

平成22年4月1日現在

研究種目：若手研究（B）  
研究期間：2008～2009  
課題番号：20780054  
研究課題名（和文）南極に生息する好冷性細菌の生理機能解析と機能性食品デザインへの応用  
研究課題名（英文）Characterization and Application of psychrophilic bacteria in Antarctica to design of functional foods  
研究代表者  
麻生 祐司（ASO YUJI）  
島根大学・教育学部・准教授  
研究者番号：70380590

研究成果の概要（和文）：本研究では、南極から好冷性菌を分離し、発酵スターターとして低温順応型発酵食品の開発に利用するとともに、好冷性菌由来の好冷性酵素による食品物性の改善に向けた研究を行うことを目的とした。好冷性乳酸菌の分離源として、主に昭和基地周辺から魚類・ヒトデ・ウニ・コケ類などを採取し、集積培養した。日本において、集積培養液を液体培地および平板培地を用いて4℃で長期培養を行ったところ、いくつかの集積培養液サンプルにおいて、菌の生育が確認された。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study, therefore, is to design the fermented foods that are adaptable to low temperature, using psychrophilic bacteria isolated from Antarctica as starters, and to improve the physical properties of foods by using psychrophilic enzymes produced by psychrophilic bacteria. Bald rockcods, starfishes, sea urchins, and moss isolated from the surrounding area of Syowa Station mainly sampled as sources of psychrophilic bacteria were followed by enrichment culture. In Japan, the media inoculated with the enrichment samples were incubated at 4 °C for more than one week, we could confirm bacterial growth in some samples.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：極限微生物、乳酸菌、南極、機能性食品、スクリーニング

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 極限微生物は、極めて過酷な自然環境に適応し生育するための優れた生理機能を有しており、通常的环境下で生育する生物には見られない特殊な性状（好熱性、好塩性、好酸性、好アルカリ性、好圧性など）を示す。これまでに、様々な極限環境に適応した種々の極限微生物が分離され、その生理機能が解析されてきた。高度好熱性細菌 *Thermus aquaticus* 由来の耐熱性酵素 Taq DNA polymerase の発見がPCR技術を可能にした事例を代表とするように、極限微生物の産業利用に関する研究は、現代のライフサイエンス産業を大きく進展させる革新的な結果をもたらした。つまり、極限微生物は極めて高い産業価値を有しているといえる。現在でも、様々な環境からの極限微生物の分離が試みられており、分離菌の機能解析ならびに産業利用に向けた研究開発が世界中で盛んに行われている。

(2) ところで、極地は地球上において最も広大な極限環境を形成している特殊な地域である。特に、南極は多様な生物種に富み、極低温環境において独自の生態系が安定的に形成されている。しかし、南極の生態系についての知見は少なく、新規な生理機能を有した生物の存在が示唆されている。0°C以下増殖できる細菌のうち、生育限界温度が20°C前後で最適生育温度が15°C以下のものを好冷性細菌とよぶ。これまでに、南極沿岸の海水や南極土壌から種々の好冷性細菌が分離され、その生理機能の解析が行われた。その結果、好冷性細菌の産生する多くの酵素は0°C付近で最大活性を示すことが明らかとなり、現在、低温反応を要求する酵素工業への利用に向けた研究が盛んである。さらに、それら好冷性酵素のアミノ酸配列は耐熱性酵素のそれと高いホモロジーを示すことから、タンパク質の分子進化を知る上で重要な研究ターゲットとなっている。また、好冷性細菌は細胞膜構成脂肪酸の不飽和度を増大させ細胞膜の流動性を保ち、低温環境に適応しているなど、好冷性細菌に特有の生理機能が徐々に明らかにされつつある。このように、極限微生物である好冷性細菌は一般の細菌とは異なる優れた生理機能を有しており、基礎および応用研究の面から極めて有用な生物資源であるといえる。しかしながら、現在までに分離された好冷性細菌の多くは増殖速度が一般細菌と比べ極めて遅く、また、そのような特殊な細菌の生息する分離源も入手困難なことから、全く新しい機能を有した好冷性細菌の多くが未だ手つかずの有用生物資源として南極に生息していると容易に推察

される。それらの中には、現在の食品デザインの在り方を劇的に変化させる可能性を持つものが存在していると想定される。

(3) 現代は飽食の時代を迎え、食品の持つ生体調節機能を追及する時代である。そのため、多くが普段の食事を通して生活習慣病を予防・改善するような食品の登場を強く望んでいる。また近年、食のバリアフリーを目指して、全ての人々が安心して美味しく食べることのできるユニバーサルデザインフードの開発が盛んであり、新しい機能性を有した食品デザインが求められている。一方、現在の食品製造・流通プロセスにおける問題点として、発酵食品を長期低温保存すると微生物の生理活性が著しく低下すること、また、微生物の生産する有用酵素の食品産業への利用展開が十分でないことなどが挙げられる。今後、ますます高まるであろう食のニーズに応えていくには、新しい機能を有した好冷性細菌の取得と、好冷性細菌の持つ有用な酵素機能・生理活性機能を積極的に利用した新しいタイプの機能性食品を開発することが重要であると考えられる。

## 2. 研究の目的

世界に先駆けて南極から新しいタイプの好冷性細菌を分離し、その生理機能（培養特性、好冷性酵素生産、抗菌物質生産、生理活性物質生産）を解析することで、好冷性酵素（好冷性アミラーゼ、好冷性プロテアーゼ、好冷性リパーゼなど）による食品の低温物性・風味改善、発酵スターターとした低温順応型発酵食品の開発、低温順応機構を模した低温障害低減食品の開発、新しい生理活性物質を含む食品の開発に向けた研究を行うことを目的とする。本研究は、未だ知見の稀少な好冷性細菌の生理機能を明らかにするとともに、未来型健康長寿社会に向けた新しい機能性食品を世界に先駆けてデザインすることを可能にするものであることから、極めて革新的な結果をもたらす研究である。

## 3. 研究の方法

(1) 栄養源の乏しい南極において、好冷性細菌は動植物に付着・寄生して生息していると考えられる。そこで、第49次南極観測隊に協力依頼して、好冷性乳酸菌の宿主と予想される好冷性生物（魚類 [シヨウワギス、ボウズハゲギスなど]、鮮苔類、地衣類など）を昭和基地周辺より取得した（図1）。これらを昭和基地内にて一般細菌用培地（GM）および乳酸菌用培地（MRS）に接種し、低温条件（4°C）

で好冷性細菌を集積培養した。



図1 南極昭和基地内での魚類からの好冷性細菌の分離

(2)分離した好冷性細菌の培養特性（至適培養温度・pH、培養培地）を解析した。また、各種栄養源を培養培地に添加し、増殖に与える影響を調べることで、好冷性細菌の生育促進物質の探索を行い、好冷性細菌の培養効率化を試みた。

(3)食品産業上有用と考えられる好冷性酵素（好冷性アミラーゼ、好冷性プロテアーゼ、好冷性リパーゼなど）生産菌のスクリーニングを行った。分解基質として、可溶性デンプン、スキムミルク、トリブチリンを用いる。また、抗菌物質として低温機能型バクテリオシン生産菌のスクリーニングを行った。好冷性細菌を検定菌としたバイオアッセイ法（direct 法、agar diffusion 法）を試みた。

#### 4. 研究成果

(1)集積培養液において濁度が確認されたものをグリセロールストックし日本に冷凍輸送した。日本において、集積培養液を GM お

よび MRS 液体培地を用いて 4℃で長期培養を行ったところ、いくつかの集積培養液サンプルにおいて、菌の生育が確認された。さらに、得られた培養液を GM および MRS 平板培地にプレーティングし 4℃で長期培養を行ったところ、乳酸菌の特徴を有するコロニーを数個得た（図2）。



図2 ショウワギスより分離した好冷性乳酸菌のコロニー（4℃、10日間培養）

(2)得られた単離株の好冷性アミラーゼ、好冷性プロテアーゼ、好冷性リパーゼなど好冷性酵素生産能およびバクテリオシン生産能を調べたが、いずれの単離株もその性質を示さなかった。しかし、得られた単離株は低温でも優れた増殖を示したことから、従来とは異なる産業的価値を有した株であることが示唆された。今後、分離した好冷性細菌の持つ有用な酵素機能・生理活性機能を積極的に利用した新しいタイプの機能性食品の開発を進めていく予定である。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計0件）

〔学会発表〕（計0件）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.ipc.shimane-u.ac.jp/human\\_life/aso/index.htm](http://www.ipc.shimane-u.ac.jp/human_life/aso/index.htm)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

麻生 祐司 (ASO YUJI)  
島根大学・教育学部・准教授  
研究者番号：70380590