

環境とバイオテクノロジー
2021 年度採択研究代表者

2022 年度
年次報告書

山田 千早

東京大学 大学院農学生命科学研究科
助教

^{13}C ラベル母乳オリゴ糖を用いた腸内細菌種間関係の解析

研究成果の概要

ヒトミルクオリゴ糖の構成成分であるラクト-N-ビオース I (LNB) の安定同位体ラベルを合成することを目的として、まずは非ラベル LNB の合成を試みた。これまでに報告されている合成経路として、グルコースとフルクトースが α 1,2 結合した2糖スクロースを開始基質として大量合成が行われている。しかしながら ^{13}C -スクロースは高価であり、用いることができないため、ガラクトースまたはグルコースを開始基質として LNB を合成する必要がある。グルコースを開始基質とした場合に、安価に合成可能であるため、まずはじめにグルコースを用いて合成を試みた。反応に必要な数種類の酵素をグルコースなどと共に混合して反応させたが、反応生成物の LNB の生成は確認できなかった。その後、反応に添加する酵素量を増加させたが、ATP 再生系の有無に関わらず合成できていなかったことから、反応の初期のガラクトース-1 リン酸と GlcNAc を組み合わせた合成には成功例があり、実際に合成できたため、ガラクトース-1 リン酸を生成する Gal1 キナーゼを用いてガラクトース開始として LNB 合成する方法に切り替えた。ガラクトース-1 キナーゼは *Bifidobacterium infantis* 由来のものをクローニングして発現・精製し、ガラクトース-1 リン酸合成の実験に用いた。その結果、ガラクトース-1 リン酸の合成に成功し、GlcNAc と GLNBP (ガラクトシル- β 1,3-N-アセチルヘキソサミンホスホリラーゼ) を添加して反応後、LNB 合成を確認することができた。また ATP 再生系を用いた条件で成功したため、安定同位体ラベル LNB 合成の際には、ガラクトースを開始基質として合成する。また、ビフィズス菌菌体からの RNA 抽出に成功したため、来年度は糞便を用いて ^{13}C グルコースを用いた実験を行う予定である。