

2110-4 酢酸菌の走行制御によるハニカム型セルロース 3次元構造体の構築

○笠井 稚子, 近藤 哲男, 森田 光博
(九大院・生資環)

緒言 最近演者らは、フォトソングラフィー法よりも簡便な自己組織化を用いる方法で、ハニカム細孔を有するセルロースフィルムを創製した。このフィルムは、セルロース分子鎖はハニカム骨格に沿って配向しているが、非結晶性であるという特異的な性質を有しており、これは我々が提案したネマトリックオーダーセルロース (NOC) と同様のものではあった。最近、このNOCをテンプレートにして、酢酸菌を培養すると、表面のセルロース分子鎖の配向方向に沿って、菌がバクテリアセルロースナノ繊維を菌体外に分泌、堆積させながら走行するという現象が見出された。これは、酢酸菌の走行がテンプレートにより制御されることで、3次元構造体が構築されることを示していた。このことは、さらにハニカム型セルロースフィルムを足場に用いた場合、ハニカム型3次元構造体の構築の可能性を示唆している。本発表では、この酢酸菌によるハニカム型3次元構造体の構築を試み、得られた結果を報告する。

結果 タイムラプス光学顕微鏡によりフィルム上での酢酸菌の運動挙動の観察を行ったところ、菌はハニカム骨格上のみセルロースナノ繊維を堆積していることが明らかとなった。また、培養前後におけるハニカムの骨格の高さや幅の変化をAFMでモニターしたところ、幅はほとんど変化しなかったが、高さに著しい増加が見られ、現段階では、およそ100nm (酢酸菌のナノ繊維10層分) まで高くすることができ、ハニカム型3次元構造体の構築に成功した。

Autofabrication of 3D structure on honeycomb-patterned cellulose film as a scaffold by *Acetobacter xylinum*

○Wakako KASAI, Tetsuo KONDO, Mitsuhiro MORITA
(Grad. Sch. Biores. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ.)

Key words cellulose, *Acetobacter xylinum*

2110-5 酢酸菌分泌繊維を用いるボトムアップ型自動3次元構造体構築

○富田 陽子, 近藤 哲男, 森田 光博
(九大院・生資環)

酢酸菌は、バクテリアセルロース(BC)と呼ばれる高結晶性ナノ繊維を菌体外に分泌すると同時に、その反作用として分泌と逆方向に走行する。通常培養により、この繊維のネットワーク構造を有する薄膜が得られる。演者らは、分泌繊維とテンプレート表面分子との強固な相互作用を利用して、酢酸菌の繊維の堆積方向と菌体の走行方向を同時に制御する方法を提案した。このテンプレートは、セルロース分子が一軸方向に配向しているが、非結晶性を示すネマトリックオーダーセルロースと呼ばれるものであり、さらに最近、ハニカム細孔を有するセルロースフィルムを足場にしたハニカム骨格3次元構造体構築を提案している。これは、ナノテクノロジーで注目されているナノパターンングが酢酸菌を用いて可能になることをも示している。以上のパターンは、直線かハニカムかに限定されるため、今回は任意のパターン足場の作製を目指した。まず、親水性のBC表面に疎水性を付与し、それを原子間力顕微鏡の探針で任意のナノサイズのパターンに削ることにより、親水性のレールを疎水表面に有するセルローステンプレートを作製した。この上で酢酸菌を培養すると、親水性レール付近に菌は集まり、分泌繊維をレールの沿って堆積させる。このようにして、疎水性表面にバクテリアセルロースのナノパターンが構築される。さらに培養を続けると、そのナノパターンを足場として酢酸菌が選択的に吸着し、高さ方向に選択的かつ自動的に菌が分泌繊維を堆積することになる。この方法は、生物ナノソングラフィーとみなすことができる。

Auto nano-fabrication of 3D structure using *Acetobacter xylinum*

○Yoko TOMITA, Tetsuo KONDO, Mitsuhiro MORITA
(Grad. Sch. Biores. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ.)

Key words *Acetobacter xylinum*, bacterial cellulose

2111-1 デンプン資化性新奇乳酸菌によるサゴデンプンからの直接L-乳酸生産

○柴田 圭右¹, Dulce M. Flores², 小林 元太¹, 園元 謙二¹
(¹九大院・農, ²ミンダナオ大学)

【目的】 近年、L-乳酸は生分解性プラスチックの一種であるポリ乳酸の原料として注目され、効率的な生産法が研究されている。代表的な熱帯産バイオマスであるサゴデンプンは非常に安価で豊富に存在し、工業用発酵原料としての利用が期待される。これまでに当研究室ではサゴデンプン酵素糖化物を原料に高効率L-乳酸発酵を行ってきたが、効率的な発酵生産法の構築には酵素糖化行程の簡素化が望まれる。そこで、本研究ではデンプン資化能を有する新奇乳酸菌を用いたサゴデンプンからの直接L-乳酸発酵生産を行った。

【方法・結果】 使用菌株にはフィリピンの発酵食品より、デンプン資化性乳酸菌として分離され、糖類発酵性試験と16S rDNA解析により、*Enterococcus faecium* と同定されたNo.78株、培地にはサゴデンプンもしくは可溶性デンプン含有MRS培地を使用した。30℃、pH 6.5、かくはん速度200rpmで回分培養を行った。デンプン濃度はヨウ素デンプン反応による比色法、糖濃度・乳酸濃度はHPLCにて測定した。その結果、最大生産乳酸濃度と対糖乳酸収率は、サゴデンプンから18.9 g/L、99.4%、可溶性デンプンから13.7 g/L、85.9%であった。また、サゴデンプンからの乳酸生産性は1.17 g/L/hとグルコースからの場合とほぼ同等であったが、可溶性デンプンからの場合と比較すると2.5倍であった。

Direct L-lactic acid production from sago starch by a novel amylolytic lactic acid bacterium

○Keisuke SHIBATA¹, Flores Dulce M.², Genta KOBAYASHI¹, Kenji SONOMOTO¹
(¹Fac. Agric., Kyushu Univ., ²Univ. Phil. Mindanao)

Key words Lactic acid fermentation, amylolytic lactic acid bacterium, sago starch

2111-2 高密度菌体を用いたアセトン・ブタノール発酵の高効率化

○田代 幸寛, 武田 勝久, 小林 元太, 園元 謙二, 吉野 貞蔵
(九大院・農)

【目的】 アセトン・ブタノール(ABE)発酵による未利用バイオマスの利用は近年の環境問題によって注目を浴びているが、実用化に向けた問題点として菌体濃度および ABE 生産性が低いことがあげられる。そこで本研究では、高ABE生産性システムの構築を目的とし、高密度菌体による連続発酵を行った。

【方法・結果】 使用菌株は*Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4(ATCC 13564)、培地にはグルコースを炭素源とした Tryptone-Yeast extract-Acetate培地を用いた。通常の連続培養では、希釈率0.20 h⁻¹の場合、ABE生産性は1.82 g/L/hであった。次に培養液を10倍濃縮し、さらに中空糸膜を用いて菌体を回収しながら連続発酵を行った結果、希釈率0.85 h⁻¹の場合にABE生産性は11.0 g/L/hとなり、通常の連続発酵に比べて約6倍に増加した。しかし、100 g/L以上の高密度菌体では発泡が激しく、培養液量の制御が困難となり、連続発酵が不可能となった。そこで、菌体濃度を一定に制御するために、一定流速で培養液を引き抜いて (Bleeding) 連続発酵を行った。Bleeding希釈率0.09 h⁻¹の場合には菌体濃度を30-40 g/Lに維持し、培養液量の制御が可能となり、その時のABE生産性は9.77 g/L/hであった。現在、ABE生産性、菌体濃度におよぼすBleedingの希釈率の影響および最適化を検討中である。

Improvement of continuous acetone-butanol-ethanol (ABE) fermentation with high cell density

○Yukihiro TASHIRO, Katsuhisa TAKEDA, Genta KOBAYASHI, Kenji SONOMOTO, Sadazo YOSHINO
(Fac. Agric., Kyushu Univ.)

Key words *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4, high cell density, ABE productivity, bleeding