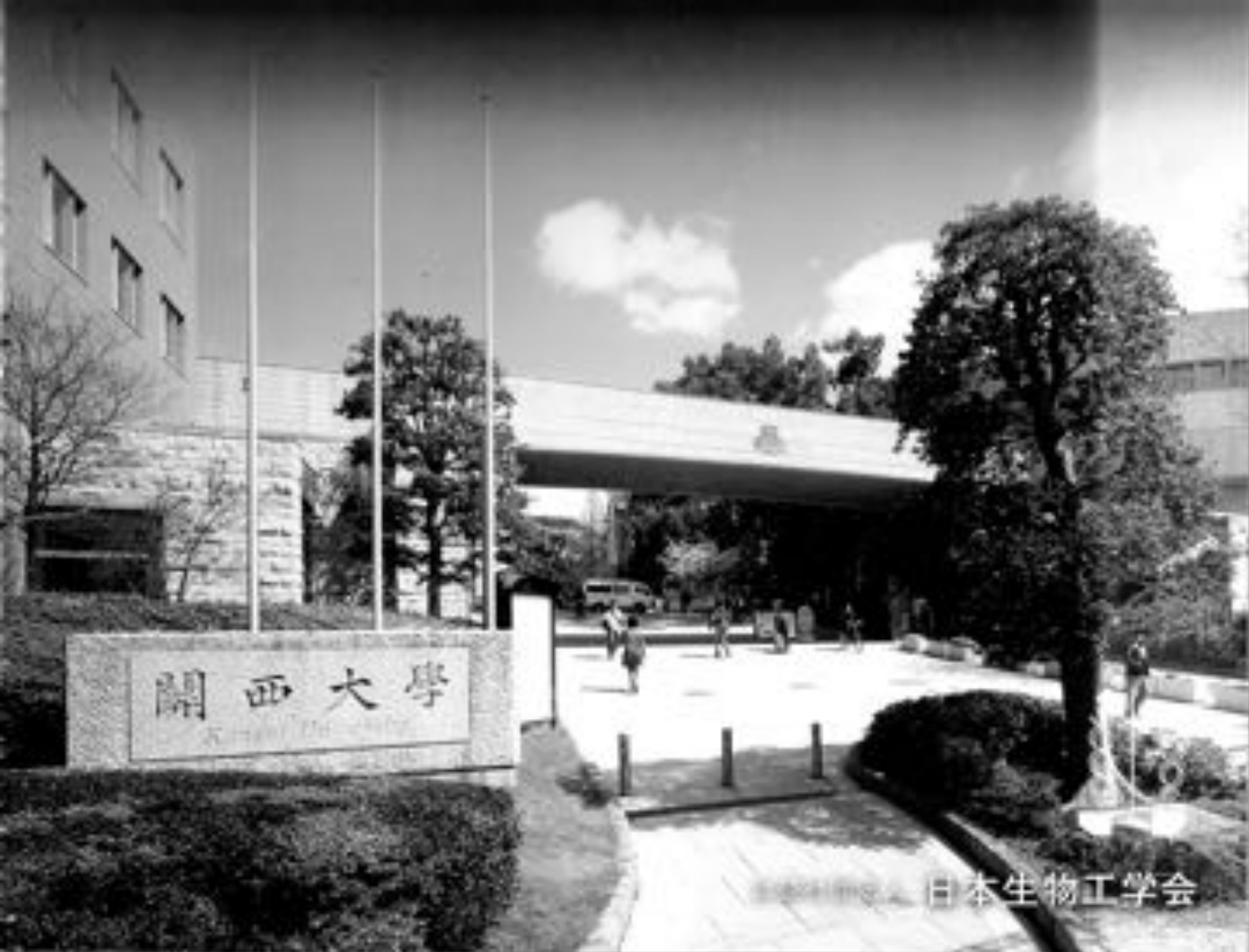


第70回(平成30年)
日本生物工学会大会
講演要旨集

会期 2018年9月5日(水)～7日(金)

会場 関西大学 千里山キャンパス



2Ep06 *Streptococcus zooepidemicus* によるヒアルロン酸生産の最適化

○小川 愛未¹, 小野 聡子², 成田 琴美³, 武内 章³, 山崎 思乃², 片倉 啓雄²
(¹関西大院・理工,²関西大・化生工,³キューピー)
katakura@kansai-u.ac.jp

【背景と目的】ヒアルロン酸は保水力を持ち、眼球治療や関節治療などに利用されている。また、ヒアルロン酸は加齢とともに減少することが分かっており、近年では、アンチエイジングへの関心から、化粧品やサプリメントへの需要も高まっている。ヒアルロン酸は従来、動物組織より抽出されていたが、経済性の観点から近年では微生物による生産が主流となっている。しかし、微生物生産で得られるヒアルロン酸は、動物由来のものと比較すると分子量が低いことが課題となっており、収率の改善も望まれている。ヒアルロン酸合成は炭素源において菌体増殖と競合するため、基質あたりの収率を高めるには菌体増殖を抑制する必要があるとされている。そこで本研究では、アミノ酸を培養途中で枯渇させることで菌体増殖を抑制できるか検討した。

【方法】*Streptococcus zooepidemicus* KK-21 をヒアルロン酸生産菌とした。炭酸カルシウムを添加して、19 種のアミノ酸、5 種の核酸、14 種のビタミン、8 種の無機塩および微量元素、スクロースから成る合成培地 15 mL に対して 0.006 OD unit の菌体を植菌し、36℃、200 rpm で振盪培養した。水酸化ナトリウムで pH 制御を行いながら培養し、OD₆₀₀、ヒアルロン酸の濃度および分子量を測定した。【結果と考察】培地中のフェニルアラニン濃度が 0.14 g/L である場合、OD₆₀₀ は 3.9 に達したのに対して、0.012 g/L とした場合、OD₆₀₀ は 1.4 に制限できた。増殖停止以降のヒアルロン酸増加速度はそれぞれ、0.10 および 0.28 g・g-cell⁻¹・h⁻¹ となり、菌体濃度を制限することによってヒアルロン酸の比生産速度が増加することが分かった。今後、ヒアルロン酸濃度が高まっても十分に攪拌できるようにジャーファーマンターを改良するとともに、その酸素供給能力に合わせて菌体濃度を制限することで、ヒアルロン酸の高効率生産を検討していく。

Optimization of hyaluronic acid production by *Streptococcus zooepidemicus*

○Ami Ogawa¹, Satoko Ono², Kotomi Narita³, Akira Takeuchi³, Shino Yamasaki-Yashiki², Yoshio Katakura²
(¹Grad. Sch. Sci. Eng., Kansai Univ., ²Fac. Chem. Mater. Bioeng., Kansai Univ., ³Kewpie Co.)

Key words *Streptococcus zooepidemicus*, hyaluronic acid, specific production rate, phenylalanine

2Ep07 新規殺菌剤過硝酸を用いたノロウイルスモデルの不活化

○小豆澤 友希¹, 井川 聡², 北野 勝久³, 座古 保¹
(¹愛媛大院・理工,²大阪府立産技総研,³阪大院・工)
zako.tamotsu.us@chime-u.ac.jp

【背景と目的】

ノロウイルスは食中毒の原因の約半数を占め、その制御は食中毒対策上の重要な課題である。ノロウイルスはエンベロープを持たないウイルスであるため、薬剤の耐性が強く、不活化が困難である。そのため有用な薬剤の開発が求められている。

我々はこれまでに、大気圧低温プラズマを水に照射したプラズマ処理水を用いた殺菌実験を進め、殺菌有効成分が過硝酸 (HOONO₂, PNA: peroxyntic acid) であることを明らかにし、PNA による殺菌という世界初の技術の開発に至った。150 μM の PNA にて大腸菌の殺菌実験を行ったところ、30 秒で菌数を 10-6 以下にできるなど、PNA は非常に高い殺菌力を有していることが明らかになっている。また、生体への安全性も動物実験による検証が進んでいる。そこで本研究では、PNA がノロウイルスに対しても有効かを、ノロウイルスのモデルとして一般的に用いられるネコカリシウイルス (FCV) を用いて評価した。

【方法および結果】

酸性条件下において過酸化水素と亜硝酸より PNA を合成した。PNA の半減時間および反応速度 (殺菌力) は温度と pH に依存するため、FCV を不活化する際の溶液は 25℃, pH3.0 に固定した。またウイルス液から PNA を取り除くのは困難であるため、一定時間経過後、高濃度のタンパク質を含む培地と混合することで PNA を瞬時に失活させ、不活化効果を停止させた。FCV の感染価は、50% の細胞が FCV 感染による形態変化を起こすウイルス濃度を求める 50% Tissue Culture Infectious Dose 法にて算出した。合成した PNA の原液 (1M) を 1 万倍希釈した 100 μM の溶液で FCV を不活化処理したところ、10 秒間で感染価を 4 桁減少させることができた。今後、様々な角度から有用性の検討を行っていく予定である。

Inactivation of Norovirus model using novel disinfectant, Peroxynitric acid

○Tomoki Azukizawa¹, Satoshi Ikawa², Katsuhisa Kitano³, Tamotsu Zako¹
(¹Grad. Sch. Sci. Eng., Ehime Univ., ²Tech. Res. Inst. Osaka Pref., ³Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.)

Key words Peroxynitric acid, Disinfectant, Feline calicivirus, Norovirus model

2Ep08 ナノバブルと超音波と組み合わせた効率的な殺菌手法の開発

○細井 啓貴¹, 廣部 綾乃¹, 高橋 憲司¹, 仁宮 一章²
(¹金沢大院・自科,²金沢大・新学術)
ninomiya@se.kanazawa-u.ac.jp

【目的】超音波を液中に照射すると、液中の気体分子に正・負の圧力が交互にかり、気泡が数 μm~100 μm 程度に圧縮・膨張を繰り返すなかで、圧縮時の高い圧力の限界でマイクロバブル気泡がはじけ、「衝撃波」や「局所的な高温高圧場」が生じる。これを超音波キャビテーションという。この際「衝撃波による物理的作用」、「局所的な高温高圧場における水の熱分解で生じる OH ラジカルによる化学的作用」が生じる。一方、近年、10~100 nm サイズの微細な気泡であるナノバブルが注目を集めている。この「ナノバブル」は、1 μm サイズ以上のマイクロバブルと異なり、水中で準安定的に存在する。このナノバブルが、超音波キャビテーション発生の核になるのではないかとという作業仮説を立てた。そこで、ナノバブルと超音波の組み合わせにより、超音波キャビテーションの際の「衝撃波による物理的作用」、「局所的な高温高圧場における水の熱分解で生じる OH ラジカルによる化学的作用」を相乗的に増大させることで、環境負荷のない効率的な水質浄化を行う手法の開発を行った。

【方法および結果】「操作変数」は、A)超音波照射条件 (周波数 38 もしくは 1600 kHz, 強度) および B)ナノバブル濃度とした。「評価項目」として、ナノバブル粒径分布・濃度、OH ラジカル、大腸菌生存率の経時変化を評価した。超音波照射はソノリアクターを用い、照射強度については、カロリメトリ法を用いて評価・設定した。ナノバブル水調整は、巡回液流出式ナノバブル製造装置を用い、ナノバブルの粒径分布および濃度は、Nano Tracking Analysis 法により測定した。OH ラジカルは Aminophenyl Fluorescein を用いて検出した。殺菌試験は、大腸菌のコロニーカウントを行った。ナノバブルと超音波の組み合わせにより、OH ラジカルの生成や殺菌効率は相乗的に向上する現象が見出された。

Disinfection process by combined use of nanobubble and ultrasound

○Hiroki Hosoi¹, Ayano Hirobe¹, Kenji Takahashi¹, Kazuaki Ninomiya²
(¹Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Kanazawa Univ., ²Ints. Frontier Sci. Initiative, Kanazawa Univ.)

Key words disinfection, nanobubble, ultrasound

2Ep09 ABC 光半導体の暗所での殺菌作用における遮光後放電による影響の可能性

○辻塚 誠一郎¹, 宮本 樹里¹, 俗多 秀美¹, 伊東 謙吾², 田中 賢二¹
(¹近大・産理工,²伊都研)
tanaka@fuk.kindai.ac.jp

【目的】伊都研究所が開発した平板状銀ナノ粒子 (AgNPL, ボロン樹脂(B), クレイ(C)で構成される ABC 光半導体は、可視光や近赤外光照射により起電力を生じる。また、有機溶媒中での分散と安定性に優れ、物体表面への塗布による薄膜化が容易である。ABC 光半導体は、これらの光照射下で細菌やカビ胞子に強い抗菌作用を示す。また、いわゆる光触媒とは異なり、暗所でも抗菌作用を示す。暗所での抗菌は、銀成分である AgNPL の抗菌力に由来すると考えられてきたが、他の B、C 成分を無くすと抗菌力が顕著に低下することや、暗所での抗菌力は試験前操作における照明の影響を強く受けることがその後明らかになった¹⁾。このため、本光半導体では、光照射で発生した電気が蓄積されその後放電されることによる殺菌が起きているのではないかと考え、抗菌試験実施前の本半導体への光照射の影響について検証した。

【実験】ABC 光半導体の希薄液を PET フィルムに塗布・固定化させて試験片を作成し、これに大腸菌の菌液をマウントし、素の PET フィルムを被せ 30℃で 8 時間放置することにより抗菌処理した。試験片上の菌液を回収し平板培地で培養しコロニー数を比較することで抗菌活性を評価した。コロニー数以外の操作は全て暗所で実施した。

【結果】抗菌処理前に暗所で長時間保存した試験片と白色 LED (1000lx) を照射した試験片について抗菌活性を比較したところ、暗所保存したものでの活性は非常に弱かったが、光を 30 分間事前照射した試験片ではある程度の活性増加が見られた。さらに 24 時間の事前照射では高い抗菌活性が認められた。この結果は、ABC 光半導体では遮光後もしばらくの間は放電が続くことも一致する。参考文献¹⁾ 辻塚ら。第 69 回日本生物工学会大会講演要旨集 P241, 2017 年

Investigation on antimicrobial effect of an electric discharge from novel paintable ABC photoconductor after shading visible light

○Seichiro Tsujitsuka¹, Juri Miyamoto¹, Hidemi Muta¹, Kengo Ito², Kenji Tanaka¹
(¹Fac. Humanity-Oriented. Sci. Eng., Kinki Univ., ²Ito Lab.)

Key words antibacterial, photoconductor, silver nanoplate