

「新規ビフィズス菌増殖促進因子のスクリーニング法の開発」

研究者名：吹谷 智
所属・役職：北海道大学大学院農学研究院・助教

番号：
T-3-5

研究分野
応用微生物学

研究キーワード
ビフィズス菌
増殖促進因子
オリゴ糖

背景・目的

道産食品素材にはビフィズス菌の新規増殖促進因子を含むもののが存在すると考えられるが、新規因子同定のためには、オリゴ糖に代表される既知因子の同定を回避する必要がある。本研究では、ビフィズス菌の遺伝子欠損株ライブラリーを構築し、新規増殖促進因子を含む道産食品素材を効率よくスクリーニングする方法を開発する。

1. ビフィズス菌遺伝子欠損株導入法の確立 (Fig. 1)

モデル遺伝子として、オリゴ糖ラフィノースの代謝に重要である α -ガラクトシダーゼの遺伝子(*aga*)を標的とし、ビフィズス菌の遺伝子欠損株の構築を行った。その結果、申請者が確立を進めてきた2段階の相同組換え法により、*aga*欠損株を取得することが出来た。2段階の相同組換え法によってビフィズス菌の遺伝子欠損株を取得した報告はなく、本研究によって独自の技術を確立することが出来た。

2. *aga*欠損株を用いたスクリーニングモデル系の評価 (Fig. 2)

*aga*欠損株を用いて、複数の糖質に対する資化性を培養試験により評価した。その結果、*aga*欠損株はグルコースを炭素源とする培地での増殖は野生株と同等であるが、オリゴ糖ラフィノースおよびその分解産物であるメリビオースに対する資化性を設計通りに失っていることが判明した。よって、本株を利用することで、既知の増殖促進因子であるラフィノースを含む食品素材をスクリーニングによって排除することが可能であると考えられる。

本研究課題にて確立した遺伝子欠損導入法は、様々なビフィズス菌遺伝子に適用することが可能である。この技術を利用して、既知のビフィズス菌増殖促進因子（主にオリゴ糖）の利用に関わる遺伝子の欠損株ライブラリーを構築することで、実際に道産素材に含まれる新規ビフィズス菌増殖因子をスクリーニングすることが可能になると予想される。

研究の成果

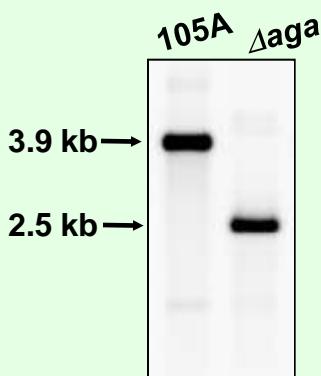


Fig. 1. α -ガラクトシダーゼ遺伝子欠損株(Δ aga)の遺伝子型解析。
Δ aga 株では aga が欠損し、1.4 kb程度短くなっていることがわかる。

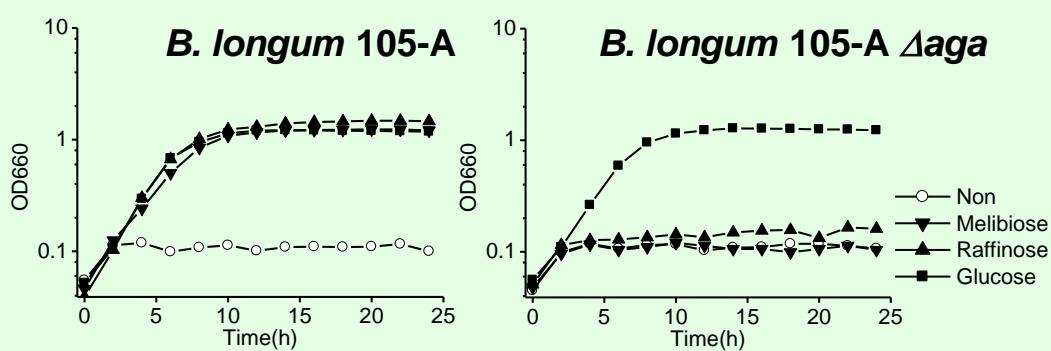


Fig. 2. ラフィノースおよびメリビオース単一炭素源培地における生育曲線。濁度(OD₆₆₀)が高くなると菌が生育していることを示す。野生株(左)では3種類の糖を炭素源とした場合、同等の生育を示したが、Δ aga 株(右)ではラフィノース(▲)およびメリビオース(▼)を単一炭素源とした場合、ほとんど生育出来なくなっていることを示している。

将来展望