



# 酢酸菌 *Gluconacetobacter europaeus* による 分岐鎖アミノ酸の生産

(生物工学会誌, 第90巻, 第7号, 374-380, 2012)

赤坂 直紀<sup>1\*</sup>・佐古田久雄<sup>1</sup>・藤原 伸介<sup>2</sup>

酢酸菌は古くから食酢の製造に用いられてきた微生物であり、酵母や乳酸菌、コウジカビなどと同様に、食生活に密接に関連した身近な微生物であると言える。酢酸菌は、細胞膜結合型脱水素酵素によるエタノール酸化と電子伝達系を連動させる事で効率的にエネルギーを獲得し、その副産物として、食酢主成分である酢酸を外部環境中へ蓄積する。このように酢酸菌は、通常細胞毒となりうるエタノールや酢酸の存在下でも旺盛な生育が可能である。中でも、バイオリアクターによる食酢生産で主力を担う *Gluconacetobacter europaeus* は特に高いエタノール酸化能力、および酢酸耐性を有しており、最大20%の酢酸にも耐性を示す。これら諸特性に依り、閉鎖系を用いずとも雑菌汚染の抑止が可能であり、発酵工程管理が容易となる。これは、微生物による物質生産を検討する上できわめて大きな利点であると考えられる。

食酢は調味料としてだけでなく、健康食品としても広く認知されている。近年、その健康増進機能の詳細な機序が解明され、市場には種々の食酢飲料が流通している。一方で、食酢以外の物質生産<sup>1)</sup>や農業面での応用<sup>2)</sup>など、酢酸菌の新たな可能性も模索されている。これらの背景、および上記物質生産における利点を鑑み、筆者らは *Ga. europaeus* を用いた分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acid, BCAA, バリン, ロイシン, イソロイシン) 生産の可能性を検討した。BCAAは栄養学的必須アミノ酸であるだけでなく、特にロイシンは糖新生の抑制や脂質酸化亢進作用など、生活習慣病諸症状を低減・

緩和する機能を有する事が明らかにされている<sup>3)</sup>。したがって、食酢醸造とBCAA生産を両立する事ができれば、健康志向の市場要請に見合う、より高機能な食酢の開発も期待されよう。

コリネ型細菌などを用いた、グルタミン酸発酵に代表されるアミノ酸生産に関しては、先達の先生方の偉大な研究成果が多数報告されており、詳細はそれら論文をご参照頂きたい<sup>4)</sup>。一般に、微生物におけるアミノ酸合成系は、最終産物をシグナルとしたフィードバック制御機構 (律速酵素の活性阻害や転写減衰) によって多重にコントロールされている。したがって、最終産物アナログ耐性を有する変異株を選抜する事で、フィードバック制御機構の欠損した、標的アミノ酸を恒常的に生産する変異株を育種する事ができる<sup>4)</sup>。BCAA合成系における律速酵素アセトヒドロキシ酸シンターゼ (acetohydroxyacid synthase, AHAS) にはI~III型の3種のアイソザイムが存在するが、ゲノム情報から、*Ga. europaeus* はバリンおよびロイシンによりフィードバック制御を受けるIII型AHASを保持する事が示唆された。そこで、米酢より単離された *Ga. europaeus* M0119株に変異原処理を施し、バリンアナログである $\alpha$ -アミノ酪酸 ( $\alpha$ -amino butyric acid, ABA) に耐性を有するABAr1-56株を単離し、同株のBCAA生産能を解析したところ、培養液中にバリンおよびロイシンの蓄積が認められた (図1)。本研究から、酢酸菌を食酢生産以外に利用する新たな可能性を提示できたものと考えられる。また筆者らは、*Ga. europaeus* におけるセルフクローニング法による遺伝子破壊系を既に構築しており<sup>5)</sup>、同手法を用いた遺伝子破壊によりBCAA生産菌の生産機序が明らかになりつつある。

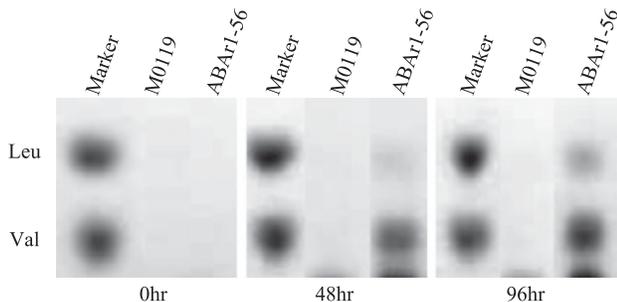


図1. ABAr1-56株のBCAA生産能。ABAr1-56株を最少培地で培養し、培養液上清を薄層クロマトグラフィーにより展開した。

- 1) Nakai, T. et al.: *J. Bacteriol.*, **195**, 958 (2013).
- 2) Bertalan, M. et al.: *BMC Genomics*, **10**, 450 (2009).
- 3) Bruckbauer, A. et al.: *Nutr. Metab.*, **9**, 77 (2012).
- 4) 相田浩ら: アミノ酸発酵, 学会出版センター (1986).
- 5) Akasaka, N. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **79**, 7334 (2013).

\* 著者紹介 <sup>1</sup>マルカン酢株式会社 (研究所・研究員) E-mail: akasaka@marukan.com  
<sup>2</sup>関西学院大学理工学部生命科学科