

2P-118 老化初期の男性に生じる体臭成分ジアセチルの発生機構とその制御

松井 宏, 原 武史, 志水 弘典
(マンダム 技術開発セ)
shimizu-hi@mandom.co.jp

近年、気候の温暖化や節電などの影響により、日本人の体臭に対する意識が高まり、社会的な問題になっている。特に生活者の意識が高い「男性の加齢臭」について、その発生時期を調査した結果、生活者は老化の初期段階である40歳代前半に体臭の変化を認識しており、50歳代以降に顕在化する既報告の体臭成分(2-ノネナール)以外に、未知の加齢臭成分の関与が示唆された。そこで我々は、老化初期の男性特有に発生する体臭成分の特定を試みた。その結果、老化初期男性の頭部及び枕は、若年層に比べて有意に強い「アブラ様のニオイ」を有し、その原因成分が「ジアセチル」であることを、スニッフィングGC/MSにより特定した。この成分は酒類の香りや風味を損なう「つわり香」の原因成分として知られているが、体臭においても、他の成分と混和し、不快な「アブラ臭」を発生する事が示唆された。

ヒト皮膚上でのジアセチルの発生機構を解明するため、汗中に含まれる代謝成分と皮膚常在細菌を混合培養した結果、ヒト皮膚上の主要細菌であるスタフィロコッカス属細菌が汗中の乳酸を代謝してジアセチルを産生する事が明らかとなった。ジアセチル産生能が高い *S. aureus* と乳酸によるジアセチル産生系を用い、ジアセチルの発生を抑制するデオドラント素材の探索を行った結果、フラボノイドを含有する数種の植物抽出液が、皮膚常在菌によるジアセチル産生を効果的に抑制することを見出した。

The generation mechanism and control of the body odor compound 'diacetyl' which occurs from the early stages of male aging.

Hiroshi Matsui, Takeshi Hara, Hironori Shimizu
(mandom corp. Technical Development Ctr.)

Key words diacetyl, body odor, flavonoid, *Staphylococcus*

2P-120 *Vibrio haliotocoli*の代謝改変: *Zymomonas mobilis*由来のピルビン酸脱炭酸酵素およびアルコール脱水素酵素 II の発現

猪原 悠太郎, 中川 聡, 澤辺 智雄
(北大院・水産)
north-water@ec.hokudai.ac.jp

バイオエタノールはカーボンニュートラルという特徴からクリーンなエネルギーとして注目されてきたが、その原料となる陸上バイオマスは「食糧との競合」や「耕地面積の制限」といった問題を抱えている。近年、これらの問題が生じにくい海藻バイオマスからのバイオエタノール生産技術が進展している。また、海藻からの効率的なバイオエタノール生産の実現のためには、主要構成成分の一つであるアルギン酸を原料としたエタノール生産の効率化が必要である。本研究では、より多くの還元力やエネルギーをエタノール生産に向かわせる代謝改変株を海洋細菌で構築するために、アルギン酸資化性の海洋細菌である *V. haliotocoli* に *Z. mobilis* 由来のピルビン酸脱炭酸酵素遺伝子 (*pdh*) およびアルコール脱水素酵素 II 遺伝子 (*adhII*) を組込む代謝改変を試みた。*pdh* および *adhII* は *Z. mobilis* の染色体 DNA を鋳型に PCR 反応によって増幅し、pVSV208 ベクターにそれぞれライゲーションした。得られた組換えプラスミドはエレクトロポレーションにより *E. coli* DH5 α *pir* 株にそれぞれ導入し、接合伝播によって *V. haliotocoli* を形質転換した。本研究で作製した遺伝子組換えビブリオの Pdc および AdhII の酵素活性を、1U は 1 分間に基質 1 mM を変化させる酵素量と定義して測定したところ、Pdc は 1.065 U/mg、AdhII は 0.017 U/mg となり、この値は野生株と比べてそれぞれ 150 倍および、2 倍であった。現在は Pdc および AdhII の両方を導入した (Pet オペロン) 組換え株の作製を試みている。

Metabolic engineering of *Vibrio haliotocoli*: Expression of pyruvate decarboxylase and alcohol dehydrogenase II derived from *Zymomonas mobilis*

Yutaro Inohara, Satoshi Nakagawa, Tomoo Sawabe
(Grad. Sch. Fish. Sci., Hokkaido Univ.)

Key words metabolic engineering, ethanol fermentation, *Vibrio*

2P-119 海藻糖質の代謝過程における *Vibrio haliotocoli* の遺伝子発現解析

久我 康太¹, 中川 聡¹, 丸山 史人², 小椋 義俊³, 林 哲也³, 黒川 顕⁴, 澤辺 桃子⁵, 澤辺 智雄¹
(¹北大院・水産, ²東京医科歯科大院・歯学総合, ³宮崎大・フロンティア, ⁴東工大院・生命理工, ⁵函館短期大学)
yukanboshi12@ec.hokudai.ac.jp

海藻はマンニトールとアルギン酸を多く含むバイオエタノール資源として注目されている。しかし、これらの糖質の分解と発酵を同一の細胞内で行い、かつ海水存在下で最適化された菌株の開発は未開拓である。海洋細菌 *V. haliotocoli* はマンニトール及びアルギン酸資化能を有するが、その代謝や制御に関する知見は乏しい。そこで本研究では、マンニトール及びアルギン酸代謝における遺伝子発現を網羅的に評価することで、*V. haliotocoli* が行う海藻糖質代謝の全貌を解明することを目的とした。

海藻糖質またはグルコース (Glc) 添加複合培地で培養した菌株から total RNA を抽出精製し、これを鋳型として、ゲノム情報から構成した海藻糖質代謝に関わる 63 遺伝子の対 Glc 相対発現量を RT-qPCR で解析した。その結果、マンニトール代謝ではマンニトール特異的 PTS・マンニトール 1 リン酸脱水素酵素 *mtlD* 及びアルコール脱水素酵素 *adhE* で、アルギン酸代謝では DEH 還元酵素 *sdr* 及びトランスヒドロゲナーゼ *sth* が、それぞれ 1.7 倍以上の上方発現を示した。このことから、本菌は海藻糖質の代謝で生じた還元力を、マンニトール代謝ではエタノール生成に、アルギン酸代謝では DEH の還元主に利用していると考えられた。

Gene expression analysis in *Vibrio haliotocoli* during seaweed carbohydrates metabolism

Kota Kuga¹, Satoshi Nakagawa¹, Fumito Maruyama², Yoshitoshi Ogura³, Tetsuya Hayashi³, Ken Kurokawa⁴, Toko Sawabe⁵, Tomoo Sawabe¹
(¹Grad. Sch. Fish. Sci., Hokkaido Univ., ²Grad. Sch. Med. Dental Sci., Tokyo Med. Dental Univ., ³Front. Sci. Res. Ctr., Univ. Miyazaki, ⁴Grad. Sch. Biosci. Biotechnol., Tokyo Tech, ⁵Hakodate Junior Coll.)

Key words seaweed carbohydrates metabolism, gene expression analysis, *Vibrio haliotocoli*, ethanol fermentation

2P-121 窒素関連レスポンスレギュレーターを用いたラン藻の糖代謝改変

小山内 崇^{1,2}, 及川 彰², 沼田 圭司², 桑原 亜由子², 飯嶋 寛子², 斉藤 和季², 平井 優美²
(¹JST・さきがけ, ²RIKEN・環境資源)
tosanai@psc.riken.jp

ラン藻は、酸素発生型光合成生物であり、光と二酸化炭素を利用できることから、生物工学的な応用が期待されている。我々はこれまでに、非窒素固定型ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 の RNA ポリメラーゼシグマ因子 SigE の過剰発現により、糖異化経路が包括的に促進することを明らかにしてきた。

今回、窒素応答性レスポンスレギュレーターである Rre37 の過剰発現により、SigE と異なった形で糖異化遺伝子群の発現を増加させることが明らかになった。Rre37 過剰発現株では、グリコーゲンホスホリラーゼ *glgP* やホスホフルクトキナーゼ *pfkA*、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ *gap1* など、グリコーゲン異化・解糖系関連遺伝子の発現が増加することが明らかになった。*Synechocystis* は、2つの *glgP* を有するが、片方の *glgP* (*slr1367*) のみの発現が顕著に増加し、Rre37 過剰発現によって、タンパク質量も増加することがわかった。また、ゲルシフト解析より、GST-Rre37 タンパク質が、*glgP* (*slr1367*) 遺伝子のプロモーター領域に結合することが明らかとなった。また、キャピラリー電気泳動マスマスペクトロメトリーを用いたメタボローム解析より、特に窒素欠乏時に、糖代謝関連の代謝産物量が減少することがわかった。

これらの結果より、Rre37 は、窒素栄養条件に応じて糖代謝を包括的に制御し、栄養欠乏に適應するための代謝変化に重要な役割を担っていることが示唆された。

Metabolic Engineering of Cyanobacteria with a Response Regulator Rre37.

Takashi Osanai^{1,2}, Akira Oikawa², Keiji Numata², Ayuko Kuwahara², Hiroko Iijima², Kazuki Saito², Masami Hirai²
(¹PRESTO, JST, ²CSRS, RIKEN)

Key words cyanobacteria, metabolic engineering, transcription