



藍建て発酵に関するインジゴ還元酵素の機能と構造解析 並びに染色への応用

米田 一成、櫻庭 春彦¹、大島 敏久²

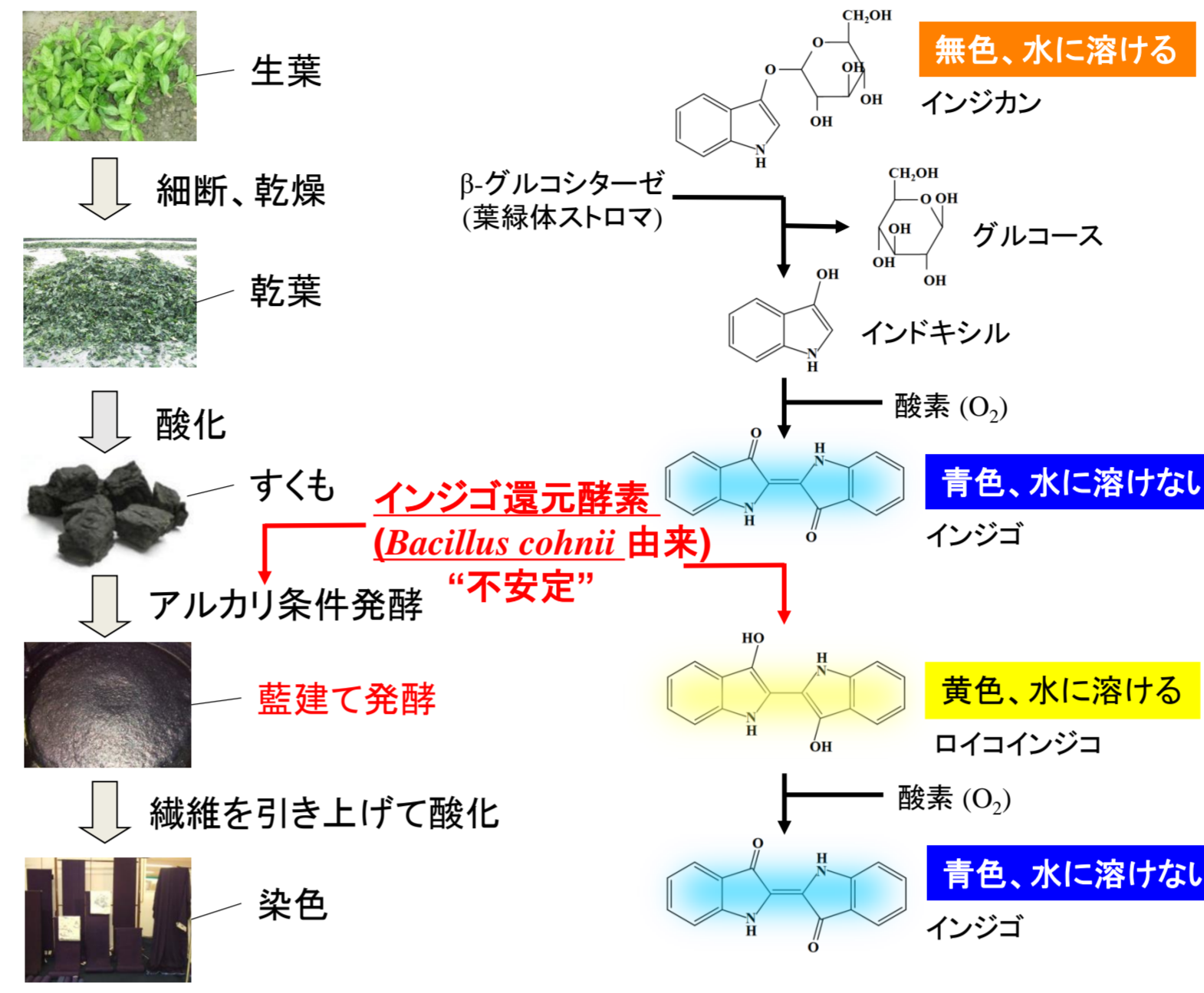
東海大・農・バイオ、¹香川大・農・応用生物科学、²大阪工大・工・生命

キーワード: 耐熱性インジゴ還元酵素、藍染め、インジゴ

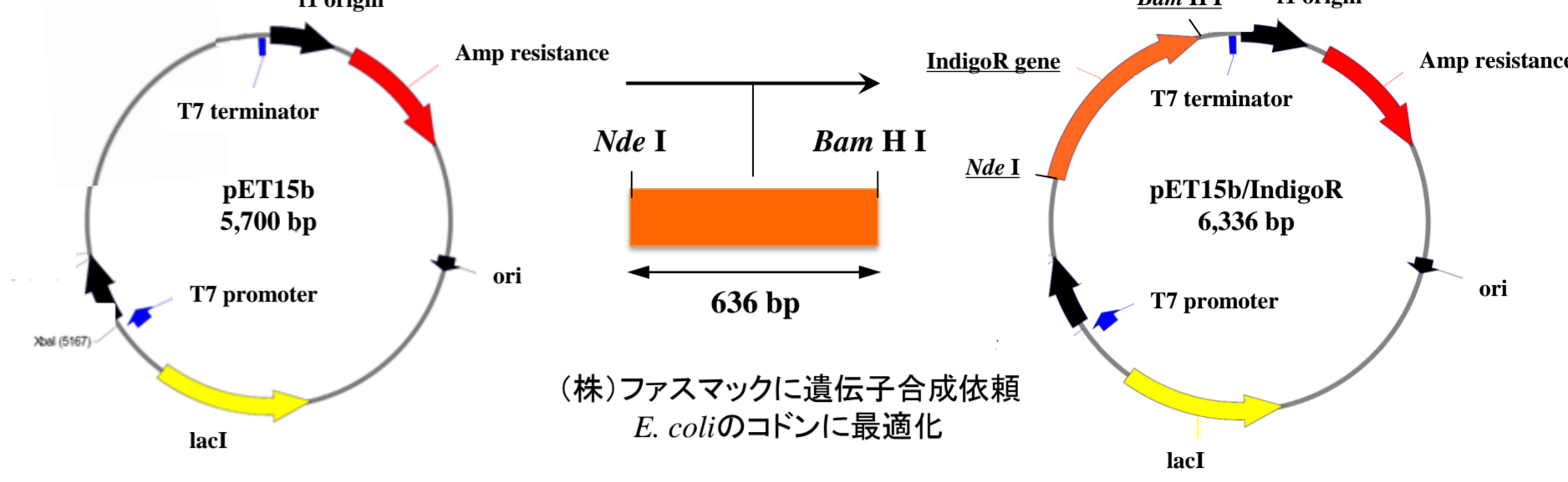
研究概要

藍染めは日本の伝統的な染色技法であり、藍の葉を堆肥状にした“すくも”を発酵還元することにより繊維を染色する方法である。すくもに含まれるインジゴは水に不溶であるためそのまま繊維を染めることはできない。そこで、藍建て発酵の工程では常温性の好アルカリ性菌由来のインジゴ還元酵素によってインジゴが還元されることにより、水溶性のロイコインジゴに変化する。この酵素反応によりすくものインジゴは水に溶け、繊維を染色することが可能となる。本研究では藍染めのインジゴ還元反応に関するインジゴ還元酵素の機能解析および、染色実験を行った。

① 藍染めとインジゴの生成過程

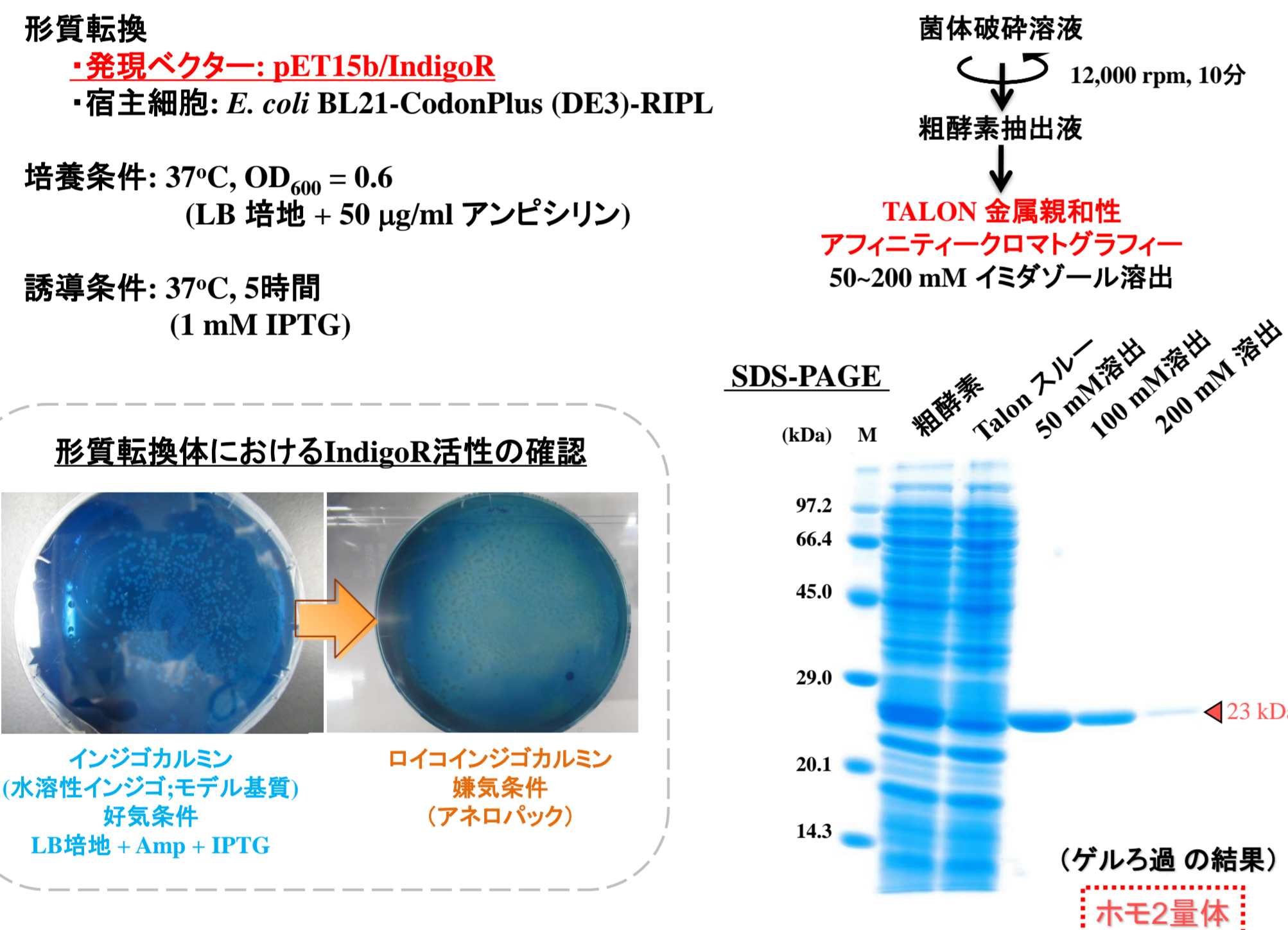


② B. smithii由来IndigoR遺伝子のクローニング

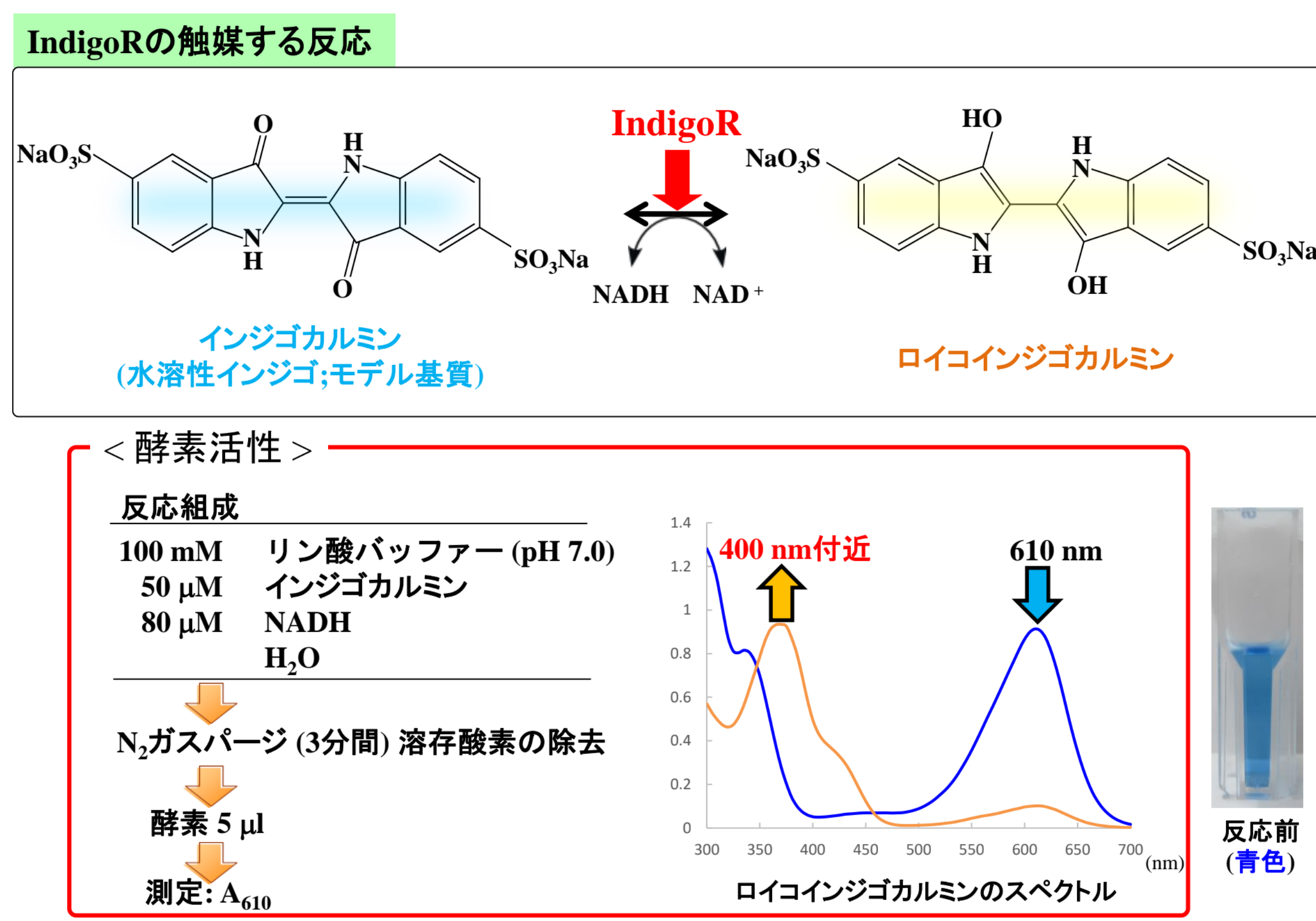


結果・考察

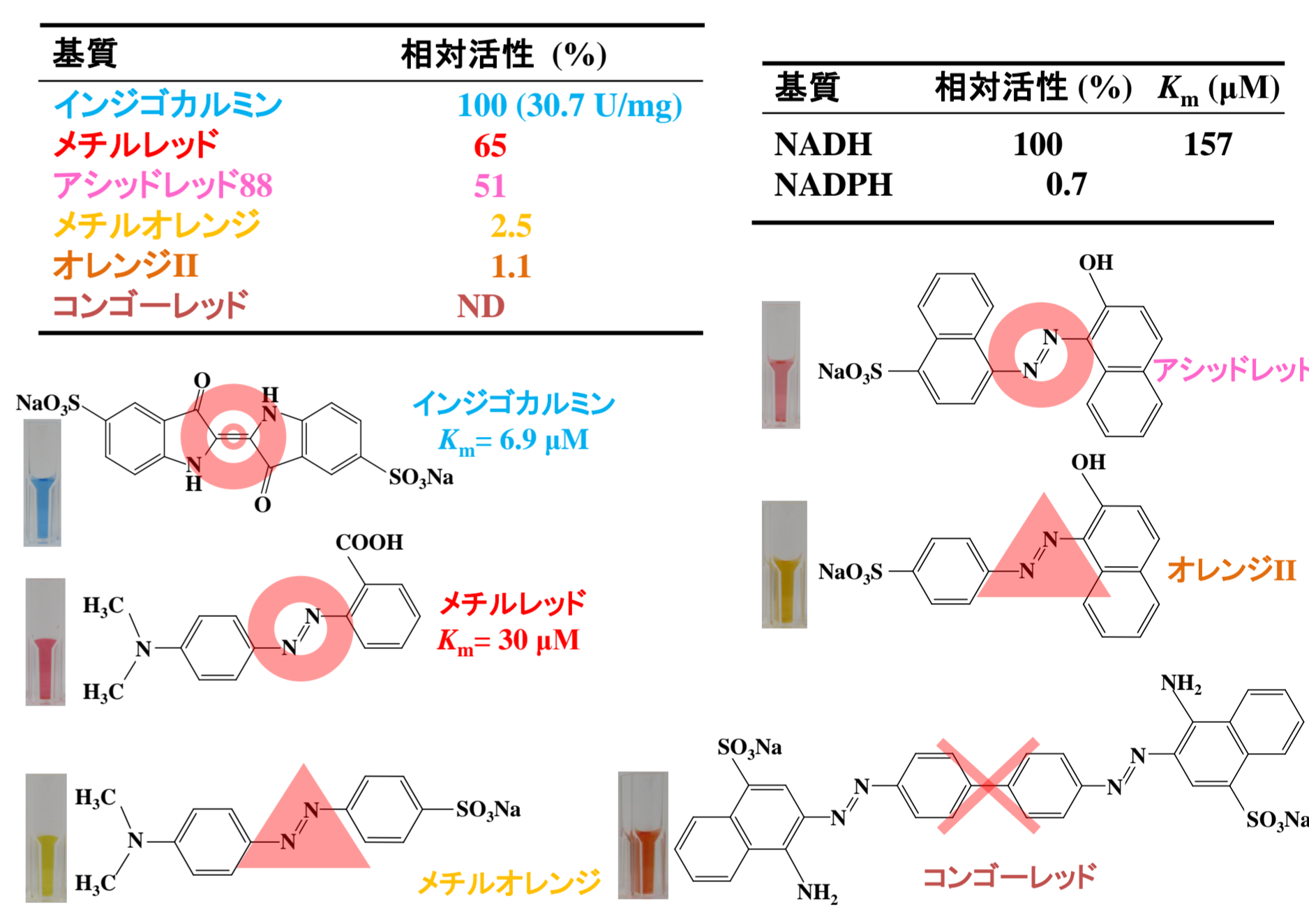
③ B. smithii由来IndigoRの発現と精製



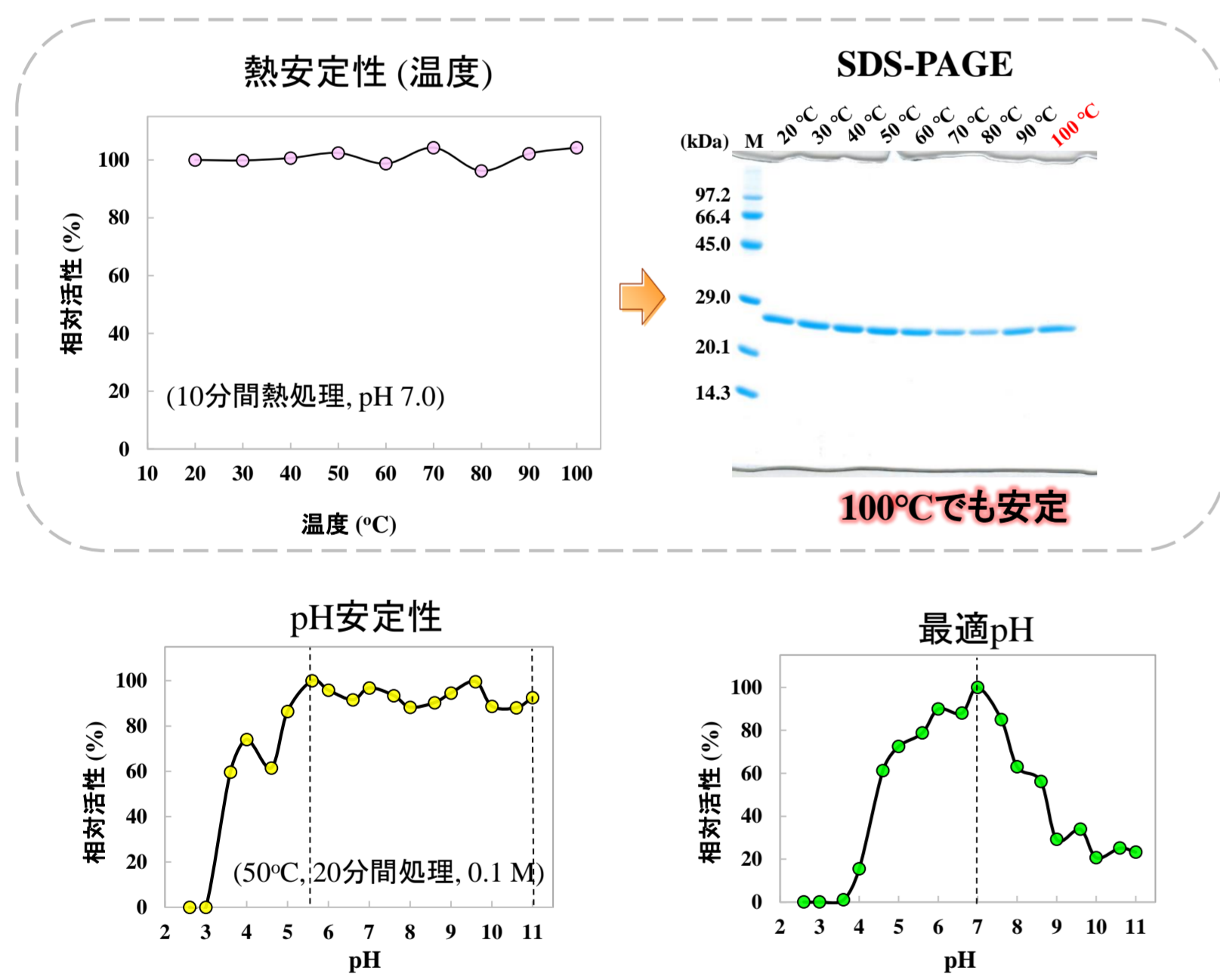
④ IndigoRの活性測定方法



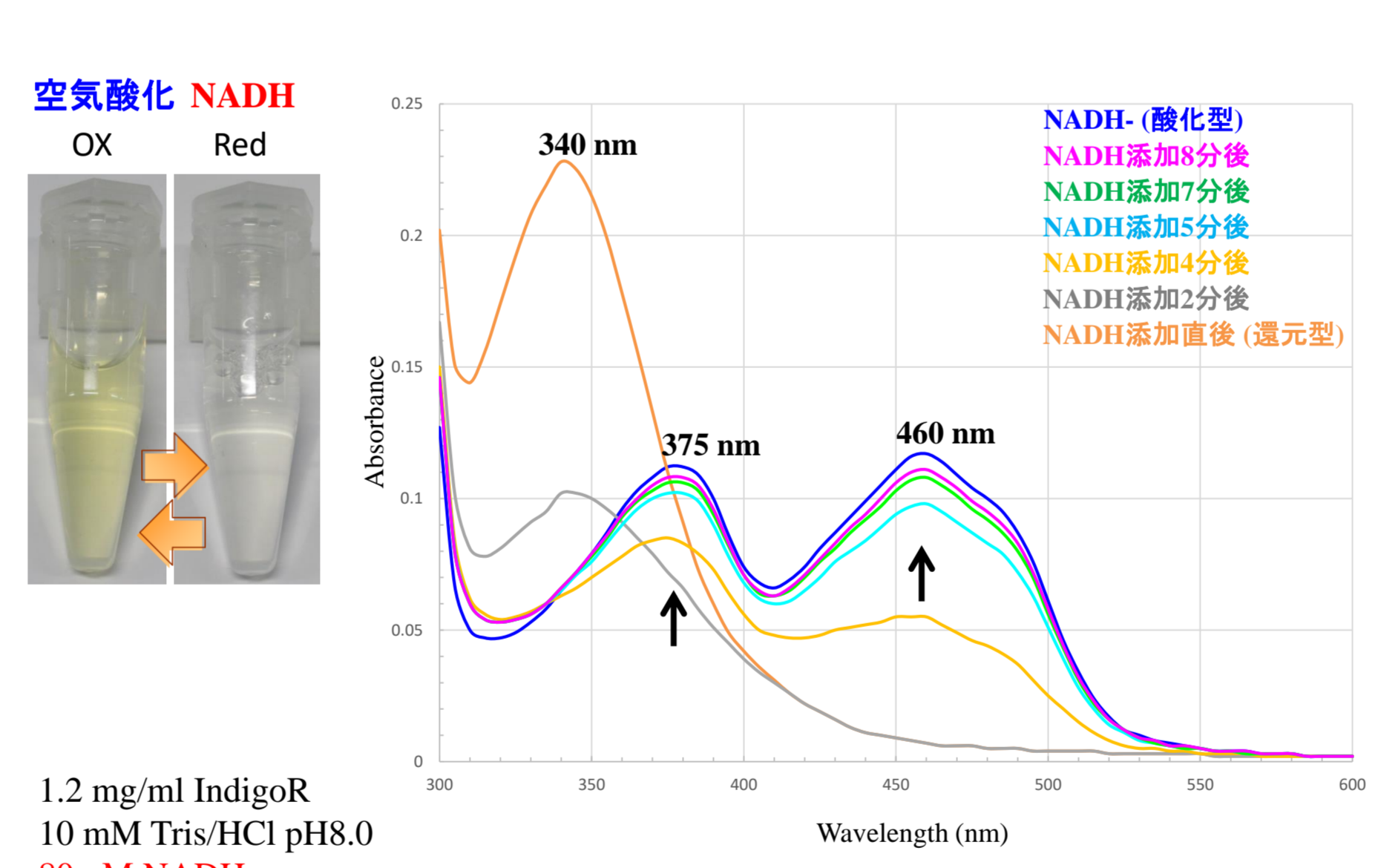
⑤ B. smithii由来IndigoRの基質特異性



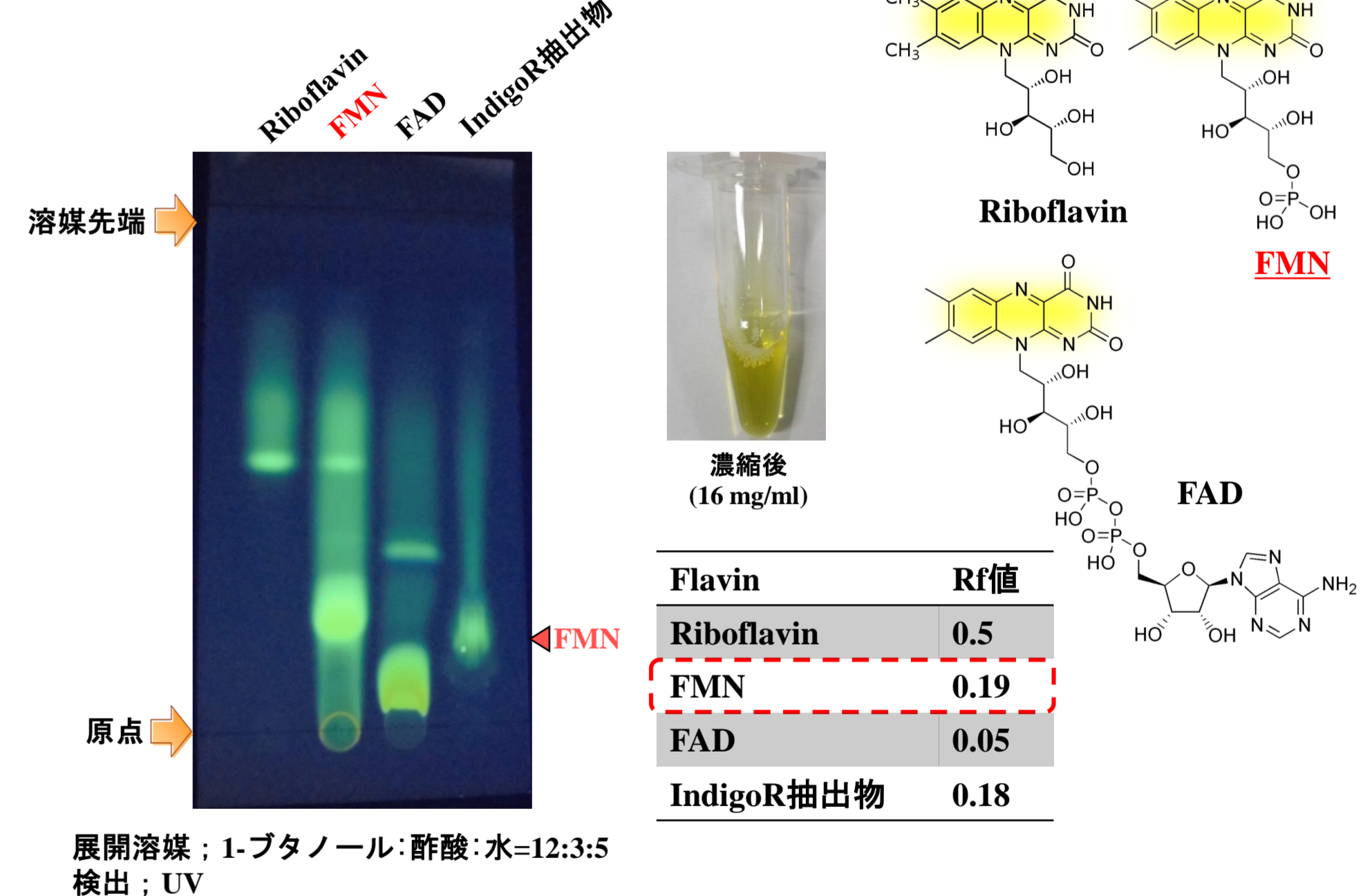
⑥ B. smithii由来IndigoRの酵素学的諸性質 (熱安定性など)



⑦ IndigoRの吸収スペクトルおよび、NADHによる還元



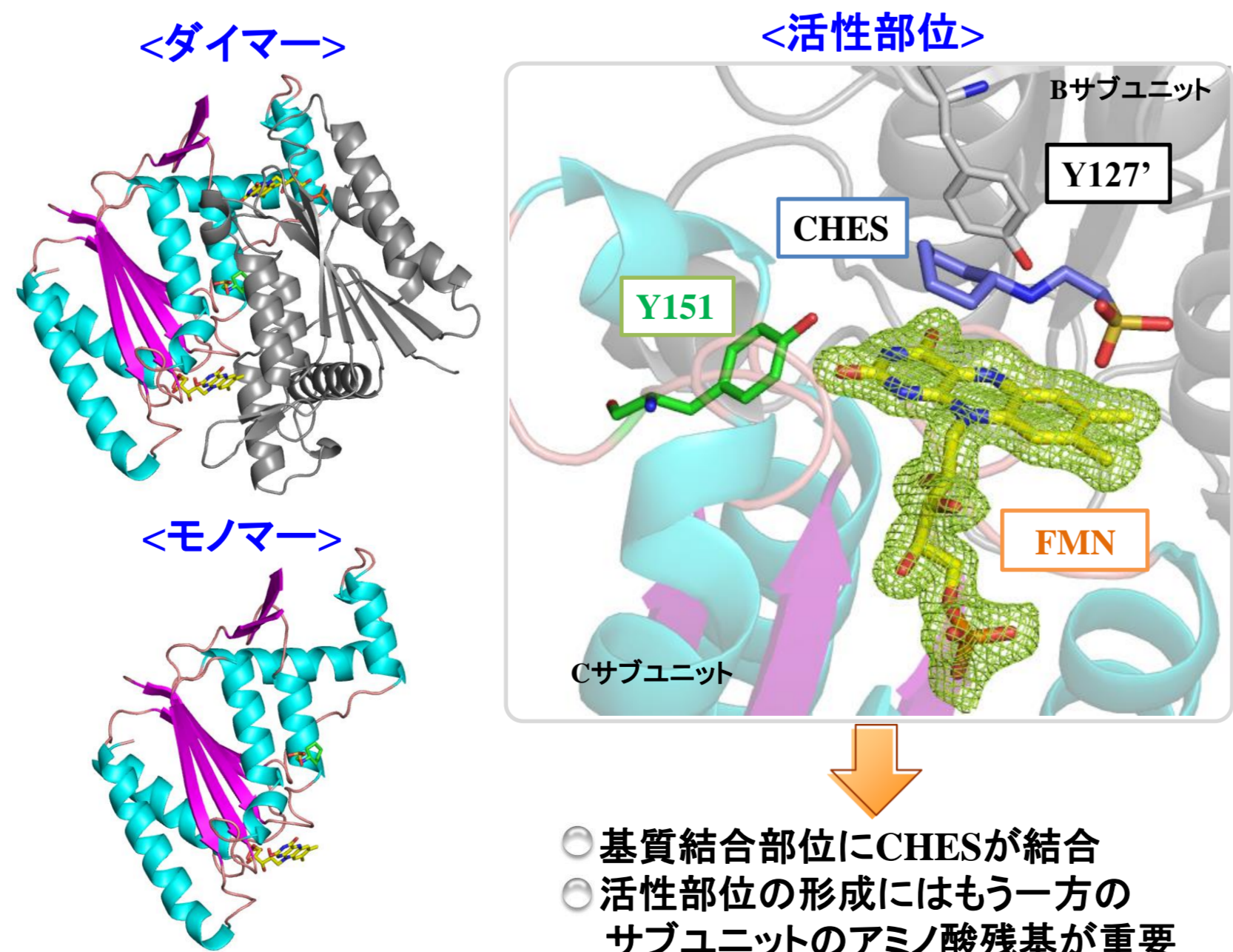
⑧ 薄層クロマトグラフィーによるIndigoRの補酵素同定



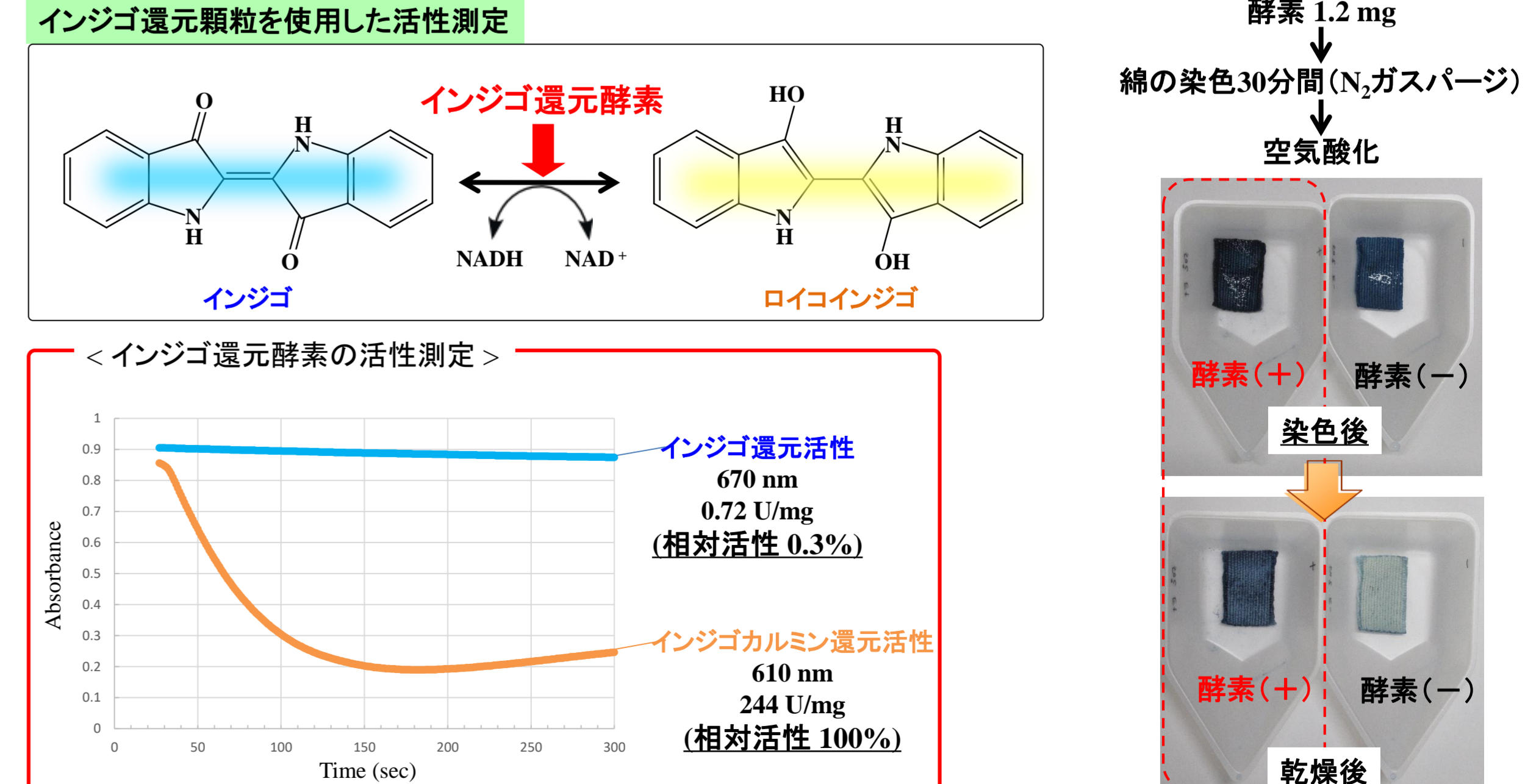
⑨ B. smithii由来IndigoRの結晶化およびデータ測定

結晶化条件 酵素濃度 補酵素濃度 沈殿剤 バッファー 温度 結晶化方法		
回折データ 空間群 溶解含量 (%) 非対称単位中の分子数 格子定数 (Å, °)		
クライオ条件 位相決定 位相決定方法		
分解能 (Å)	1.968	

⑩ B. smithii由来IndigoRの立体構造



⑪ インジゴ (本来の基質) を使用した活性測定および、綿布の染色



まとめ・今後の展望

100°Cでも失活しない高度耐熱性を有すインジゴ還元酵素の大量発現、精製を行い、インジゴカルミン以外に数種のアゾ化合物に対して還元活性を有すことを明らかにするとともに、酵素化学的諸性質を決定した。また、分解能1.96 Åで立体構造を決定し、基質認識機構の基礎となるデータの取得を行うと共に、染色実験を行った。今後は、得られたデータに基づいた酵素の染色への応用を行う予定である。