

21p09 抗菌活性測定法の高感度化とそれを用いた植物由来抗菌タンパク質の検索

○小磯 裕介¹, 廣瀬 智一¹, 部 泰幸², 太養寺 真弓^{1,3},
田中 孝明³, 谷口 正之³
(¹新潟大・自然研, ²新潟大・VBL, ³新潟大・自然系)

【目的】従来の抗菌活性測定法の中で最も多用されている方法は、濁度に基づく方法であるが、感度が低い、サンプルを多く必要とするなどの短所がある。そこで本研究では、濁度法に代わる高感度な測定法の確立を目的とした。また、確立した方法を用いて植物由来の抗菌タンパク質を検索した。

【実験方法】モデル微生物として、歯周病菌である *Porphyromonas gingivalis* JCM 8525^T を用いた。抗菌活性は96ウェルマイクロタイタープレートを用いて行った。各ウェルに変法GAM培地とサンプルを添加した後、初期細胞濃度を変えて被験菌を添加した。その後、一定時間毎に、濁度を測定した後にATPに基づく化学発光法と蛍光プローブを用いた蛍光法によって細胞数を評価した。

【結果】濁度法に比べて化学発光法と蛍光法は感度が高いことがわかった。また、それぞれの測定法で精確に測定できる初期細胞濃度の範囲を決定した。化学発光法は、蛍光法に比べて感度は低いが、初期細胞濃度を広くしても抗菌活性を測定できることがわかった。また、米由来のタンパク質中に歯周病菌に対して抗菌活性を有する成分が存在することがわかった。

Development of high sensitive antimicrobial assay method and its application to screening of antimicrobial proteins from plants.

○Yusuke KOISO¹, Tomokazu HIROSE¹, Yasuyuki SHITOMI²,
Mayumi TAIYOJI^{1,3}, Takaaki TANAKA³, Masayuki TANIGUCHI³
(¹GS of Natural Sci. Technol., Niigata Univ., ²VBL, Niigata Univ., ³Fac. of Natural Sci. Technol., Niigata Univ.)

Key words antimicrobial protein, assay method, plant, rice protein

21p11 *Aspergillus niger* および *Aspergillus oryzae* 由来 α -グルコシダーゼの α -エチルグルコシド生産性について

○内野 昌孝¹, 阿部 有希子¹, 中西 載慶², 高野 克己¹
(¹東農大・応生・化学, ²東農大・応生科・醸造)

【目的】機能性甘味料として利用が期待されるエチル- α -グルコシド (以下EG) は、エタノール中における、 α -グルコシダーゼによるマルトース分解時の転移反応、およびグルコースへの、エタノールの縮合反応により生成する。これまでに我々は様々な微生物から同酵素のスクリーニングを行い、高EG生産の *A. kawachii* N-3株を取得、同株由来 α -グルコシダーゼについて転移能や縮合能を含めた各種性状について報告している。本研究では高EG生産性が、菌種に依存しているものかを明確にするため、*A. kawachii* と系統的に近縁種な *A. niger* および *A. oryzae* の生産する α -グルコシダーゼのEG生産性について比較を行った。

【方法および結果】供試菌株として *A. kawachii* N-3株、*A. niger* 12株、および *A. oryzae* 3株を用いた。まず、供試菌株の系統関係を確認するため、全菌株の28S rRNA遺伝子内のD1/D2領域を比較したところ、*A. niger* および *A. oryzae* の各菌株は所属する菌種でクラスターを形成し、N-3株は *A. niger* のクラスターに位置した。次に、各菌株より粗酵素を調製、加水分解能と、転移・縮合反応によるEG生産性を確認した。その結果、*A. niger* およびN-3由来 α -グルコシダーゼは転移・縮合能を持つが、*A. oryzae* は縮合能を持たなかった。また、同酵素の遺伝子配列を決定したところ、それぞれ高い相同性を示したが、系統解析したところ、*A. niger* およびN-3と *A. oryzae* に分かれた。

Production of ethyl alpha-D-glucoside by alpha-glucosidase from *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*

○Masataka Uchino¹, Yukiko Abe¹, Kotoyoshi Nakanishi²,
Katsumi Takano¹
(¹Dept. Appl. Biol. Chem., Tokyo Univ. Agric., ²Dept. Ferment. Sci., Tokyo Univ. Agric.)

Key words alpha-glucosidase, Ethylglucoside, *Aspergillus*

21p10 大腸菌の高圧死滅挙動に及ぼす共存塩の影響

○重松 亨¹, 長谷川 敏美¹, 林 雅子¹, 上野 茂昭¹, 藤井 智幸^{1,2}
(¹新潟薬大・応生科・食品科学, ²前橋工大・工・生物工学)

【目的】食品の品質低下を抑制しながら微生物を殺菌することが可能な非加熱殺菌法のひとつが高圧処理である。食品中の微生物は必ず共存物質と共に存在するので、共存物質を添加した状態での死滅挙動を知ることが重要である。本研究では、共存物質としてNaClおよびKClを選び、水和半径の異なる一価の陽イオン存在下での大腸菌の高圧死滅挙動を解析した。

【方法および結果】0.1~0.3 mol/lの濃度域に調整したNaClまたはKCl水溶液に大腸菌K12株を懸濁し、250~400 MPa (20℃) の条件で高圧処理を施した。処理後の大腸菌懸濁液の生菌数から死滅挙動を解析した。いずれの塩においても大腸菌の高圧死滅挙動は一次反応に従うことが示された。死滅速度定数はKCl共存下よりもNaCl共存下の方が大きい値となり、陽イオンの違いが死滅挙動に影響することが示された。死滅速度定数の圧力依存性の結果から活性化体積を算出したところ、いずれの塩においても0.20 mol/l以下ではその絶対値が濃度依存的に減少し、0.20 mol/l以上では増加した。これらの結果から、共存塩が大腸菌周囲の水和状態に影響することで0.20 mol/lを境とした高圧死滅挙動の違いを引き起こす可能性が示された。本研究は、ソルトサイエンス研究財団の助成を受け実施したものである。

Influence of salts on high-pressure inactivation of *Escherichia coli*

○Toru SHIGEMATSU¹, Toshimi HASEGAWA¹, Masako HAYASHI¹,
Shigeaki UENO¹, Tomoyuki FUJII^{1,2}
(¹Dept. Food Sci., Niigata Univ. Pharm. Appl. Life. Sci., ²Dept. Biotechnol., Maebashi Inst. Technol.)

Key words high pressure process, bacterial inactivation, *Escherichia coli*, salt

21p12 海洋酵母 YS41 の β -1,3-glucanase の精製と性質

○渡辺 清香¹, 金内 誠², 笠原 紳², 高橋 康次郎¹, 小泉 武夫¹
(¹東農大・応生科・醸造, ²宮大・食産業)

【目的】未利用資源に難分解性多糖類、 β -1,3 glucanを多く含む海藻類が挙げられる。海藻類はバイオマス資源として近年注目されており、利用方法など研究がなされている。そこで β -1,3 glucanaseを有する、海洋酵母YS41を選抜し同定、最適分解条件を報告した¹⁾。そこで本報ではYS41の β -1,3 glucanaseの精製を行い、酵素科学的性質を検討した。

【方法及び結果】Y:P: β -1,3glucan培地にて培養したYS41を用い、各種クロマトグラフィーにて β -1,3 glucanaseの酵素精製を行った。その結果、本酵素の分子量は31kDa、単量体であることが明らかとなった。至適温度、至適pHを検討したところ50℃、pH5で最も活性が高く、酵素の作用機作はexo型であった。

1) 2008年度農化学会講演大会集 P109

Purification and characteristics of β -1,3-glucanase from marine yeast YS41

○Sayaka WATANABE¹, Makoto KANAUCHI², Shin KASAHARA²,
Koujiro TAKAHASHI¹, Takeo KOIZUMI¹
(¹Dept. Ferment. Sci., Tokyo Univ. Agric., ²Dept. Food Magagement Miyagi. Univ.)

Key words marine yeast, beta-1,3 glucanase