

956

石油脱硫微生物 *Pseudomonas putida* No.69株の
高濃度培養とDBT分解

(名大院・工・生物機能) ○本多裕之、杉山浩康、松下 響、
小林猛、(工技院生命研) 倉根隆一郎

【目的】原油中の硫黄濃度は増加する傾向にある一方で、軽油に含まれる硫黄の含有量は規制される方向に向かっている。このため我々は脱硫微生物の高濃度培養と休止菌体反応による2段階のバイオ脱硫を提案しており、*Rhodococcus rhodochrous* IGTS 8 を用いた研究を報告した。今回は別の脱硫微生物である *Pseudomonas putida* No.69 を用い、ジャーファーマンターでの高濃度培養と、モデル含硫有機化合物であるジベンゾチオフェン (DBT) の分解を行ったので報告する。

【方法および結果】脱硫微生物として *P. putida* No.69 を使用した。容量1Lのジャーファーマンターを用いて酢酸と酢酸アンモニウムの混合物を流加するpHスタットによる培養を行った。酢酸、アンモニア濃度はともに培養期間を通して阻害レベル以下の2 g/l以下に抑えることができ、13時間後最終乾燥重量で31.4 g-dry weight/Lに達した。これは *R. rhodochrous* IGTS 8 株の約2倍の増殖速度であった。また得られた菌体はDBT分解活性を持ち、20時間で0.2mMのDBTが分解できた。

High density culture of *Pseudomonas* sp. No.69 for biodesulfurization

○Hiroyuki Honda、Hibiki Matsushita、Hiroyasu Sugiyama、Takeshi Kobayashi、
*Ryuichiro Kurane (Dept. of Biotechnology, Graduate School of Engineering,
Nagoya Univ. *NIBH)

【Key Words】high density culture、desulfurization、pH stat

957

麹菌由来グルコアミラーゼ生産酵母の構築とその培養特性

(阪大院・工・応生) ○梶原芳典、川崎泰嗣、内山圭司、塩谷捨明

【目的】デンプンを基質とした直接発酵では、デンプンを分解する酵素を生産させ、酵素によって分解した糖から目的生産物を生産させる。以前、当研究室において、培養温度によって発現調節が可能なイネ α -アミラーゼ生産酵母を構築し、その培養特性についての研究を行った。しかし、デンプンの直接発酵を行うためには α -アミラーゼだけでなく、酵母が直接資化しやすいグルコースを生成するグルコアミラーゼも生産させ、デンプンに、 α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ両酵素を作用させることがより効率的であると考えられる。そこで、本研究では、デンプンを基質とした直接発酵の最適化を目的として、培養温度によって発現調節が可能な麹菌由来グルコアミラーゼ生産酵母を構築し、培養温度、基質濃度に対する比増殖速度、比生産速度の関係など、培養特性についての研究を行った。

【方法及び結果】宿主には *Saccharomyces cerevisiae* の無機リン酸トランスポーターをコードする *PHO84* 遺伝子の発現が、温度により調節可能となった *PHO80* 遺伝子の温度感受性変異株を用いた。この株に *PHO84* 遺伝子のプロモーターと、麹菌グルコアミラーゼ遺伝子の構造部との融合遺伝子を持つグルコアミラーゼ発現用ベクターを導入することにより、高リン酸濃度下で培養温度によってグルコアミラーゼの発現調節が可能なグルコアミラーゼ分泌生産株(YKU131)を構築した。以前の研究から、イネ α -アミラーゼ生産酵母は、比増殖速度は培養温度 32°Cで、アミラーゼ比生産速度は 34°Cで最も高くなる傾向を示すことがわかっている。そこで、YKU131 株の培養温度 32°C、34°Cにおける培養特性について検討を行い、デンプンを基質とした直接発酵最適化の指針とした。

Production of glucoamylase from *Aspergillus oryzae* by a recombinant *Saccharomyces cerevisiae*.

○Yoshinori Kajihara, Yasutsugu Kawasaki, Keiji Uchiyama, Suteaki Shioya
(Dept. of Biotechnol. Graduate School of Eng., Osaka Univ.)

【Key Words】glucoamylase, starch, *Saccharomyces cerevisiae*, one-step fermentation, recombinant yeast