

3P-209 デザインドバイオマスを用いたバイオプロセス開発：カタボライト抑制を回避した高効率連続ブタノール生産系の構築

○木原 隆寛¹, 野口 拓也¹, 田代 幸寛², 酒井 謙二², 園元 謙二^{2,3}
(¹九大院・生資環, ²九大院・農, ³九大・バイオアーク)
sonomoto@agr.kyushu-u.ac.jp

【目的】リグノセルロース系バイオマスを用いたバイオプロセスでは、グルコース (G) がキシロース (X) の消費を抑制するカーボンカタボライト抑制 (CCR) を誘発する。我々は G の代わりにセロビオース (C) と X の混合糖を用いて回分・流加培養で CCR を回避したブタノール生産を報告した¹⁾。また、X を用いた高密度連続ブタノール生産を報告したが²⁾、混合糖による連続生産に関する報告はない。そこで本研究では、混合糖 (GX または CX) を用いた連続ブタノール生産を検討した。

【方法・結果】使用菌株には *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 を用いた。各 30 g/L の混合糖 (GX, CX) を用いて希釈率 0.10-0.35 h⁻¹ で連続培養を行った。その結果、GX では、X の消費が抑制されたが、CX では、CCR を回避した連続培養に成功した。また、希釈率 0.15 h⁻¹ で最大ブタノール生産性は回分培養の 1.9 倍増加した (0.74 g/L/h)。さらに、中空糸膜を用いた高密度連続培養を行い、希釈率 0.68 h⁻¹ でブタノール生産性は 5.50 g/L/h まで上昇し、従来比 7.4 倍の生産性向上を達成した。

Development of bioprocess with designed biomass: Establishment of highly efficient continuous butanol production without carbon catabolite repression from mixed sugars

○Takahiro Kihara¹, Takuya Noguchi¹, Yukihiro Tashiro², Kenji Sakai², Kenji Sonomoto^{2,3}
(¹Grad. Sch. Bioresour. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ., ²Fac. Agric., Kyushu Univ., ³Bio-Arch., Kyushu Univ.)

Key words butanol, mixed sugars, continuous culture, carbon catabolite repression

3P-210 バクテリアナノファイバータンパク質 AtaA を用いた微生物固定化の有用性の実証

○小原 優季, 石川 聖人, 中谷 肇, 堀 克敏
(名大院・工)
khorii@nubio.nagoya-u.ac.jp

微生物触媒を用いるバイオプロセスにおいて、より安定的、かつ効率的なプロセスを構築するために微生物触媒の固定化は重要である。今日、最も利用されている微生物固定化法であるゲル包括法は、反応物質の拡散律速やゲル担体の脆弱性が問題であった。

Acinetobacter Trimeric Autotransporter Adhesin (AtaA) は、ガラスやポリスチレン、ステンレス表面等の様々な材料表面に対する高い接着性と自己凝集性を併せ持つナノファイバータンパク質である (Ishikawa et al., PLoS ONE., 2012, 7(11): e48830)。本研究の先行研究において、*ataA* を *Acinetobacter* ADP1 株に導入し、高い接着性を付与する事に成功している。そこで本研究では、*ataA* を発現させた ADP1 株を用いて、微生物固定化における AtaA の有効性の評価を行った。ADP1 細胞の固定化は、スチールウール、ヘチマ、ポリウレタン、ガラスウールの 4 種の固定化担体と菌懸濁液を同時に浸透することによって行った。AtaA を提示した ADP1 細胞は、本手法によって上記の各担体に固定化することに成功した。特にガラスウールに対して固定化された細胞密度は最大で 100 mg/cm³ 以上であった。さらに、ADP1 細胞の固定化担体を触媒として、繰り返し反応に供したところ、その活性を維持し続けた。

これらの結果から、AtaA を用いた微生物固定化は従来の固定化法と比べ、担体の材質を選ばない汎用性の高い固定化技術として期待される。

Demonstration of the effectiveness of microbial immobilization using the bacterial nanofiber protein AtaA

○Yuki Ohara, Masahito Ishikawa, Hajime Nakatani, Katsutoshi Hori
(Grad. Sch. Eng., Nagoya Univ.)

Key words microorganism immobilization, adhesion, bacterionanofiber

3P-211 接着性ナノファイバータンパク質 AtaA を介した微生物付着の阻害物質についての検討

○松田 祐毅, 吉本 将悟, 小原 優季, 古市 吉秀, 堀 克敏
(名大院・工)
khorii@nubio.nagoya-u.ac.jp

【背景・目的】

Acinetobacter sp. Tol 5 株は細胞表層に存在する三量体型オートトランスポーターアドヘシン AtaA を介して、強い自己凝集性と様々な材質表面に対する高い付着性を示す。当研究室の先行研究では、他の微生物に AtaA を生やすことで付着性を付与し、担体へ微生物を直接、強固に固定化する技術の開発に成功している。しかし、LB 培地などの天然物を含む培地条件下では AtaA による微生物細胞付着が阻害されることが分かったため、実際にバイオプロセスへ応用する上でさらなる条件検討が必要となった。そこで本研究では、培地成分による AtaA の接着阻害効果およびその固定化プロセスへの利用について検討した。

【方法・結果】

培養した Tol 5 細胞を、糖や有機酸、アミノ酸などの検討物質の溶液に懸濁し、ポリスチレン製の 96 穴プレート上で 2 時間静置後、付着した細胞をクリスタルバイオレット染色により定量した。また、共焦点レーザー顕微鏡を用いて検討物質による菌体のガラスプレートへの付着阻害の様子を観測した。また、*ataA* を *Acinetobacter* 属の ADP1 株に導入して AtaA を発現させ、同様に付着試験を行った。これらの実験の結果、Tol 5 と ADP1 の両方でカザミノ酸や乳酸ナトリウムで顕著な付着阻害効果がみられたことから、AtaA の付着機能を阻害させることがわかった。この特性を使うことで、AtaA によるポリウレタン担体への菌体固定化は、阻害物質を添加するだけで容易に制御できると期待される。

Examination of inhibitors of bacterial adhesion mediated by the adhesive nanofiber protein AtaA

○Yuki Matsuda, Shogo Yoshimoto, Yuki Ohara, Yoshihide Huruichi, Katsutoshi Hori
(Grad. Sch. Eng., Nagoya Univ.)

Key words immobilized bacteria, *Acinetobacter*, adhesion, bacterionanofiber

3P-212 Photodynamic antibacterial activity of curcumin using nano-lipid vehicles

○Chi-Hsien Liu, Wei-Shiou Lee, Bishakh Rout
(Inst. Biochem. Biomed. Eng., Chang Gung Univ., Taiwan)
chl@mail.cgu.edu.tw

Curcumin is a potent photosensitizer that reacts with surrounding oxygen and matrix, sequentially generates singlet oxygen and reactive oxygen species (ROS) to inhibit the bacterial growth after irradiated by blue light. However, the low water solubility causes its aggregation and limits its photodynamic applications. In this study, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* are chosen to evaluate the photodynamic effect of curcumin by using the blue light emitting diodes. The major ingredients of microemulsion (ME) are composed of Tween80, propylene glycol, water, and geraniol. Our results show that geraniol ME could play a good role of dispersing curcumin, and encapsulation efficiency is near 96.53%. Depending on confocal images, curcumin in geraniol microemulsion (CME) increases fluorescence intensity 14 times higher than the one with pure curcumin. In the bacterial inhibition test, 5ppm CME exhibits 60% inhibition with the blue light irradiation for *Pseudomonas aeruginosa*, and 10ppm CME causes 74.53% inhibition. After combining EDTA, it enhances inhibition in both bacterial strains. Five ppm curcumin in CME combining with 31.25ppm EDTA with light irradiation will show 100% inhibition for *Pseudomonas aeruginosa*. Also the CME (containing 5 ppm curcumin) mixed with 250ppm EDTA will increase up to 73.59% inhibition for *Staphylococcus aureus*. In SEM images, the bacterial morphology treated by CME became irregular. According to these results, CME combining EDTA under the blue light condition is a potential way to inhibit the bacterial growth.

Photodynamic antibacterial activity of curcumin using nano-lipid vehicles

○Chi-Hsien Liu, Wei-Shiou Lee, Bishakh Rout
(Inst. Biochem. Biomed. Eng., Chang Gung Univ., Taiwan)

Key words curcumin, antibacterial, photodynamic, microemulsion