

1P-181 花酵母による廃牛乳を基質とした高機能微生物タンパク (SCP) 生産

○大塚 光雄¹, 鈴木 敏弘², 茂野 俊也³, 中島 敏明²
 (¹筑波大, ²筑波大院・生命環境, ³つくば環微研)
 nakajima.toshiaki.ga@u.tsukuba.ac.jp

牛乳は毎日の搾乳を怠ると乳房炎になるため牛乳生産のコントロールが難しいとされている。酪農家は2年先を見越して生産計画を立てているため、急な出荷量の変化に対応が出来ないという問題があり、過剰に生産した牛乳は産業廃棄物となる。廃棄する場合には水質汚濁も同時に問題となる。これらのことから過剰に生産した牛乳の環境に考慮した有効利用法が必要とされている。本研究では牛乳に単離源を花とした酵母を用いて微生物処理を行うことにより廃棄量、および廃棄処理費用の低減を目的とした。イメージの良い花からとった酵母を牛乳で増殖させ、菌体を回収し Single Cell Protein (SCP) としての利用を目的とし実験を行った。

1次スクリーニングとして、市販の牛乳のみの培地に花酵母1白金耳分を植菌し、7日間振盪培養し経時的に生育を測定した。結果、いくつかの株で優れた生育が確認できた。その1つであるタンポポから単離された *Rhodotorula mucilaginosa* TY-92 株では培養1日目が高い生育をし、培養終了後の培地を静置しておくとき透き通った上清を得た。これは菌体を SCP として利用することに加え、排水の浄化の観点からも有益である。*Rhodotorula* 属酵母は既に安全性が確立されており、また菌体内に高度不飽和脂肪酸を蓄積することが知られ、Single Cell Oil (SCO) 生産を行うための油脂蓄積酵母として認識されている。現在、更にスクリーニングを行い、これらの花酵母の中から最も SCP 生産に適した株を検討している。

Production of Single Cell Protein (SCP) from waste milk by using yeasts isolated from flowers

○Mitsuo Otsuka¹, Toshihiro Suzuki², Toshiya Shigeno³, Toshiaki Nakajima-Kambe²
 (¹Univ. Tsukuba, ²Grad. Sch. Life Environ. Sci., Univ. Tsukuba, ³Tsukuba Inst. of Environ. Microbiol)

Key words yeast, single cell protein

1P-182 代謝改変分裂酵母によるグルコースを炭素源とした3-ヒドロキシプロピオン酸高生産

○陶山 明子, 竹川 薫
 (九大院・農)
 suyamaa@agr.kyushu-u.ac.jp

【背景・目的】3-ヒドロキシプロピオン酸(3-HP)は高吸水性樹脂の原料であるアクリル酸の前駆体として多くの需要が見込まれている。大腸菌は3-HP生産の宿主として頻用されるが酸耐性および3-HP耐性が低いという問題点がある。また酵母は酸耐性であるが出芽酵母は3-HP耐性が低い。我々は分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* が100 g/Lの3-HP存在下でも生育可能な高い3-HP耐性を持つことを見出した。これは *S. pombe* が大腸菌や出芽酵母より3-HP生産株育種の宿主として優れていることを示唆している。そこで本研究では *S. pombe* を宿主として代謝経路を改変し、グルコースを炭素源とした3-HP高生産株の育種を目的とした。【方法】代謝経路改変に用いた遺伝子は(i) malonyl-CoAを3-HPへと変換する *Chloroflexus aurantiacus* 由来の malonyl-CoA reductase (CaMCR) (ii) acetyl-CoA carboxylase (ACC) (iii) acetyl-CoA synthetase である。宿主はプロテアーゼ多重破壊株(A8株)を用いた。得られた株を最少培地で回分培養して培養上清の3-HPをHPLCで測定した。【結果】A8株にCaMCRと *S. pombe* 由来のACCを導入したところ0.7 g/Lの3-HPを分泌生産した。次に3-HP生産量の向上を目指し3-HPの前駆体である acetyl-CoA 量の増加を検討した。培地に酢酸カリウムを添加することで3-HP生産量は2.4倍に、更に acetyl-CoA synthetase を過剰発現させることで3.6倍に増加した。また強力なプロモーターの使用や培地組成の最適化を行った結果、最終的に3.9 g/Lの3-HPを生産できた。これは、これまで報告された回分培養におけるグルコースからの3-HP生産量の中で最高値である。本成果はNEDOの委託業務の結果得られた。

Production of 3-hydroxypropionic acid from glucose using recombinant fission yeast strains

○Akiko Suyama, Kaoru Takegawa
 (Fac. Agric., Kyushu Univ.)

Key words 3-hydroxypropionic acid, malonyl-CoA, *Schizosaccharomyces pombe*, acetyl-CoA

1P-183 大型藻類有効利用に向けたラミナリン発酵酵母の分子育種

○元根 啓佑^{1,3}, 高木 俊幸^{1,3}, 佐々木 勇輔^{1,2,3}, 黒田 浩一^{1,3}, 植田 充美^{1,3}
 (¹京大院・農・応用生命, ²京大院・総合生存, ³JST・CREST)
 miueda@kais.kyoto-u.ac.jp

【背景・目的】豊富な海洋資源を持つ日本において、養殖可能な大型藻類などの海洋バイオマスは陸上バイオマスに代わるエネルギー安全保障上有望な資源である。特に褐藻類は生育が非常に速く、陸上バイオマスと比較して難分解性化合物であるリグニンを含まないことや、食糧と競合しないものも存在することから有用物質生産の原料として注目を集めている。ラミナリンは、少量のβ-1,6-枝分かれ構造を持ったβ-1,3-グルカンであり、褐藻類に多量に存在する貯蔵多糖である。本研究では、ラミナリンをエタノールに変換するため、強力なラミナリン分解能を持つ *Saccharophagus degradans* 由来のラミナリン分解酵素に着目し[1]、我々が開発してきた酵母ディスプレイ法によりラミナリン分解酵素提示酵母の分子育種を試みた。

【方法・結果】プロテオーム解析によって明らかにしてきた *S. degradans* 由来のラミナリン分解酵素の遺伝子を単離した後、本酵素を細胞壁アンカータンパク質であるα-グルチニンと融合して発現させ、酵母細胞表面提示を行った[2]。基質ラミナリンと反応させた後、TLCとHPLCによる分解生成糖の分離検出によりラミナリン分解活性を確認することができた。ラミナリンのグルコースへの完全分解も検討したのでまとめて報告する[3]。

[1] Takagi *et al.*, submitted.

[2] K. Kuroda, M. Ueda, *Biomolecules*, 3, 632-650 (2013)

[3] K. Motone *et al.*, submitted.

Molecular breeding of laminarin-fermenting yeast to utilize macroalgae

○Keisuke Motone^{1,3}, Toshiyuki Takagi^{1,3}, Yusuke Sasaki^{1,2,3}, Kuroda Kouichi^{1,3}, Mitsuyoshi Ueda^{1,3}
 (¹Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ., ²GSAIS (Grad. Sch. Adv. Integ. St.), ³CREST, JST)

Key words laminarin, brown algae, yeast cell wall engineering, *Saccharophagus degradans*

1P-184 可視光応答型銀ナノ粒子光触媒のカビに対する抗菌効果

○深野木 伸太¹, 宮崎 愛¹, 田尻 晋太郎¹, 伊東 謙吾², 田中 賢二¹
 (¹近大院・産理工・生環化, ²伊都研究所)
 tanaka@fuk.kindai.ac.jp

【目的】我々は、銀ナノ粒子(A)・ホウ素樹脂(B)・クレイ(C)から構成される新規な光触媒を開発したが、このABC光触媒は二酸化チタンと異なり可視光や近赤外光の吸収が強いので、屋内でも利用可能な光触媒として期待される。本光触媒のカビに対する抗菌効果と可視光線照射の影響について検証したので報告する。

【方法・結果】抗菌試験は、JIS R1705「ファインセラミックス-光照射下での光触媒抗カビ加工製品の抗カビ性試験方法」を参考に実施した。すなわち、表面を吸着剤でコートしたPETフィルムに光触媒を吸着させ、所定の濃度に調整した *Aspergillus niger* および *Penicillium pinophilum* の胞子液を塗布し、素のPETフィルムを被せ暗所もしくはLED光照射下(照度1000 lx)で8時間放置した。胞子液を回収し、平板培地にて培養後のコロニー形成数を比較することにより胞子の生残率を測定した。本光触媒への暴露により、胞子数は暗所でも2桁以上、可視光照射下ではさらに1桁程度減少することが分かった。光触媒の組成や吸着量、可視光の波長、吸着剤の塗布方法によっては抗菌活性のさらなる向上が見込まれるため、現在それらの影響について検証している。

Antifungal effect of visible light-responsive nanosilver photocatalyst against fungi

○Shinta Fukunoki¹, Megumi Miyazaki¹, Shintaro Tajiri¹, Kengo Ito², Kenji Tanaka¹
 (¹Grad. Sch. Humanity-Oriented Sci. Eng., Kinki Univ., ²Ito Laboratory)

Key words photocatalyst, antifungal, visible light