

1P-209 微生物群集を対象とした代謝解析による嫌気消化の特徴付け

○佐々木 大介¹, 佐々木 建吾², 中西 周次³, 橋本 和仁³,
近藤 昭彦^{1,2}
(¹神戸大院・工・応化, ²神戸大・自科・研究環, ³東大・先端研)
daisuke@port.kobe-u.ac.jp

微生物群集の構造と機能を結ぶ解析では、性能評価と核酸の多型解析の組み合わせや放射性または安定同位体を用いた直接的な機能解析が行われてきた。近年では解析機器の進歩により、メタゲノムやメタボロームなどのオミクス解析を微生物群集に適用した報告がされている。しかしながら得られる結果の抽象性や情報量の膨大さのため、データ解釈による結論と実環境を結びつけることは難しい。今回我々は嫌気消化過程のモデル発酵槽を構築し、微生物群集を由来とする代謝解析を行い、発酵様式の異なる結果を比較することで群集機能の特徴付けを試みた。

グルコースを炭素源とした人工廃水を用い、発酵温度 55°C、滞留時間 10 日で高温メタン発酵槽; 2 基を定常状態に達するまで運転した。その後、片方の発酵槽の pH を低下させることで発酵不良を誘導した。その状態でそれぞれの発酵性能の安定を確認した後、フィルターを用いて発酵液から微生物群集を回収し、クロロフォルム-メタノール法で代謝産物を抽出した。得られた菌体内代謝産物を GC-MS とトリプル四重極 LC-MS を使用して解析した。その結果、中央代謝におけるピルビン酸など、特徴的な物質の消費や蓄積が検出された。現在、発酵性能や他のパラメータも合わせて評価することで、微生物群集機能の特徴付けを進めている。

本研究は NEDO プロジェクト (P09010) の一環として実施した。

Characterization of anaerobic digestion by metabolomic analysis derived from microbial community

○Daisuke SASAKI¹, Kengo SASAKI², Shuji NAKANISHI¹,
Kazuhiro HASHIMOTO³, Akihiko KONDO^{1,2}
(¹Dept. Chem. Sci. Eng., Grad. Sch. Eng, Kobe Univ., ²Org. Adv. Sci. Technol. Kobe Univ., ³RCAST, Univ. Tokyo)

Key words metabolomic analysis, microbial community, anaerobic digestion, central metabolism

1P-211 生ゴミを原料としたメタ発酵とフィードバック分離法によるメタ発酵構成菌の分離・解析

○田代 幸寛¹, 松本 寛子¹, 弥富 麻衣子¹, 宮本 浩邦^{2,3},
奥川 友紀¹, Pramod Poudel¹, 宮本 久³, 酒井 謙二¹
(¹九大院・生資環, ²日環科学, ³三六九)
kensak@agr.kyushu-u.ac.jp

【目的】生ゴミは再生利用率の低いバイオマスの一つであるが、我々は光学活性乳酸発酵プロセスによる有効利用方法を提案している。単独微生物と比較して、複合微生物を制御する発酵プロセス (メタ発酵法) では、コンタミネーションのリスクの軽減などのメリットが期待される。我々は小魚および食品廃棄物を原料とした高温好気発酵により製造された Marine-animal-resources (MAR) コンポスト (1) に着目し、メタ発酵法による L-乳酸発酵の検討と細菌群集構造解析、メタ発酵構成菌の分離・解析を試みた。

【方法・結果】培地には糖化処理したモデル生ゴミ培地を用い、MAR コンポストを種菌を用いて、24 h 毎に培養液の pH を 7.0 に調整しながら異なる発酵温度 (30-65°C) で回分発酵を行った。その結果、30°C では酪酸 (選択性 81%) が主生産されたが、特に、発酵温度 50°C では 34.5 g/L (選択性 92%) の乳酸が生産され、複合微生物を用いた乳酸発酵では初めて L-乳酸光学純度 100% を実現した。さらに、濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) を行った結果、*Bacillus coagulans* が L-乳酸生産の構成菌であることが示唆された。さらに、DGGE 解析結果と文献情報を基にフィードバック分離を行った結果、分離の報告例が少ない *B. thermoamylovorans* と *B. humi* の分離に成功した。

(1) J Gene Appl Microbiol, 54, 149-158, 2008

Investigation of meta-fermentation from kitchen refuse, their bacterial community structure analysis, and feed-back isolation of constituent bacteria

○Yukihiro Tashiro¹, Hiroko Matsumoto¹, Maiko Yadomi¹, Hirokuni Miyamoto^{2,3},
Yuki Okugawa¹, Poudel Pramod¹, Hisashi Miyamoto³, Kenji Sakai¹
(¹Grad. Sch. Bioresour. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ., ²Japan Eco-science,
³Miroku)

Key words L-lactic acid, meta-fermentation, kitchen refuse, feed-back isolation

1P-210 セルロース系バイオマスからのセロオリゴ糖生産を目指した *Trichoderma reesei* の改良

○吉田 理奈¹, 志田 洋介¹, 岡部 陽平¹, 中村 明靖¹, 幡本 将史¹,
若山 樹², 今田 美郎², 山口 隆司¹, 小笠原 渉¹
(¹長岡技科大, ²国際石油開発帝石)
s103353@stn.nagaokaut.ac.jp

セルロース系バイオマスを資源化する技術の一つとして、酵素糖化に関する研究が進められている。しかし、酵素糖化における酵素のコストが課題である。そのため、我々は糖類の付加価値向上による収益増大を目指し、酵素糖化によるセロオリゴ糖の生産を検討している。本研究はセルラーゼ高生産菌 *Trichoderma reesei* に着目し、*T. reesei* の持つ多種にわたるセルラーゼ遺伝子の多重破壊により、効率的なセロオリゴ糖の生産を目的とした。

T. reesei の β-グルコシダーゼをコードする *bgII* を破壊した ΔB1 株、および ΔB1 株のセロビオハイドロラーゼをコードする *cbh1* および *cbh2* を破壊した ΔB1C1C2 株を構築した。各株が生産する酵素を用いてリン酸膨潤セルロースを基質とした酵素糖化を行い、得られた糖類は HPLC を用いて解析した。その結果、ΔB1 株由来の酵素を用いたときセロビオースの蓄積が確認され、セロビオースの回収量は 0.71 g/g-substrate であった。また、ΔB1C1C2 株由来の酵素を用いたとき三糖以上のセロオリゴ糖の生産が確認され、セロオリゴ糖の回収量は 0.34 g/g-substrate であった。現在、実際のバイオマスをを用いたセロオリゴ糖生産条件の検討を行なっている。

Improvement of *Trichoderma reesei* for oligosaccharide production from cellulosic biomass

○Rina Yoshida¹, Yosuke Shida¹, Yohei Okabe¹, Akinobu Nakamura¹,
Masashi Hatamoto¹, Tatsuki Wakayama², Yoshiro Konda², Takashi Yamaguchi¹,
Wataru Ogasawara¹
(¹Nagaoka Univ. Technol., ²INPEX Corp.)

Key words *Trichoderma reesei*, cellulosic biomass, enzymatic saccharification, oligosaccharide

1P-212 乳酸生産能を示す耐熱性植物成長促進細菌 (T-PGPB) の分離と機能解析

○新内 祐樹¹, 早水 ありさ¹, 田代 幸寛¹,
Vichien Kitpreechavanich², 酒井 謙二¹
(¹九大院・生資環, ²カセサート大)
kensak@agr.kyushu-u.ac.jp

<背景>我々は、都市生ゴミを高温乳酸発酵により、循環型ポリ L-乳酸プラスチックの原料である L-乳酸を生産し、副生成物として生じる乳酸発酵残渣をコンポストとして利用する包括的なリサイクルシステムを提案している。さらに、コンポストに植物成長促進機能を有する細菌を付与することで利用性と付加価値が高まると考えた。そこで本研究では、高温 L-乳酸生産能を有する耐熱性植物成長促進細菌 (T-PGPB) を、土壌からスクリーニングを行い、L-乳酸生産能を有する新奇な T-PGPB の分離と機能解析を行った。

<実験> 50 地点の土壌を滅菌水で希釈後、Pikovskaya' s agar 培地へ塗抹した後、50°C で培養し、リン酸塩の可溶性をみた。可溶性が見られた菌株についてインドール酢酸 (IAA) 生産の定量、シデロフォア生産、窒素固定能の確認を行った。また、これらの菌株について L-乳酸生産能を確認した。

<結果>スクリーニングの結果、リン酸塩を可溶性化した 11 菌株を選別した。11 菌株のうち、4 菌株が 1.50 mg/L 以上の IAA を生産し、1 菌株がシデロフォアを生産し、2 菌株が窒素固定能を示した。乳酸生産能の検討では、生産能に違いがあるが全ての菌株で乳酸生産を確認でき、3 菌株については 0.8 g/L 以上生産した。最終的に、植物成長促進、乳酸生産能の各項目において有望だと思われる 2 菌株を選択した。現在、2 菌株の同定を行うとともに、コマツナを用いた植物栽培試験により、植物成長促進機能を検討中である。

Isolation and characterization of thermotolerant plant growth promoting bacteria with lactic acid-producing capacity

○Yuki Shinnai¹, Arisa Hayami¹, Yukihiro Tashiro¹, Kitpreechavanich Vichien²,
Kenji Sakai¹
(¹Grad. Sch. Bioresour. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ., ²Kasetsart Univ.)

Key words plant growth promoting bacteria, lactic acid, compost, thermotolerant