

1P-192 麹菌 *Aspergillus saitoi* の生産するペクチン分解酵素に関する研究

○古川 千恵¹, 山野 望海¹, 中野 将志¹, 宇津木 満³, 竹浦 賢吾¹, 志水 元亨¹, 和久 豊², 小林 哲夫³, 加藤 雅士¹
 (1)名城大・農・応用生物化学, (2)株式会社ビオック, (3)名大院・生命農学)
 110562103@cgalumni.meijo-u.ac.jp

【目的】ペクチンはポリガラクトuron酸にガラクトース、アラビノース、キシロース、ラムノース等が結合している複合多糖類である。主に糸状菌 *Aspergillus niger* の生産するペクチン分解酵素（ペクチナーゼ）が食品分野で多く利用されてきた。一方、バイオマス利用において多様な特性をもつペクチナーゼ開発の必要性が高まっている。麹菌（黒麹菌を含む）は酵素の宝庫であり、安全性が高く様々な産業に利用されている。本研究では、麹菌株コレクションからペクチン分解能の高い菌株を選抜し生産酵素の解析を進め、新たなペクチナーゼのシーズとすることを目的とする。

【方法・結果】(株)ビオックの保有する麹菌コレクションから、ペクチナーゼ活性が高い15種の *Aspergillus* 属糸状菌を選抜した。プレートアッセイおよびソモギー・ネルソン法による活性測定を行ったところ、*A. saitoi* KBN 2022株の活性が最も高いことが明らかとなった。この株をペクチン炭素源の最少培地に培養後、各種クロマトグラフィーを用いて培養上清からのペクチン分解関連酵素の精製を試みた。精製画分をSDS-PAGEに供しMALDI-TOF/TOF-MSにて解析したところ、67 kDa、35 kDa付近のタンパク質はそれぞれアラビノフラノシダーゼ、ポリガラクトuron酸リアーゼであることを示唆する結果を得た。現在、各酵素の機能解析を行っている。

Purification and characterization of pectin-degrading enzymes from *Aspergillus saitoi*

○Chie Furukawa¹, Nozomi Yamano¹, Masashi Nakano¹, Mitsuuro Utsuki², Kengo Takeura¹, Motoyuki Shimizu¹, Yutaka Wagu², Tetsuo Kobayashi³, Masashi Kato¹
 (1)Dept. Appl. Biol. Chem. Fac. Agric. Meijo Univ., (2)Bio'c Co., Ltd., (3)Grad. Sch. Bioagric. Sci., Nagoya Univ.)

Key words *Aspergillus saitoi*, pectinase, polygalacturonic acid

1P-194 液体培養による白麹菌の酵素生産の向上

○三貝 咲紀¹, 宮崎 千佳², 二宮 純子¹, 森田 洋²
 (1)北九大院・国際環境工, (2)北九大・国際環境工)
 u3mab007@eng.kitakyu-u.ac.jp

1. 緒言

焼酎製造には、一般的に白麹菌が用いられる。麹菌の培養方法は、蒸すなどの前処理をした原料に菌を接種する固体培養法、および原料と栄養源を添加した液体培地に菌を接種する液体培養法がある。醸造分野においては固体培養法が選択されているが、液体培養は固体培養よりも酵素生産性が劣る欠点があるため、本研究では液体培養において白麹菌が生産する酵素活性向上を目的とした。

2. 実験方法

菌株に *Aspergillus kawachii* NBRC 4308 を使用した。この菌株の胞子懸濁液を改変 SLS 液体培地に接種し、30℃、200 rpm で72時間振とう培養を行った。α-アミラーゼ活性 (α-A) の測定はα-アミラーゼ測定キット (キッコーマンバイオケミファ株式会社) を用いて行った。耐酸性α-アミラーゼ活性 (Aα-A) は、前処理後、α-A 活性と同様に測定した。

3. 結果

焼酎のもろみはpHが低いことから、液体培地に *A. kawachii* とヨーグルトから分離した乳酸菌を接種し、共培養を行った。しかし、酵素活性の増強は確認することができなかったため、ヨーグルトの原料である牛乳を基本培地に加えたところ、α-A 活性 10567 U/g、Aα-A 活性 964 U/g の高い活性を得ることができた。これは、牛乳が酵素活性の増強につながったと考えられる。そこで、酵素活性向上の要因を検討するべく、牛乳成分について調査したところ、リン酸塩が効果を及ぼしていることがわかった。以上のことより、本液体培養法による醸造技術の開発の可能性が示唆された。

Improvement in enzyme production of white *koji* mold in liquid culture

○Saki Mikai¹, Chika Miyazaki², Junko Ninomiya¹, Hiroshi Morita²
 (1)Dept. Life Environ. Eng., Univ. Kitakyusyu, (2)Faculty. Environ. Eng., Univ. Kitakyusyu)

Key words *Aspergillus kawachii*, acid-stable alpha-amylase, liquid culture

1P-193 酒粕再発酵によるエチル-α-D-グルコシド高含有酒の開発

○宮西 史則, 佐藤 敦, 若林 美芳, 打越 仁子, 坊垣 隆之, 尾関 健二, 大箸 信一
 (金工大・ゲノム研)
 f-miyaniishi@eagle-net.ne.jp

【目的】エチル-α-D-グルコシド (α-EG) は清酒製造時に麹中のα-グルコシダーゼによりマルトース以上のデキストリンとエタノールを基質として生産される配糖体であり、市販清酒中に約0.2~0.7%含まれている。α-EGは肌への塗布による荒れ肌改善や1% α-EG清酒を270 ml摂取することにより保湿効果があることが知られている。また、本研究室ではα-EGを3%以上生産する清酒仕込み条件を確立し、肌試験によってα-EGが2.5%含まれている清酒での保湿効果が確認された。また、米または麦焼酎仕込でも、α-EGを2%程度生産する仕込方法の開発及び蒸留した焼酎では品質に問題なく、米焼酎蒸留残渣からのα-EG発酵物には、保湿効果が確認されている。本研究ではα-EG高含有酒粕の再利用だけでなく、通常の酒粕からも麹米の代わりに用いて、コストを削減した浴用酒として利用できるα-EG高含有酒の開発を目的とした。

【方法と結果】酒粕はα-EG高含有酒粕と市販の通常の酒粕を仕込時に麹の代わりに用い、さらにα-アミラーゼ剤とα-グルコシダーゼ剤の添加について検討した。その結果、α-EG高含有の酒粕だけでなく通常の酒粕からも再発酵によりα-EGを3%程度生産できることが分かった。この仕込時にはデンプン質とα-アミラーゼ剤とα-グルコシダーゼ剤の添加量が重要であった。酒粕の種類でのα-EG高含有酒の技術開発とサンプルを肌へ塗布する肌試験により機能性評価を行っている。

Development of ethyl-α-D-glucoside rich sake from re-fermented sake cake

○Fuminori Miyaniishi, Atsushi Sato, Miho Wakabayashi, Satoko Uchikoshi, Takayuki Bogaki, Kenji Ozeki, Shinichi Ohashi
 (Genome Biotechnol. Lab., Kanazawa Inst. Technol.)

Key words ethyl-alpha-D-glucoside, sake cake

1P-195 生合成乳酸ベースポリマーの高生産化を目指した宿主大腸菌の遺伝子改変

○児玉 悠¹, 門屋 亨介^{1,2}, 松本 謙一郎¹, 田口 精一¹
 (1)北大院・工・生機高, (2)JST・CREST)
 yu-kodama@ec.hokudai.ac.jp

分子進化により創製された乳酸重合酵素遺伝子を導入した組換え大腸菌は、糖質バイオマスを炭素源として、乳酸ベースポリマーを合成できる。本ポリマーは、透明性と柔軟性を示し、従来の微生物産生ポリエステルとは異なる応用が期待される。これまで当研究グループでは、ポリマー合成系の酵素群や、乳酸合成に関わる代謝経路の改変により、ポリマー中の乳酸分率の増加と生産性の向上に取り組んできた。これらの研究では、乳酸ポリマーの合成に直接関与することが明確なターゲットへアプローチした。本研究では、ポリマー生合成系への関与が必ずしも明らかではない因子も含めてターゲットとし、遺伝子工学的に大腸菌宿主を改変することにより、乳酸ポリマーの生産に適した菌株を創製する可能性について検討を加えた。

本研究では転写制御因子であるσ因子に着目した。大腸菌のσ因子のいくつかは欠失可能であることが知られており、これらの欠失株では、そのσ因子の制御下にある広域の遺伝子の発現量が変動すると予想できる。これらのσ因子欠失株をKeio Collectionより入手し、所定のポリマー合成系遺伝子群を挿入し、ポリマー生産を行った。その結果、一つの株で野生株と比べてポリマー生産量がおおよそ1.2倍に増加することを見出した。このポリマー合成量の増加は主にLAユニットの蓄積量の増加によるものであり、3HBユニットの蓄積量は野生株と比べ有意な差はなかった。この結果より、広域的遺伝子改変により、ポリマー生産性を増強できることが示唆された。

Genome engineering of *Escherichia coli* for efficient production of lactate-based polymers

○Yu Kodama¹, Ryosuke Kadoya^{1,2}, Ken'ichiro Matsumoto¹, Seiichi Taguchi¹
 (1)Div. Biotechnol. Macromol. Chem., Grad. Sch. Eng., Hokkaido Univ., (2)CREST-JST)

Key words biobased plastic, sigma factor