

11p16 形質転換大腸菌の網羅的表現型解析法を用いた新規ストレス耐性遺伝子の探索
○林 修平, 塩入 祐太郎, 山本 進二郎, 塩谷 捨明
(崇城大・応生命)
shayashi@life.sojou-u.ac.jp

シーケンサーによる遺伝子の塩基配列決定やDNAマイクロアレイによる遺伝子発現量の網羅的解析が様々な生物種において容易となった。次なる研究のターゲットは、各遺伝子から翻訳されるタンパク質によって起こる細胞全体の現象、つまり表現型について調べることである。動物細胞においては、DNAマイクロアレイの発展型であるトランスフェクションセルアレイなどが研究されている。この方法は、それぞれ単独の遺伝子を組み込んだプラスミドと遺伝子導入試薬の混合物をスライドガラスにアレイ状にスポットし、その場で遺伝子組換えを行うものである。この方法により、ある1つの遺伝子を高発現させることによって細胞がどのような表現型を示すのかを、スライドガラス上で一度に調べることが可能となった。この方法を微生物に適用させるために、我々はスライドガラスの代わりにナイロンメンブレンを用い、そのメンブレン上で遺伝子組み換えを行うという方法を開発した。この方法により、有機溶媒耐性や酸化ストレス耐性に関連のある遺伝子を新たに見出すことが出来た。本報告では、メンブレン上での形質転換法の更なる改良と、より多くの遺伝子からストレス耐性に関連のある遺伝子が新たに探索できるか検討を行った。

Screening of new stress-tolerant genes by exhaustive phenotype analysis of transformed *Escherichia coli*
○Shuhei Hayashi, Yutaro Shioiri, Shinjiro Yamamoto, Suteaki Shioya
(Dept. Appl. Life Sci., Sojo Univ.)

Key words *Escherichia coli*, transformation, stress resistance

11p18 バイオマス酸加水分解残渣を用いた乳酸生産
○高村 裕哉, 多田 清志, 菅野 亨, 堀内 淳一
(北見工大・工・バイオ環境)
horiucju@mail.kitami-it.ac.jp

【目的】バイオリファイナリーは、再生可能資源を原料として、バイオプロセスによりエネルギー・化学原料を生産する次世代の基盤技術として期待されている。本研究では、コーンコブ（スイートコーンの穂軸）を用いるバイオリファイナリー構築の一環として、ヘミセルロース成分を有効利用した後のコーンコブ酸加水分解残渣を原料とした乳酸生産について検討を行った。
【実験方法及び結果】コーンコブを1.5% 硫酸で121℃、60 minの条件で処理し、ヘミセルロース成分を利用した後に得られる残渣をコーンコブ酸加水分解残渣（Corn Cobs Residues, CCR）とした。このCCRを10倍量の50mM酢酸ナトリウム緩衝液（pH4.5）中で、酵素メイセラゼ（明治製菓株式会社）を0.5%（w/v）添加し、40℃、100rpmの条件で酵素糖化を行った。乳酸発酵は、ホモ乳酸菌 *Lactococcus lactis* を使用し、有効容量2.0L ジャーファメンタにより、CCR 酵素糖化液を炭素源としたMRS培地に接種し、30℃、200rpm、pH6.0の条件で回分培養を行った。メイセラゼを用いた酵素糖化の結果、CCR100g/Lからグルコース44.5g/Lが得られ、CCRの約45%がグルコースとして回収された。このCCR糖化液を用い乳酸発酵を行った結果、酵素糖化が全体の律速段階となり、またpH条件により発酵性が大きく影響された。現在、CCR糖化液を用いた乳酸発酵条件及び同時糖化発酵による効率的乳酸生産について検討を行っている。

Lactic acid production from acid hydrolyzed biomass residues
○Hiroya TAKAMURA, Kiyoshi TADA, Tohru KANNNO, Jun-ichi HORIUTHI
(Dept. Biotechnol. Environ. Chem., Kitami Inst. Technol.)

Key words Biorefinery, simultaneous saccharification fermentation, corncobs, L-lactic acid

11p17 ストレス応答遺伝子が大腸菌の運動性に与える影響の評価
○西埜植 洋介¹, 尾島 由紘¹, 袴田 和巳², 三宅 淳², 田谷 正仁¹
(¹阪大院・基礎工・化工,²阪大院・基礎工・生体)
taya@cheng.es.osaka-u.ac.jp

【目的】大腸菌は、べん毛回転によって液相での推進力を得ている。本研究では、ストレス応答遺伝子でありべん毛形成を制御する *rpoS* 遺伝子に着目し、遺伝子欠損が運動性に与える影響を調べた。軟寒天培地での平均移動速度の算出ならびに、微生物撮像装置を用いた個別細胞移動の観察を行うことで、総合的に運動性評価を行った。
【方法および結果】大腸菌 BW25113 野生株とその *rpoS* 欠損株、対照としてべん毛形成遺伝子である *flhC* 欠損株を用いた。これらの株の平均運動速度を M63 軟寒天培地を用いて算出すると、*rpoS* 欠損株は野生株よりも約4倍高い運動性を示し、*flhC* 欠損株は運動性を示さない結果が得られた。この原因として、*rpoS* 欠損株におけるべん毛関連遺伝子発現量が野生株に比べ有意に増加していたことから、両株の運動性の違いは、べん毛活動の差に因るものであると考えられる。さらに、個別細胞移動を観察したところ、*rpoS* 欠損株の場合においてのみ、低い頻度で、非常に大きな運動速度をもつ細胞の存在が確認され、その他の細胞はその場で振動運動を行っていた。この振動運動は、*flhC* 欠損株でも確認されたため、べん毛を介さない運動であると考えられる。以上の結果から、*rpoS* 欠損株の平均移動速度の増加は、菌体集団中の特異細胞の運動性を反映していることが示唆された。

Evaluation of the effect of stress response gene on *E.coli* motility
○Yosuke NISHINOUE¹, Yoshihiro Ojima¹, Kazumi Hakamada², Jun Miyake², Masahito Taya¹
(¹Div. Chem. Eng., Osaka Univ., ²Div. Bioeng., Osaka Univ.)

Key words *Escherichia coli*, stress response gene, flagellum, motility

11p19 LED光源を用いた耐塩性藻類 *Dunaliella tertiolecta* の培養特性
○屋代 和真, 住田 哲夫, 多田 清志, 菅野 亨, 堀内 淳一
(北見工大・工・バイオ環境)
m1151400320@std.kitami-it.ac.jp

【目的】石油の代替燃料となる新しいエネルギー資源として、藻類を利用する試みが注目を集めている。本研究では細胞内にグリセロールを蓄積し、油化反応により原油状物質に転換できる耐塩性藻類 *Dunaliella tertiolecta* を、特定の波長の光を選択的かつ低電力で供給できる発光ダイオード(LED)光源を用いて培養し、その特性を検討するとともに、pH制御による菌体回収について検討した。
【実験方法及び結果】*D. tertiolecta* (ATCC 30929)を、無機塩を含む海水と同等の塩濃度の合成培地によりLED照明を備えたジャーファメンターを用いて種々の条件で回分及び連続培養を行った。LED光源としてCCS社製の赤色LED(ISC-201-2,波長660nm)及び青色LED(ISC-201-2,波長475nm)を使用した。回分培養では赤色または青色LED単独では十分な増殖が得られず、赤色及び青色LEDを併用することにより白色蛍光灯と同等の増殖が得られ、グリセロール含有率も8~10%ではほぼ同等となった。増殖菌体は既報のpH制御による方法で効率的に回収が可能であった。LED光源を用い、種々の滞留時間で連続培養を行ったところ、回分培養に比べ菌体濃度は低下したが菌体生産性は向上した。LED光源を用いることで蛍光灯の1/10程度の消費電力で同等の *D.tertiolecta* の増殖が可能と考えられた。現在、LED光源を用い、pH制御により菌体を回収し再培養を行う繰り返し回分培養について検討を行っている。
1) Horiuchi *et al.*, J. Biosci. Bioeng., 95,412-415 (2003)

Growth characteristics of halotolerant micro-algae *Dunaliella tertiolecta* by LED irradiation
○Kazuma Yashiro, Tetsuo Sumita, Kiyoshi Tada, Tohru Kanno, Jun-ichi Horiuchi
(Kitami Inst. Technol., Dept. Biotechnol. Environ. Chem.)

Key words *Dunaliella tertiolecta*, LED, algae, glycerol