

サイクロデキストラン合成酵素生産菌の育種改良

川 端 康 之

平成 18 年度は、C17 高生産性 CITase 生産菌(598K 株)について、ゲノムシャッフリングによる育種改良を検討した。ゲノムシャッフリングとは、プロトプラスト融合法により微生物のもつゲノムのランダムな組換え反応を促進し、復帰株のライブラリーから好ましい形質をもつ菌株を選抜する手法である。

プロトプラスト融合法の条件を種々検討した結果、復帰培地に 20mM Mg^{2+} を存在させることで、効率的に復帰株が得られることが分かった。復帰株ライブラリーから CITase 高生産株の選抜を行っているが、これまでのところ、2 倍に生産性を向上させることができた。この結果を受け、平成 19 年度は、株式会社シー・アイ・バイオからの委託で、同菌株の実用化に向けた育種について検討中である。

また、大腸菌組換え型 CITase の生産性について宿主株の選択と培養条件を検討した結果、従来よりも生産性を上げることに成功した。同条件下で生産した組換え型酵素の性質を検討したところ、 Ca^{2+} 存在下で同酵素の安定性が増すとともに、触媒効率も高まることが分かった（発表論文 1）。

その他、これまで得られた知見から下記の発表を行った。

・発表論文

1. 食品・臨床栄養 2, 35-40, 2007.

「大腸菌組換え型環状イソマルトオリゴ糖合成酵素(CITase)の調製と反応特性」

川端康之、舟根和美、北尾悟

・学会発表(口頭発表)

1. 新しい環状オリゴ糖・サイクロデキストランの実用化を目指して
食品酵素化学研究会第 6 回学術講演会（近畿大学農学部、奈良）平成 18 年 9 月。
2. 枯草菌を宿主とするサイクロデキストラン合成酵素(CITase)の大量発現系作成
日本応用糖質科学会平成 18 年度大会（第 55 回）（大阪府立大学、大阪）平成 18 年 9 月。
3. *Bacillus* 属および *Paenibacillus* 属菌由来サイクロデキストラン合成酵素(CITase)における C 末端領域の機能、日本農芸化学会 2007 年度大会(東京)、平成 19 年 3 月。(共同研究)