

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
FS ステージ シーズ顕在化タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	: LNB 製造に必須な酵素を高生産するビフィズス菌の育種技術の開発
プロジェクトリーダー	: 森永乳業(株)
所属機関	
研究責任者	: 北岡本光 (農業・食品産業技術総合研究機構)

1. 研究開発の目的

二糖 LNB は母乳中のビフィズス菌増殖因子として作用していることが考えられており、食品用途 LNB 製造法を開発することにより健康に資する新規食品素材を提供できることが期待される。LNB は大腸菌により遺伝子組み換え酵素として製造されるビフィズス菌由来の 4 種の酵素を同時に作用させることによりスクロースと GlcNAc から効率的に製造できることはすでに研究責任者らが報告していた。これらの酵素をビフィズス菌そのものの培養により効率的に調製することが可能になれば遺伝子組換え酵素の使用を回避した LNB の製造法が開発できるものと期待される。4 酵素のうち GLNBP の生産性が最も低いことがわかっている。そのため、通常の突然変異導入法により GLNBP 高生産性ビフィズス菌を選抜し、実用的な GLNBP 高生産性培養技術を開発することを研究の目的とした。

2. 研究開発の概要

①成果

実用ビフィズス菌株 MCC135 株の突然変異導入による GLNBP 高生産性変異株の取得を目指し、効率的なハイスループットスクリーニング法を確立した。プロジェクト期間中 21,000 コロニーの GLNBP 生産性を評価したが、残念ながら MCC135 変異株の中から十分な GLNBP 生産性を示す変異株は取得できなかった。既に取得済みであった基準株である JCM1217 由来の GLNBP 高生産変異株 GLN-1 ヘリボソーム変異を導入することにより更に GLNBP 生産性を向上させた RR1-15 株の取得に成功した。従来工業培地で良好に生育しない JCM1217 系の変異株が pH 制御培養を行うことにより良好に生育するを見だし、最終的に工業培地を用いて目標値の 2 倍を上回る 240 U/L の GLNBP 生産性を達成した。

研究開発目標	達成度
①スクロースを炭素源とした培地で GLNBP を高発現する実用ビフィズス菌の変異株を取得する。実験室培地を用いて 50 U/L 以上の生産性を目標とする。	①実用ビフィズス菌の変異によつての GLNBP 高生産性変異株の取得は成功しなかった。基準株由来 GLNBP 高生産変異株のリボソーム変異導入による GLNBP 生産性の高い変異株の取得には成功した。
②変異株の培養条件を検討し、100 U/L 以上の GLNBP 生産性を達成する。	②基準株由来の GLNBP 高生産性変異株を用い pH 制御培養を行うことにより 200 U/L 以上の GLNBP 生産性を達成した。
③工業用培地を用い、2L 以上のスケールで 100 U/L 以上の GLNBP 生産性を達成する。	③工業用培地で pH 制御培養を行うことにより、2L の培養で 240 U/L の GLNBP 生産性を達成し、57 U/g の GLNBP を含有する乾燥菌体 7.8 g を得た。

②今後の展開

今回の検討では GLNBP の高生産性は達成したが、それにより LNB が効率的に作れることの検証には至らなかった。そのため食総研で1年程度かけて高生産性の可能性を検討し、その達成状況により今後の判断をする。今回取得した変異株を用いて、効率的に LNB を合成することを確認できれば、食品グレードの LNB の工業生産および食品利用にチャレンジし、場合によっては別の製造企業を探して再開を検討する。

3. 総合所見

シーズの顕在化にむけて十分な目標の達成が得られている。今後、企業化に向けて得られた GLNBP 生産性の高い変異株の高機能性の証明が重要である。

以上