

2P-125 麹グルコシルセラミドの腸内細菌叢への影響解析

○佐藤友哉¹, 浜島弘史¹, 譚政¹, 光武進¹, 永尾晃治¹, 中山二郎², 北垣浩志¹
(¹佐賀大院・農, ²九州大院)
ktgkhrs@cc.saga-u.ac.jp

麹は味噌、醤油、日本酒などの日本の伝統発酵食品に用いられている。日本では1300年以上の食経験がある伝統食材であり和食の基盤となることから、その機能性を解明することで和食の新たな品質価値を生み出せる可能性がある。我々は、近年、麹がスフィンゴ脂質の一種であるグルコシルセラミド(GlcCer)を大量に含むことを見出した。しかし麹GlcCerの経口摂取時の腸管における代謝や機能性はこれまで研究されていない。そこで、麹GlcCerの腸管における代謝及び腸内細菌への影響を解析した。

麹からGlcCerを粗精製し1%(w/w)の割合で餌に混ぜてマウスに給餌し、排泄された糞を薄層クロマトグラフィー(TLC)を用いて脂質画分を解析した。その結果、糞ではGlcCer含量が顕著に減少していた。このことから、腸管の消化酵素あるいは腸内細菌によって麹GlcCerが吸収あるいは資化あるいは分解されていると考えられた。そこで、次世代シークエンサー MiSeq 及びそれに付属した MiSeqReporter を用いてマウスの糞の菌叢解析を行った。その結果、麹由来の脂質を与えた際にプロテオバクテリア門に属するスフィンゴモナス属細菌等の増加が見られた。スフィンゴモナス属細菌はスフィンゴ脂質を栄養源として生育できる微生物である。これららの結果より、麹GlcCerは腸管でスフィンゴモナス属の微生物を増殖させ、腸内細菌叢を変え、宿主になんらかの影響を及ぼしている可能性が考えられた。

Influence of koji glycosylceramide on the intestinal microbial flora

○Tomoya Sato¹, Hiroshi Hamajima¹, Sei Tan¹, Susumu Mitsutake¹, Kouji Nagao¹, Jiro Nakayama², Hiroshi Kitagaki¹
(¹Grad. Sch. Agric., Saga Univ, ²Grad. Sch., Kyushu Univ)

Key words sphingolipid, intestinal microbial flora, next generation sequencer

2P-126 甘酒製造における混合麹のグルコアミラーゼ活性の変化

○竹藤春香¹, 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)
morita@kitakyu-u.ac.jp

[目的] 甘酒は酒粕甘酒と米麹甘酒に大別され、後者では麹菌である *Aspergillus oryzae* のグルコアミラーゼ(GA)と α-アミラーゼ(α-A)の生産性が重要となる。両酵素の生産性を考えたときに、*Aspergillus* 属菌は一般的に α-A 生産が高い一方で、GA 生産の低さが課題となっている。そこで、これまで日本の麹造りには用いられてこなかった GA 生産が高い菌株として知られる *Rhizopus* 属菌に着目し、本研究では、*Aspergillus* 属菌と *Rhizopus* 属菌の混合培養による GA 活性の増強を目的とし研究を行った。

[実験方法] 原料に精米率 90% の食用米(夢づくし)100 g を用い、使用菌株は *A. oryzae* NBRC 5238 と *Rhizopus oryzae* NBRC 4716 とした。それぞれの菌の胞子懸濁液(終濃度 2.5×10^4 spores/substrate)を蒸米に接種することにより混合培養麹を作製した。

国税庁所定分析法である静置抽出法に従い、滅菌水 50 mL に麹 10 g を加え、3 h 抽出し、ろ紙でろ過したものを、GA 活性を測定した。

GA 活性は可溶性デンプンから 40 °C で 60 min に 1 mg のグルコースを生成する活性を 1 U と定義した。

[結果] 混合培養麹の GA 活性は培養 95 h で最大活性 79 U/g-substrate を示した。しかし、混合培養麹は、*A. oryzae* の純粹培養麹ほどの GA 活性が認められなかつた。次に、GA 活性を増強するために、*A. oryzae* と *R. oryzae* の初発胞子数比による制御を検討し、*A. oryzae* : *R. oryzae* = 200 : 1において培養 95 h で GA が最大活性 180 U/g-substrate を得た。以上の結果より、*Aspergillus* 属菌と *Rhizopus* 属菌の混合培養における酵素生産は、初発胞子数比が影響しており最適な混合比により酵素活性向上が認められた。

Change of glucoamylase activities of Co-culture Kojin in Amazake production

○Haruka Takefumi¹, Jynko Ninomiya¹, Hiroshi Morita²
(¹Dept. Life Environ. Eng., Univ. Kitakyusyu, ²Fac. Environ Eng., Univ. Kitakyusyu)

Key words *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oryzae*, glucoamylase

2P-127 白麹菌を用いた液体培養条件の構築

○井菜々子¹, 三貝咲紀¹, 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)
morita@kitakyu-u.ac.jp

1. 緒言

麹菌の培養方法は、原料に菌の胞子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の胞子を接種する液体培養法がある。しかし、液体培養法では焼酎製造においてアルコール発酵に必要な耐酸性 α-アミラーゼ(Aα-A)の生産性が著しく低く、醸造分野においては多種多量の酵素を生産できる固体培養法が選択されている。そこで本研究では、液体培養法に着目し、米及び麦を培養基質とした牛乳添加した場合における *Aspergillus kawachii* の Aα-A 活性の増強について検討を行った。

2. 実験方法

菌株に *A. kawachii* NBRC 4308 を使用した。この菌株の胞子懸濁液(1.0×10^7 spores/mL)を改変 SLS 液体培地に接種し、30 °C, 200 rpm で 72 時間振とう培養を行った。また液体培地の米粉を粉碎した麦に置換した培地も同様に培養した。培養液を粗酵素液として、Aα-A 活性の測定を行い、1 分間に培養液 1 mL が 1 μmol の CNP を遊離した時を 1 単位(U)として定義し、基質 1 gあたりの酵素活性(U/g-substrate)に換算した。

3. 結果

米粉を培養基質として牛乳を添加した液体培地により *A. kawachii* の培養を行った結果、964 U/g-substrate と高い Aα-A 活性が得られた。また、麦を培養基質とした場合でも 547 U/g-substrate と高い Aα-A 活性が得られた。そこで、Aα-A 生産の増強因子の探索を行った結果、K₂HPO₄ を 1.0 g/100mL 添加した場合で 690 U/g-substrate の高い Aα-A 活性が認められ、牛乳に含まれるリン酸塩が Aα-A 活性向上の起因になっていることが明らかとなった。以上のことから本半合成液体培地を使用した焼酎製造の技術開発が示唆された。

Construction of liquid culture condition of white koji mold

○Nanako I¹, Saki Mikai¹, Junko Ninomiya¹, Hiroshi Morita²
(¹Dept. Life Environ. Eng., Univ. Kitakyusyu, ²Fac. Environ. Eng., Univ. Kitakyusyu)

Key words *Aspergillus kawachii*, liquid culture, saccharification

2P-128 麹菌株群の比較ゲノムとアスピロクロリン生産性

○齊藤亮太, 大田民, 梅尾美幸, 織田健, 岩下和裕
(酒総研)
iwashitact@nrib.go.jp

[背景と目的] 近年、麹菌が生産するアスピロクロリンの合成クラスターが特定された。アスピロクロリンは医真菌のタンパク質の合成を特異的に阻害し、抗生物質として登録されている。これまで麹菌は実験用培地での条件においてアスピロクロリンを生産することが知られていたが、醸造条件下での生産性などの詳細な解析はなされていない。そこで本研究では、麹菌群のアスピロクロリン生産性を生理学的、分子生物学的に明らかにすることを目的とした。

[方法と結果] まず麹菌 RIB40 株においてアスピロクロリン生産条件を詳細に検討した。その結果、生産性は培地の条件で異なり、培養後期に増加した。一方、製麹 2 日目の米麹では生産されなかつた。次に、麹菌株群全体の生産性を検討するために、13 系統の代表株について広く解析した。まず、各麹菌のアスピロクロリン合成クラスターの有無とゲノム配列比較を行つた。その結果、各株が合成クラスターを有していたが、遺伝子やプロモーター領域の配列は異なつた。従つて、麹菌群のアスピロクロリン生産性は異なることが考えられたので、13 系統代表株についてアスピロクロリン生産性を検討した。その結果、菌株により生産性は異なり、内 2 株については生産が見られなかつた。また、製麹 2 日間の米麹では RIB40 株同様、全ての株で生産されなかつた。

[考察] 本研究から、麹菌のアスピロクロリンクラスター遺伝子は生育環境によつて制御されることが考えられた。また、米麹の条件では生産が確認されなかつたことから、実際の醸造条件では生産しないことが推察された。

Comparative analysis of genome sequence and aspirochlorine productivity of *Aspergillus oryzae* strains

○Ryota Saito, Tami Ohota, Miyuki Umeo, Ken Oda, Kazuhiro Iwashita
(NIRB)

Key words *Aspergillus oryzae*, aspirochlorine, comparative genomics