

2009年度日本生物工学会論文賞 受賞論文

J. Biosci. Bioeng., Vol.105, No.3, p.184-191 (2008) に掲載

精密濾過膜とオンライン乳酸コントローラーを備えた 培養システムを用い *Propionibacterium shermanii* による ビフィズス菌特異的増殖促進物質の生産

高屋 朋彰, 飛田 和宏, 堀内 將史, 中山 恵理
出口 央視, 田中 孝明, 谷口 正之

Production of Extracellular Bifidogenic Growth Stimulator(BGS)from *Propionibacterium shermanii* Using a Bioreactor System with a Microfiltration Module and an On-line Controller for Lactic acid Concentration

by Tomoaki KOUYA, Kazuhiro TOBITA, Masahiro HORIUCHI, Eri NAKAYAMA,
Hiroyoshi DEGUCHI, Takaaki TANAKA and Masayuki TANIGUCHI

プロピオン酸菌は、グラム陽性、胞子非形成、非運動性、嫌気性または酸素耐性を有する桿菌であり、数多くの有益な性質と機能を有していることから、乳製品製造に限らず、その他の分野においても利用されている。すなわち、プロピオン酸菌は、各種有用物質（プロピオン酸、ビタミン B₁₂、ビタミン K、バクテリオシンなど）の生産に利用されている。また、腸内腐敗菌の増殖抑制、生体に有害な酵素活性（ β -glucuronidase, azoreductase, nitroreductase）の抑制、乳糖不耐症の改善などのプロバイオティクス効果を示す微生物として利用することが検討されている。さらに、金子らは、スイスタイプチーズ（エメンタルチーズ）のスターターとして古来より利用されてきたプロピオン酸菌（*Propionibacterium*

freudenreichii ET-3）が、極めて微量でビフィズス菌の増殖を特異的に促進させる物質（Bifidogenic Growth Stimulator, BGS）を産生することを報告しており、既にこの成分を含む商品が市販されている。これまで、ビフィズス菌の増殖を促進するキノン系物質として、1-hydroxy-2-naphthoic acid や 2-amino-3-carboxy-1,4-naphtha-quinone (ACNQ) が知られていたが、プロピオン酸菌の生産する BGS の主成分は、1,4-dihydroxy-2-naphthoic acid (DHNA) であることが報告された。

著者らは、既に BGS 生産菌として報告されている *P. freudenreichii* 以外に、これまでにグルコースを炭素源として BGS を生産するプロピオン酸菌の選抜を行い、数種類のプロピオン酸菌が数～数十 mg/L 程

度の DHNA を生産することを報告している。そこで本研究では、これらのプロピオン酸菌の中からビタミン B₁₂ 生産菌としても知られている *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* PZ-3 を用いて、著者らが開発した精密濾過膜とオンライン乳酸コントローラーを組み合わせた培養システムによる BGS の効率的生産方法について検討した。

この培養システムの特徴として、以下の3点が挙げられる。

- ①精密濾過膜によって、プロピオン酸菌の増殖や BGS 生産に対して阻害作用を示す代謝産物（プロピオン酸や酢酸）を除去することが可能である。
- ②精密濾過膜によって、増殖したプロピオン酸菌をバイオリクターシステム内に循環させ、高濃度化することが可能である。
- ③オンライン乳酸コントローラーによって、バイオリクター内の炭素源（乳酸）をプロピオン酸菌の増殖や BGS 生産にとって最適な濃度になるように、フィードバック制御することが可能である。

これらの特性をすべて備えた本システムを用いて、BGS の連続生産を行った。炭素源である乳酸を低濃度に維持しつつ、代謝産物であるプロピオン酸や酢酸を除去しながら BGS を生産することに成功した。本システムを用いることによって、従来の濾過培養システムにおいて問題であった使用培地量の増大を回避することができた。この培養による BGS 生産を、従来の回分培養、精密濾過膜を備えた培養システム、および乳酸濃度をコントロールした従来の流加培養による BGS 生産と比較した。その結果、培養時間あたりの生産性および使用した総培地量あたりの生産性は、大幅に向上し、回分培養の値と比較して、それぞれ37倍および2.1倍高くなった。

以上のように、本バイオリクターシステムは、BGS の生産において非常に有用であった。また、本システムは BGS の生産ばかりでなく、種々の有用物質の生産手段として使用することが可能であると考えられる。今後、本システムの汎用性・応用性について検討したいと考えている。