

枯草菌によるショ糖からの DFA IV 発酵法の開発

生命分子科学講座 応用菌学分野

越本 詠美

【背景・目的】 DFA IV (di-D-fructofuranosyl-2,6':2',6-dianhydride) は難消化性のオリゴ糖で, levan (β -2,6-フラクタン) から levanfructotransferase (LFTase) により生産される. そこで, ショ糖から levan を生成する levansucrase をもつ *Bacillus subtilis* 168 に *Arthrobacter nicotinovorans* GS-9 由来の *lft* を発現させることで, 単一培養系によるショ糖からの DFA IV 生産が可能となった. さらに, *sacB* (levansucrase 遺伝子) プロモーターを用いた sucrose 誘導型 *lft* 発現ベクターに, *degQ36* 遺伝子を挿入したものを構築し *B. subtilis*/pLFT-SD36 を得た. *degQ* は *sacB* の正の調節因子 DegQ をコードする遺伝子で, これに *degQ36* 変異を導入することで DegQ の発現が上昇し, *sacB* プロモーターを持つ遺伝子の発現も上昇する. しかし, 収率があまり高くないため, 本研究ではこの菌を用いた DFA IV 生産の更なる向上と安定したジャー培養を目的とし, 条件検討を行った.

【方法・結果】 ジャー培養において添加が必須となる消泡剤 LG109 の影響について調べた. LG109 を添加して培養したところ, DFA IV 生産を阻害しなかった. 安定したジャー培養が可能となったため, 通気量および攪拌速度の検討を行った. DFA IV 生産培地 600 ml を用い, 通気量 0.5~2.0 v. v. m, 攪拌速度 300~600 rpm の条件下で 1L ジャーフェルメンターによる培養を行ったところ, 通気量, 攪拌速度が多くなるほど DFA IV 生産は向上し, 1.5 v. v. m; 500 rpm, 600 rpm で 50 g/l 以上の DFA IV が生産された. このことから酸素が重要であることが示唆された. そこで酸素ガスを通気し培養したところ, 48 時間における DFA IV 生産の向上が見られた.

