

# 26PA-am008

放線菌由来バニリンデヒドロゲナーゼ遺伝子のクローニング及び大腸菌発現  
○西村 基弘<sup>1</sup>, 田邊 敦子<sup>1</sup> (<sup>1</sup>安田女大薬)

【目的】バニリンデヒドロゲナーゼ (VDH) は、バニリンを酸化しバニリン酸に変換する酵素であり、細菌における低分子リグニン代謝の重要な酵素の一つである。演者らは、森林土壌より分離した放線菌 *Streptomyces* sp. NL15-2K におけるリグニン関連芳香族化合物の代謝経路を研究する過程で、VDH による代謝経路の存在を明らかにした。本研究では、VDH 酵素の性質を解明するための前段階として、NL15-2K 株由来の VDH 遺伝子をクローニングし大腸菌での発現を試みた。

【方法】NL15-2K 株のゲノム DNA については既にドラフトシーケンスを明らかにしており、その膨大な配列情報より VDH 遺伝子の特定を行った。次いで、その遺伝子を PCR により増幅後、pET28a のプロモーター直下に配置し、大腸菌宿主 BL21 (DE3) 株に導入した。遺伝子発現の評価は、菌体より調製したライセートについて酵素活性測定と SDS-PAGE により行った。バニリン及びバニリン酸は HPLC により測定した。

【結果】VDH 遺伝子を導入した大腸菌を IPTG で誘導しバニリンとともに一夜培養したところ、培養液上清中のバニリン濃度は低下し、新たにバニリン酸が生成していることが認められた。そこで、IPTG 誘導 4 時間後の菌体を回収し、その無細胞抽出液とバニリンを NAD<sup>+</sup>存在下でインキュベーションしたところ、同様にバニリン濃度の低下とバニリン酸の生成が確認された。