

3S-Cp03 乳酸菌バクテリオシン：ナisinの実用化に始まる波及効果、そして新たな探索の時代へ

○善藤 威史¹, 園元 謙二^{1,2}
(¹九大院・農, ²九大・バイオアーキ)
zendo@agr.kyushu-u.ac.jp

乳酸菌由来の抗菌ペプチド、バクテリオシンは、一般に耐熱・耐酸性で、近縁のグラム陽性細菌に対してとくに強い抗菌活性を示す。バクテリオシンは一般に細胞膜に瞬時に作用して抗菌活性を示し、腸管内の酵素で容易に分解されて残留による環境負荷が少ないことから、安全でさらに耐性菌を生じにくいと考えられている。最も代表的なバクテリオシンで、乳酸菌 *Lactococcus lactis* の一部の株によって生産されるナisin A は、日本を含む世界 50 ヶ国以上で食品保存料として利用されている。我々は、乳酸菌バクテリオシンの特徴を活かした安全な微生物制御の実現を目指し、ナisin A の様々な分野への展開を図るとともに、ナisin A に続く、優れた特性を有する新奇バクテリオシンを探索し、それらの構造と機能について研究を行ってきた。

ナisin A は 50 年以上にわたって実用され、我が国においても 2009 年 3 月に食品保存料としての指定を受けた。その用途はある種の食品に限定されているが、近年の多剤耐性菌の氾濫や消費者の安全志向から、食品以外への利用も検討されている。我々も医薬やそれに準ずる用途への展開を検討してきた。活性と安定性について最適な配合剤を検討し、ナisin A を主剤とした手指用殺菌洗浄剤や、牛乳房炎の予防剤・治療剤を開発した。乳房炎予防剤・治療剤は、従来のコード剤や抗生物質の牛乳への残留による悪影響を低減でき、安全性と経済性の両面から代替品として期待される。また、九州でとくに廃棄処理方法が問題となっている焼酎蒸留粕を乳酸菌用培地の成分としてナisin A の大量生産を行い、かつ発酵残渣は機能性発酵調味液として使用できる、ものづくりと廃棄物有効利用を両立した環境調和型生産プロセスを実現した。最近では、ナisin A と梅エキスを組み合わせた口腔用抗菌剤を開発した。虫歯菌や歯周病菌への高い抗菌活性と同時に高い安全性を実現し、誤飲しやすく口腔ケアの困難な要介護高齢者や重度心身障害者、乳幼児などによる利用が期待される。ナisin A は非常に優れた特性を有しているが、広いながらも特徴的な抗菌スペクトル、中性領域での低い溶解性・安定性など、使用に際して注意すべき点もある。他の抗菌剤との組み合わせは一つの解決法であるが、ナisin A とは異なる特性をもつバクテリオシンの利用も有効な手段と考えられる。そこで、我々は多様な新奇乳酸菌バクテリオシンの獲得を目指し、抗菌スペクトルと分子量を指標とした迅速スクリーニング法を構築した。本法によって、スクリーニングの初期段階において、ナisin等の既知のバクテリオシンを除外し、新奇性の高いバクテリオシンを選抜することが可能となった。

得られたものをさらに解析し、ナisin A 類縁体のナisin Q、2 つのペプチドから成るラクトコッシン Q、リーダー配列を持たないラクティシン Q、環状ペプチドのラクトサイクリン Q などの新奇バクテリオシンが見出された。複数のバクテリオシンを生産する乳酸菌も見出された。とくに、*L. lactis* QU 5 が生産するラクティシン Q は、ナisinと同様に広い抗菌スペクトルと高い抗菌力を有する一方で、ナisinの安定性が低下する中性～弱アルカリ性領域においても高い安定性を有し、ナisinよりも速い作用で細胞膜に大きな孔を形成して抗菌活性を示すこと、一般的なバクテリオシンとは異なり、リーダーペプチド無しで合成・分泌されることが明らかとなった。今後、得られた新奇バクテリオシンの利用のみならず、これらの作用機構や生合成機構を基盤とした、より優れた抗菌ペプチドの創出も期待される。

Bacteriocins from lactic acid bacteria: ripple effects beginning with the practical use of nisin, and a new stage of screening

○Takeshi Zendo¹, Kenji Sonomoto^{1,2}
(¹Fac. Agric., Kyushu Univ., ²Bio-Arch., Kyushu Univ.)

Key words lactic acid bacteria, bacteriocin, nisin, antibacterial peptide

3S-Cp04 焼酎麹菌の Identity を探り、活用する

○後藤 正利¹, 二神 泰基¹, 梶原 康博², 高下 秀孝²
(¹九大院・農, ²三和酒類)
mgoto@brs.kyushu-u.ac.jp

麹菌はその安全性と優れた酵素生産能を示すことから、酒類、醤油、味噌など我が国の伝統的発酵食品製造に使用されている。温暖な九州地域でおもに製造される本格焼酎には、原料の糖質分解酵素を高生産することに加え、製造時のもろみの pH を低く保ち雑菌の増殖を防ぐためにクエン酸を高生産する焼酎・白麹菌 *Aspergillus kawachii* が用いられる。本講演では、白麹菌を材料とした産業利用を期待して我々が行っている白麹菌のクエン酸高生産機構の解明と、機能未解明な多様な糖質加水分解酵素 (GH) の機能同定について紹介する。これまで、白麹菌においては研究対象とするための分子基盤・ツールが整備されていなかったため、まず *A. kawachii* IFO 4308 のゲノム解析と白麹菌の研究用宿主菌 (栄養要求性株、高効率相同組換え株) の開発を行った。ゲノム解析の結果から、白麹菌のゲノムサイズは 36 Mb で、11,472 の ORF をコードしていると推定された。また、安全性については、オクラトキシンなどのマイコトキシン生産に関与する遺伝子クラスターが欠損していることがわかった。

白麹菌の特徴の一つであるクエン酸代謝に関わる酵素をコードする遺伝子やクエン酸生産量を制御していると予想されているミトコンドリアの有機酸輸送タンパク質をコードする遺伝子が、白麹菌及びクエン酸高生産 *A. niger* 間で高度に保存されていた。また、これらの中には、クエン酸を大量に生産しない黄麹菌 *A. oryzae* とは相同性が高くない遺伝子も認められた。白麹菌の大麦麹製造時の DNA マイクロアレイ解析の結果、クエン酸生産誘導条件において 2 倍以上発現量が高い 296 遺伝子、および低い 250 遺伝子を同定した。これらの遺伝子の破壊株や過剰発現株の構築により、クエン酸高生産要因を明らかにしたい。

一方、白麹菌のもうひとつの特徴的な性質は、多様な GH 群にある。CAZY と BLAST による検索の結果、白麹菌ゲノム中には 53 ファミリーにわたる 247 の推定 GH 遺伝子が存在することがわかった。それらの GH 遺伝子の中には、白麹菌や類縁菌の *A. niger* において、未だ機能解析が行われていない分泌型と推定される 36 種の GH ファミリーに分類される合計 112 の GH 遺伝子が見いだされた。これらの GH 遺伝子のうち 93 種を酵母菌分泌発現系に導入し、40 種の GH についての分泌発現を確認して、基質特異性に関する情報を得た。中にはこれまでに報告のない新たな基質特異性を持つと推定される GH が存在した。

白麹菌の特徴的な機能を明らかにする事で、焼酎醸造特性の異なった多様な白麹菌の育種とその利用、有機酸高生産株の育種、新規な加水分解酵素の産業利用が可能となることを願って、九州になじみの深い白麹菌の活躍の場を提供したい。

Investigation of identity of a shochu koji mold and its application

○Masatoshi Goto¹, Taiki Futagami¹, Yasuhiro Kajiwara², Hideharu Takashita²
(¹Fac. Agric., Kyushu Univ., ²Sanwa Shurui Co., Ltd)

Key words *Aspergillus kawachii*, Koji making, genome, glycoside hydrolase