

1P-168 酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* NBRC3283 株の基幹代謝経路における AarC の機能解析

貝沼 (岡本) 章子, ○松原 拓哉, 山本 有紀, 石川 森夫,
小泉 幸道
(東農大・応生科・醸造)
okamoto@nodai.ac.jp

【目的】酢酸菌は、細胞表層の酸化酵素と電子伝達系によりエネルギー代謝を行う一方、細胞内の基幹代謝経路も有しており、生育環境によってこれらを使い分けて生育する。食酢醸造用酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* は TCA サイクル中の succinyl-CoA synthetase を欠失し、このバイパスとして acetic acid+succinyl-CoA → acetyl-CoA+succinic acid の反応を触媒する AarC を保持する。本酵素は酢酸を acetyl-CoA に直接変換するため、本菌の酢酸耐性やエネルギー代謝に重要であるが、炭素源の細胞内資化時の役割についてはさらに検討の余地がある。そこで、本研究では本菌において細胞内で資化されるグリセロールに着目し、基幹代謝経路における AarC の機能の検証を行った。

【方法及び結果】*A. pasteurianus* NBRC 3283 株および本菌 *aarC* 破壊株についてグリセロールを炭素源として生育挙動の比較を行った。その結果、*aarC* 破壊株は若干の遅延が見られたものの親株と同等の生育を示した。また、同条件下における両株の TCA サイクル関連酵素遺伝子の転写挙動を qRT-PCR 法により解析した結果、破壊株における各酵素の発現量は親株に比して多く、本菌 TCA サイクルは AarC の有無に依らず機能することが示唆された。さらに、グリセロール生育時の培養上清について有機酸分析を行った結果、*aarC* 破壊株においてコハク酸が特徴的に検出された。以上より、本菌 AarC は炭素源によっては必須ではなく、本菌は TCA サイクルを部分的に駆動することにより生育する可能性が示唆された。

Function of AarC within the central carbon metabolism in *Acetobacter pasteurianus* NBRC3283

Akiko Okamoto-Kainuma, ○Takuya Matsubara, Yuki Yamamoto, Morio Ishikawa, Yukimichi Koizumi
(Dept. Ferment. Sci., Fac. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agric.)

Key words TCA cycle, *Acetobacter*, AarC, glycerol

1P-170 酵母への接着に関与する *Lactobacillus plantarum* ML11-11 細胞表層タンパク質の解析

○平山 悟, 古川 壮一, 萩原 淳, 安井 雅人, 森永 康
(日大院・生資科)
morinaga@brs.nihon-u.ac.jp

【目的】伝統発酵食品の福山酢から分離した乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* ML11-11 は出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* と共存すると、顕著な複合バイオフィーム形成や共凝集性を示す。これら細胞間接着は、乳酸菌表層のレクチン様タンパク質と酵母表層のマナンを介していることをこれまでに明らかにしてきた。本研究では、乳酸菌 ML11-11 野生株、及び酵母との共凝集能が欠失した非凝集性自然変異株の表層タンパク質を解析し、酵母との接着に関与する乳酸菌のレクチン様タンパク質を明らかにすることを目的とした。

【方法】*L. plantarum* ML11-11 野生株及び非凝集性自然変異株の細胞表層タンパク質を 4M LiCl 処理により抽出し、BCA 法による定量を行うとともに、SDS-PAGE により分離後、LC-MS/MS によりペプチド配列を同定した。

【結果】表層タンパク質の定量及び SDS-PAGE の結果、変異株の表層タンパク質は野生株に比べ顕著に少ないことが明らかになり、タンパク質を細胞表層に排出する系が十分に機能していない可能性が示唆された。野生株表層タンパク質の SDS-PAGE に見られる主要なバンドの中には、数種の細胞内タンパク質が見出された。

Analysis on cell surface proteins of *Lactobacillus plantarum* ML11-11 responsible for adhesion to yeasts

○Satoru Hirayama, Soichi Furukawa, Jun Ogihara, Masato Yasui, Yasushi Morinaga
(Grad. Sch. Bioresour. Util. Sci., Nihon Univ.)

Key words *Lactobacillus plantarum*, cell surface protein, *Saccharomyces cerevisiae*

1P-169 酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* NBRC3283 株のエタノール培養条件下における電子伝達系／ROS 除去系酵素の発現挙動

貝沼 (岡本) 章子¹, ○勝木 浩平¹, 今井 健太郎¹, 石川 森夫¹, 志波 優², 吉川 博文^{2,3}, 小泉 幸道¹
(¹東農大・応生科・醸造, ²東農大・ゲノムセ, ³東農大・応生科・バイオ)
okamoto@nodai.ac.jp

【目的】食酢醸造用酢酸菌はエタノールを細胞膜上の脱水素酵素によって酢酸に不完全酸化し(酢酸発酵)、さらに、生成した酢酸を細胞内で完全酸化する(酢酸の過酸化)。いずれの酸化系で生じた電子も電子伝達系で処理されるが、この際の電子伝達系や活性酸素種(ROS)除去系構成因子の発現挙動については不明瞭な部分が多い。そこで、本研究では酢酸発酵期および過酸化期におけるこれら関連因子の発現挙動について包括的な比較解析を行った。

【方法及び結果】酢酸菌 *Acetobacter pasteurianus* NBRC3283 株について、エタノール培養時における電子伝達系／ROS 除去系酵素の活性測定と RNAseq 法による転写解析を行った。酢酸発酵期においては cytochrome o ubiquinol oxidase(Cyt o) の発現量が顕著に増加し、NADH-quinone oxidoreductase(NQO)、superoxide dismutase(SOD)、catalase の発現量は低い値を示した。両酸化期間の移行期では NQO の発現量が増加し、Cyt o および ROS 除去系酵素は低い発現量を示した。過酸化期においては Cyt o の発現量は低い値を示し、NQO、および SOD、catalase の発現量が顕著に増加した。以上より、本菌の電子伝達系／ROS 除去系酵素の発現挙動は生育時期によって大きく異なることが示唆された。

Expression profiles of electron transport/ROS scavenging systems of *Acetobacter pasteurianus* NBRC3283 under ethanol containing condition

Akiko Okamoto-Kainuma¹, ○Kohei Katsuki¹, Kentaro Imai¹, Morio Ishikawa¹, Yu Shiwa², Hirohumi Yoshikawa^{2,3}, Yukimichi Koizumi¹
(¹Dept. Ferment. Sci., Fac. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agric., ²Genome Res. Center, Tokyo Univ. Agric., ³Dept. Biosci., Fac. Appl. Biosci., Tokyo Univ. Agric.)

Key words *Acetobacter*, electron transport system, reactive oxygen species

1P-171 泡盛もろみの網羅的菌叢解析による泡盛安定醸造への応用

○塚原 正俊¹, 鼠尾 まい子¹, 東 春奈¹, 渡久地 政汰¹, 伊波 朋哉¹, 大城 綾音¹, 外山 博英²
(¹バイオジェット, ²琉球大・農・亜熱生資)
tsuka@biojet.jp

【背景・目的】泡盛は、約 600 年の歴史を有する日本最古の蒸留酒である。我々は、これまでに泡盛もろみ常在菌が泡盛風味に影響することを報告した(日本農芸化学会 2014 年大会)。今回、次世代シーケンサを用いた泡盛もろみの菌叢解析結果を基に、泡盛風味の安定化に寄与する取り組みを行った。

【方法・結果】次世代シーケンサ MiSeq を用いて様々な泡盛もろみの菌叢解析を行った。その結果、酒造所および発酵日数が異なるもろみで菌叢に差異が見られることが確認された。また、今回新たに、同一酒造所における発酵ロット間においてももろみ菌叢の差異が確認された。このロット間の菌叢の差異は泡盛風味に影響することが考えられ、品質安定化への影響が懸念された。そこで、実験室規模にて、泡盛もろみから採取した複数の微生物を用いて複数グループのモデル菌叢を作製し、実験室規模での小仕込試験を行った。得られた熟成もろみおよび蒸留液の詳細な分析を行い、もろみ菌叢の泡盛安定化への影響を評価した。その結果、もろみ菌叢の違いが蒸留液の成分バランスに影響することが確認された。一方、菌叢が異なっても蒸留液の成分バランスに影響が見られないケースも確認された。これらのことから、ロットごとのもろみ菌叢は、泡盛品質に影響しうることが示された。現在、もろみ菌叢を制御することで泡盛風味を安定化できる条件検討を進めると共に、当該技術の実機応用を目指している。

Application to stability Awamori brewing by analysis of microflora of Awamori Moromi

○Masatoshi Tsukahara¹, Maiko Nezu¹, Haruna Azuma¹, Shota Toguchi¹, Tomoya Iha¹, Ayane Oshiro¹, Hirohide Toyama²
(¹Biojet, ²Dept. Biosci. Biotechnol., Fac. Agric., Univ. Ryukyus)

Key words flavor, MiSeq, liquor, Okinawa