

4Bp21 微細藻類の電気培養による独立栄養的完全暗所培養技術

○吉田 浩爾¹, 金子 舞², 中村 圭寛¹, 石井 正治¹, 五十嵐 泰夫¹
 (¹東大・院・農, ²地域環境資源センター)
 amati@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

光合成微細藻類は、有用物質生産や海産資源の飼料として産業上重要であり、また今後、持続的エネルギー生産において重要な役割を果たすものと期待されている。一方、その培養には一般に光が必要であり、フォトリアクターなど、設備投資や維持エネルギーが膨大になることが問題であった。このことから、光合成微細藻類の培養技術として暗所培養法の確立が重要であるが、従来の暗所培養研究は基質取り込み系の導入などによる従属栄養化か、可視領域以外の光照射によるものを中心であった。

光合成では、光は光化学系(PS) I と II によって捕捉され、光合成及び光呼吸に必要な還元力をもたらしている。そこで、本研究では、光化学系の代わりに電気化学的に還元力を与えることで、暗所にて、光非依存的かつ独立栄養的に微細藻類を生育させることを試みた。

本研究では、光合成微細藻類として2種の珪藻*Chaetoceros gracilis*, *Phaeodactylum tricornutum*を用い、培養液に挿入した炭素電極に-1.0V (v.s. 対照極)を印加し、完全暗所にて2週間培養を行った。

その結果、電圧を印加しなかった場合は生育が見られなかったが、電圧を印加したものでは、450nm と 650nm の吸光度測定によって有意に生育が観察され、電気培養による微細藻類の暗所培養が可能であることが示された。また、*C.gracilis*においては、暗所培養においてもカロテノイドの蓄積が観察された。

Autotrophic Dark Cultivation for the Microalgae by the Electrolytic Autotrophic Technique

○Kouji Yoshida¹, Mai Kaneko², Yoshihiro Nakamura¹, Masaharu Ishii¹, Yasuo Igarashi¹
 (¹Grad. Sch. Agri. Life Sci, Univ. Tokyo, ²JARUS)

Key words microalgae, Autotrophic Dark Cultivation, electrochemical cultivation, diatoms

4Bp23 *Aureobasidium pullulans* M-1 (FERM BP08615) 育種によるβ-(1-3)(1-6)グルカン生産性の向上

守屋 直幸¹, 守屋 祐生子¹, 野村 秀雄², 草野 紀里¹, 朴 龍洙³, 浅田 祐弘³
 (¹アウレオ 東京事業部, ²アウレオ かずさ工場, ³静岡大学 創科技学院)
 kusano-kisato@aureo.co.jp

【目的】β-(1-3)(1-6) グルカン (以下β-グルカンと略称)の生産菌*A. pullulans* M-1(FERM BP08615)を親株として、紫外線照射による突然変異を行い、β-グルカン高生産株の獲得及び生産性向上について知見を得たので報告する。
 【方法・結果】*A. pullulans* M-1を、PDA (Difco)スラントで7日間培養し、得られた菌体をPBS 10 mlに懸濁した(1000 CFU/ml)。懸濁液をPDAプレートに塗布し、0, 5, 10分間とそれぞれUV照射を行った。25℃、4日間培養後形成したコロニーを4℃で3日間培養を行い、厚膜胞子化させた。大きい形状のコロニーを複数個ピックアップしてフラスコ培養を行い、フェノール硫酸法でβ-グルカン濃度を定量した。スクリーニング結果、β-グルカン産生量の最も高いコロニーを*A. pullulans* M-2と命名し、3L-ジャーファーマンターを用いて培養した結果、変異株のβ-グルカンの生産量は親株に対し2倍以上向上した。

Improved β-(1-3)(1-6) glucan production using high-yield mutant strain of *Aureobasidium pullulans* M-1

Naoyuki Moriya¹, Yukiko Moriya¹, Hideo Nomura², ○Kisato Kusano¹, Enoch Y Park³, Yukoh Asada³
 (¹Tokyo head office, Aureo Co., Ltd, ²Kazusa factory, Aureo Co., Ltd., ³Grad. Sch. Sci. Technol. Shizuoka Univ.)

Key words glucan, *Aureobasidium pullulans*, mutation, fermentation

4Bp22 *Aureobasidium pullulans* M-2の生産培地の最適化によるβ-グルカン発酵生産の向上

○浅田 祐弘^{1,2}, 守屋 直幸², 守屋 祐生子², 草野 紀里², 岡部 満康², 朴 龍洙¹
 (¹静岡大・創科技学院, ²アウレオ)
 acypark@ipc.shizuoka.ac.jp

【目的】β-グルカンはキノコや酵母によって生産される多糖で、抗ウイルス作用、免疫促進効果、アレルギー軽減作用などが注目され、その安価な大量生産方法が期待されている。演者らは、独自に育種した*Aureobasidium pullulans* M-2株を用いて培地条件の最適化によりβグルカン生産性向上を目指す。
 【実験方法・結果】実験計画法を用い、シュクロース、米ぬかおよびアスコルビン酸を主成分とするグルカン生産培地の最適化を行った。500 ml フラスコに培地を100ml入れ、温度24.5℃、攪拌速度100 rpmの条件で培養を行った。一方通気攪拌型リアクターへのスケールアップを行い、再現性を検討した。実験結果の分散分析を行ったところ、グルカン濃度(z)はシュクロース(x)と米ぬか(y)濃度の関数であった。シュクロースと米ぬかの最適濃度は、それぞれ20.0と4.5g/lであり、フラスコとリアクターを用いた場合、それぞれグルカン10.0と11.2g/lを得た。この値は、コントロール培地に比べ、約2倍高い値であった。

Improved β-glucan production from *Aureobasidium pullulans* M-2 by medium optimization

○Yukoh Asada^{1,2}, Naoyuki Moriya², Yukiko Moriya², Kisato Kusano², Mitsuyasu Okabe², Enoch Y Park¹
 (¹Grad. Sch. Sci. Technol. Shizuoka Univ., ²Aureo Co. Ltd.)

Key words *Aureobasidium pullulans*, beta-glucan

4Bp24 *Mucor javanicus* を用いた糖化発酵同時進行による未利用繊維残渣からのエタノール生産

○高野 真希, 星野 一宏
 (富山大院・理工・ナノ新機能)
 khoshino@eng.u-toyama.ac.jp

【目的】糸状菌*Mucor javanicus*は五炭糖および六炭糖から高効率でEthanol生成ができ、また、Cellulase類を分泌する。さらに、これを利用して微細化処理稲わらから直接Ethanol生産が可能であることがわかっている。一方、製紙工程では木材チップの加熱および叩解処理後、スクリーンを用いて未利用繊維残渣(テール)がパルプと分離される。排出されたテールは前処理を行ったセルロース繊維であるためEthanolの原料として有望と考えられる。本研究ではテールを原料とし、*M.javanicus*と加水分解酵素を用いた同時糖化発酵(SSF)および酵素無添加の糖化発酵同時進行(CBP)による直接Ethanol生産について検討した。
 【結果】使用したテールに含まれる成分比は、Cellulose 49%、その他の糖質18%、Lignin 32%、無機分1%である。3種類の市販セルラーゼのカクテルおよび*M.javanicus*を用い50 g/Lのテールを原料としたSSFを行った結果、培養96 hで24.5 g/LのEthanolが生成された。セルラーゼ剤に含まれる糖質を考慮すると、テール含糖質の100%をEthanolへ変換することができた。さらに、テールと*M.javanicus*のみを用いたCBPを試みた結果、増殖は確認できたもののEthanolの生成は認められなかった。この培養液中のセルラーゼ活性は、120 hの培養を通してendo-β-glucanaseおよびXylanaseは1 U/L、β-glucosidaseは0.2 U/L、β-xylosidaseおよびCellobiohydrolaseは0.1 U/Lであり、CBPの達成には酵素分泌量をさらに向上させる必要があることがわかった。現在、酵素分泌の向上について検討中である。

Direct ethanol production from reject fiber from pulping by CBP using *M. javanicus*

○Maki Takano, Kazuhiro Hoshino
 (Grad. Sch. Sci. Eng., Univ. Toyama)

Key words reject fiber, CBP, ethanol, ethanol-producing fungus