

【緒言】寒天オリゴ糖には抗がん作用や皮膚の美白・保湿作用など有用な特性があると報告されている。本研究室では *Cellvibrio* sp. 0A-2007 のアガラーゼ遺伝子を導入した組み換え大腸菌を用いて、寒天オリゴ糖の生産に成功している。しかし、大腸菌は菌体外に酵素を分泌しないため、超音波破壊処理が必要となる。そこで、本研究では効率的な寒天オリゴ糖生産のため、グラム陽性菌である *Brevibacillus* へのアガラーゼ遺伝子 *agaC* の導入を試みた。

【実験方法】 *Cellvibrio* sp. の  $\beta$  - アガラーゼ遺伝子 *agaC* 領域を PCR によって増幅し、大腸菌と *Brevibacillus* とのシャトルベクター pNCM02 に連結し、組み換えを行った。大腸菌への形質転換後、組み換え大腸菌から *agaC* 領域を持つプラスミド (pNCM02-*agaC*) を抽出し、*Brevibacillus* へ導入した。組み換え大腸菌および組み換え *Brevibacillus* を培養し、粗酵素を抽出しアガラーゼ活性を確認した。

【結果】寒天プレート上で穴が形成され、大腸菌及び *Brevibacillus* への *agaC* 遺伝子の導入に成功した。大腸菌では超音波破壊によって取り出した酵素を用いてアガロースを分解し、寒天オリゴ糖の生成が HPLC、TLC 及び還元糖の経時的増加により確認された。培地上清液を用いたアガロース分解実験ではどちらの組み換え菌でもアガロースはほとんど分解されなかった。*Brevibacillus* において菌体外へ酵素が分泌されなかった原因について考察を行った。