

2Ma05 鶏肉に含まれるグルタミン酸生成酵素と遊離アミノ酸組成の関連

○杉本 匡史, 前橋 健二, 新井 規之, 山田 賢太郎, 股野 麻未, 柏木 豊
(東農大・応生科・醸造)

【目的】鶏肉は豚肉や牛肉に比べて熟成に伴う遊離アミノ酸の増加が大きく、これは鶏肉の旨味形成の大きな特徴であることが知られている。本研究では、鶏肉の旨味形成におけるグルタミン酸生成酵素の役割を明らかにすることを目的とし、鶏肉中のグルタミン酸生成酵素(GAPase)活性が鶏肉中の遊離アミノ酸組成に及ぼす影響を検討した。

【実験方法】供試肉は各種銘柄鶏肉及び食肉とし、3倍量の緩衝液を加えてホモジナイズしたものを酵素活性及びアミノ酸分析試料とした。GAPase活性の測定はグルタミン酸ニトロアニドを基質として測定した。遊離アミノ酸分析はHPLCまたは酵素法を用いて行った。

【実験結果】鶏肉の遊離アミノ酸組成は、いずれの銘柄においてもグルタミン酸が主であることが特徴的であった。また鶏肉は他の食肉に比べGAPase活性が高く、50℃でのインキュベーションによるグルタミン酸の増加量も最も大きかった。各種アミノペプチダーゼ阻害剤を用いた試験によっては、鶏肉のグルタミン酸含量の増加にはGAPaseの寄与が大きいことが示唆された。

Relationship between free amino acid composition and glutamic acid-releasing enzyme activity in chicken meat

○Masafumi SUGIMOTO, Kenji MAEHASHI, Noriyuki ARAI, Kentaro YAMADA, Mami MATANO, Yutaka KASHIWAGI
(Dept. Ferment. Sci., Tokyo Univ. Agric.)

Key words L-glutamate, aminopeptidase, chicken

2Ma06 変異導入による薔薇の香気成分を産生する植物乳酸菌の分子育種

○宮内 瑠美, 熊谷 孝則, 野田 正文, 東川 史子, 的場 康幸, 杉山 政則
(広大院・医歯薬)

【目的】当研究室では、文部科学省・知的クラスター創成事業および都市エリア産学官連携促進事業・杉山プロジェクトを通じて、植物乳酸菌の有効利用技術開発を推進してきた。その成果として、乳酸菌超増殖促進物質を含む酒粕を利用することにより、世界初の植物乳酸菌のみによるハードヨーグルトの開発に成功した。本研究では、薔薇の香気成分(2-フェニルエタノール:2PE)を産生する植物乳酸菌の変異処理による分子育種を行った。

【方法および結果】薔薇の香気成分を産生する変異株の育種に当たって、私たちの研究室にて独自に分離し、既に食の安全性を確認済みの*Lactobacillus plantarum* SN13Tを親株とした。本株は、フェニルアラニン(Phe)を含まない完全合成培地で生育可能であったが、Pheを含まない完全合成培地に200 µg/mLのp-フルオロフェニルアラニン(PFP)を添加すると、その生育は著しく阻害された。そこで、SN13Tの菌体を1%のエチルメタンサルホン酸で30分間処理後、200 µg/mL及び300 µg/mLのPFPを含む完全合成培地(Pheを含まない)にスプレッターにて播種し、37℃にて培養した。その結果、200 µg/mL及び300 µg/mLのPFP存在下で生育した変異株が、それぞれ10株及び5株取得できた。これら計15株の変異株をそれぞれ37℃にて48時間培養後、遠心した。得られた培養液上清のクロロホルム抽出物をGC-MSにより解析したところ、300 µg/mLのPFP存在下で生育した変異株のうちの3株が2-PEを産生した。現在、Phe合成経路において、Pheによるフィードバック阻害を受ける酵素に変異が生じているか調査中である。

Molecular breeding of 2-phenylethanol-producing *Lactobacillus plantarum*

○Rumi MIYAUCHI, Takanori KUMAGAI, Masafumi NODA, Fumiko HIGASHIKAWA, Yasuyuki MATOBA, Masanori SUGIYAMA
(Grad. Sch. Biomed. Sci., Hiroshima Univ.)

Key words mutation, 2-phenylethanol, *Lactobacillus plantarum*

2Ma08 苦味低減蛋白質リポフラビン結合蛋白質の *Brevibacillus choshinensis* による高分泌生産

○前橋 健二¹, 股野 麻未¹, 斉藤 真喜子¹, 鶴高 重三²
(¹東農大・応生科・醸造, ²名大)

【目的】鶏卵白リポフラビン結合蛋白質(RBP)は分子量34kDa、9箇所のSS結合を持つ糖蛋白質であるが、最近我々はRBPが苦味低減作用を有することを見出した。その分子機構解明及び産業利用のためには高効率なRBP生産法を確立する必要がある。そこでRBPの高効率な微生物生産法について検討した。

【方法・結果】宿主には*B. choshinensis* HPD31を、発現・分泌ベクターには*Brevibacillus*, *E. coli*シャトルベクターのpNCMO2を用いた。ニワトリRBPをコードするcDNAをベクターに組み込み、エレクトロポレーションにより形質転換体を得た。その培養上清についてSDS-PAGEにて調べた結果、主要バンドとしてRBPの発現が認められた。その後培養条件の最適化を検討した結果0.8g/Lの高効率生産が達成された。発現RBPを培養上清から硫酸沈殿およびDEAE-Sepharoseによって精製し性質を調べた結果、キニーネに対する苦味低減効果が確認された。

High-level secretion of bitterness-reducing protein, riboflavin-binding protein in *Brevibacillus choshinensis*

○Kenji MAEHASHI¹, Mami MATANO¹, Makiko SAITO¹, Shigezo UDAKA²
(¹Dept. Ferment. Sci., Tokyo Univ. Agric., ²Nagoya Univ.)

Key words bitterness reduction, riboflavin-binding protein, *Brevibacillus choshinensis*

2Ma09 沖縄微生物ライブラリーからのGABA生産乳酸菌

○渡嘉敷 唯章¹, 豊里 哲也¹, 安座間 盛力¹, 池端 真美¹, 高良 亮¹, 波平 知之², 新里 尚也², 松井 徹²
(¹トロピカルテクノセンター, ²琉大・熱生研)

【目的】沖縄は、国内で唯一の亜熱帯に属する地域で、さらに周りを海に囲まれ離島が多いなど、独特な環境下にある。そのため他府県にはみられない特徴のある微生物をはじめとする亜熱帯生物資源に恵まれた地域である。我々はこのような亜熱帯地域の環境下などから優れた酵素生産性や有用物質生産能などの機能性を有する微生物を収集し、それらの機能性評価や菌種の同定などを行うことを目的とした沖縄微生物ライブラリーの構築を行っている。これまでに乳酸菌、酵母および放線菌などの微生物を分離収集しており、これら菌株の特性評価を行っている。今回、高いGABA生産性を有する乳酸菌を分離し、その特性を調べたので報告する。

【実験方法および結果】沖縄本島をはじめ周辺離島などから花・果実・葉などの植物体、土壌、河川水などの自然環境中や食品加工施設などから試料を採取した。1%CaCO₃を含むMRS培地を用いて生酸菌を分離し、約5,000株を得た。これらの中から1%グルタミン酸Naを含むMRS培地で培養したところGABA生産性を有する菌株が約480株得られた。これらのうち、対照菌株として*Lactobacillus brevis* NBRC 12005株よりGABA生産性が高い菌株が得られ、これらは16S rDNAの部分配列解析により*L. lactis* subsp. *lactis*, *L. plantarum*, *L. garvieae*および*Enterococcus* sp.などの乳酸菌であった。特に*Enterococcus* sp.と近縁の菌株は高濃度のグルタミン酸Na培地でも高いGABA変換効率を示し、培養24時間でも高いGABA変換効率を示した。

GABA-producing lactic acid bacteria from Okinawa microbial library

○Tadaaki TOKASHIKI¹, Tetsuya TOYOSATO¹, Morichika AZAMA¹, Mami IKEHATA¹, Ryo TAKARA¹, Tomoyuki NAMIHIRA², Naoya SHINZATO², Toru MATSUI²
(¹Tropical Technology Center LTD., ²TBRC Univ. Ryukyus)

Key words lactic acid bacteria, GABA, okinawa microbial library