナーゼ及びキシロオリゴ糖の様々な有用性に、近年、注目が集まっている。一方、本研究室で扱っている寒天分解菌 *Cellvibrio* sp. OA-2007 の全ゲノムを解析した結果、ゲノム中に幾つかのキシラナーゼ遺伝子を見出した。そこで、本研究では *Cellvibrio* sp. OA-2007 のキシラナーゼ遺伝子の大腸菌へのクローニングを試みた。

【実験方法】他の *Cellvibrio* 属細菌のキシラナーゼ遺伝子と相同性を示す配列を *Cellvibrio* sp. OA-2007 のゲノム中より BLAST を用い探索し、Forward primer 及び Reverse primer を設計し PCR を行った。PCR 産物とベクタープラスミド pUC19 を制限酵素で切断、ライゲーション後、大腸菌を形質転換した。組み換え菌を培養後、超音波破壊により粗酵素液を回収した。粗酵素液でキシランを分解し、分解物の HPLC、TLC による分析を行った。

【結果・考察】 *Cellvibrio japonicus* と高い相同性を示した *Cellvibrio* sp. OA-2007 のキシラナーゼ遺伝子をクローニングした大腸菌の粗酵素液は、キシランを分解しキシロオリゴ糖を生産した。また、その塩基配列を調べたところ、シグナル配列を持ち、351 アミノ酸残基から成る、推定分子量 37099 の GH11 に属する糖分解酵素だと推定された。