

鳥取県環境学術研究等振興事業費補助金研究実績報告書

研究期間（ 3年目/ 3年間）

研究者 又は 研究代表者	氏名	(ふりがな) おかもと けんじ 岡本 賢治
	所属研究機関 部局・職	鳥取大学大学院工学研究科化学・生物応用工学専攻 准教授 電話番号 0857-31-5276 電子メール okamoto@bio.tottori-u.ac.jp
研究課題名	ごみの減量および資源のリサイクルを目的とした発酵担子菌による廃棄物由来のエネルギー回収技術の開発	
研究結果	<ul style="list-style-type: none"> ・ジャーファーメンターを用いた食品廃棄物の発酵を行い、含有糖あたり6割前後の収率を示した。ジャー培養において発酵を促進させるためには、まず通気と攪拌によって菌糸体を増殖させることが重要で、この時点で糖を多く消費したためにフラスコの場合と比べて収率が低くなってしまったと考えられるが、改善の余地はまだある。 ・大量発酵条件のさらなる改良に向け、菌糸体の増殖が良好でかつ発酵能の高い担子菌のスクリーニングを行った。その結果、従来用いていたカワラタケよりも好気培養下で有効なエタノール変換を示す菌株を新たに見出した。 ・未利用バイオマスの探索の一環として、ブナ科植物の果実であるドングリに着目し、発酵原料としての検討を行った。外皮を剥き、子葉そのままの状態、子葉を粉末状にしたものを対象に発酵試験を行ったところ、微粉末の区分で最も良好なエタノールへの変換が認められた。この際、酸や酵素は用いていない。また、ドングリにはタンニンが比較的多く含まれるが、キノコの発酵には特に障害は認められなかった。 	
研究成果	<ul style="list-style-type: none"> ・新たに選抜した発酵担子菌はC5糖キシロースやデンプンにおける生育ならびにエタノール生産が従来菌より顕著で、食品廃棄物をはじめとする未利用バイオマスからの大量エネルギー生産に有望な菌として諸性質の解明ならびに今後の応用が期待される。 ・デンプン発酵時に転写される遺伝子をいくつか見出し、データベース解析したところ、機能未知のタンパク質をコードしていることが示唆された。当該遺伝子は効率的な発酵を行う上での指標になると考えられる。 	
次年度研究計画	[次年度の研究計画について簡潔に記すこと]	
報告責任者	所属・職 氏名	研究・国際協力部研究協力課・課員・朝野弘昭 0857-31-5494 ken-jyosei@adm.tottori-u.ac.jp

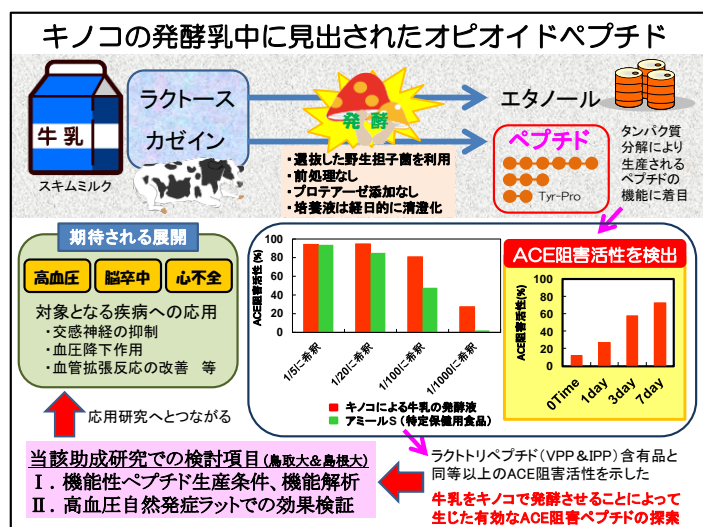
- 注1) 表題には、環境部門、地域部門、北東アジア学術交流部門のいずれかを記載すること。
 2) 「研究期間（ 年目/ 年間）」及び「次年度研究計画」は、環境部門のみ記載すること。
 3) 研究者の知的財産権などに関する内容等で、非公開としたい部分は、罫線で囲うなど明確にし、その理由を記すこと。
 4) 研究実績のサマリーを併せて提出すること。

【研究要旨】

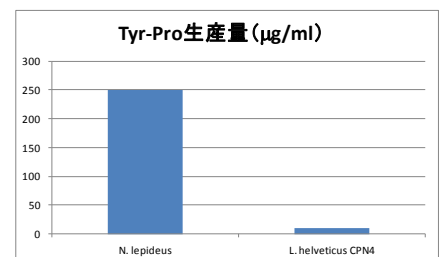
社会保障費の増大、生産年齢人口の減少、介護負担の増大など超高齢化社会へと突き進む我が国が抱える問題はますます深刻化していくと懸念され、国民一人一人がより健康に気遣いながら健康寿命を延長していくことが重要な課題である。その一環として、生活習慣病の予防や改善、加齢に伴う神経系の機能低下を改善する日常的に接種可能な食素材開発と普及が急務である。申請者は自然界に生息する一部のキノコ（担子菌）がもつユニークな発酵能に着目した研究を推進し、当該分野をリードしてきた。その中で、新たにキノコの牛乳発酵液中に顕著なアンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害活性を見出した。これはカゼインから切り出されたペプチド類に由来し、中でも生産量が最も多いジペプチド Tyr-Pro は ACE 阻害のみならず、鎮痛活性や抗不安活性等についての報告もあり、前述の目的に叶う食品素材としての多様な応用が期待される。本研究では、キノコの発酵乳由来の Tyr-Pro をはじめとするペプチド類の詳細な解析を進め、血圧上昇抑制作用を中心に生理活性を調査するとともに、高血圧自然発症ラット等を用いての具体的な影響や効果の検証を計画し、機能性ペプチドを効率的に生産する技術基盤ならびに超高齢化社会に向けた未病の改善と健康維持に有望な機能性食品へと展開するための研究基盤を確立する。

【本研究の背景、目的および特色】

近年、高血圧をはじめとする生活習慣病患者は年々増加傾向にあり、また超高齢化社会に向けたアンチエイジングの観点からも、発酵乳や大豆等に由来する機能性ペプチドに関する研究が世界中で盛んに行われている。ACE 阻害ペプチドについては乳酸菌の発酵乳由来のラクトリペプチド Val-Pro-Pro や Ile-Pro-Pro を代表に、これまで様々なものが発見されてきた。申請者は、キノコ *Neolentinus lepideus* による牛乳の発酵過程で ACE 阻害活性が顕著に増加し、VPP&IPP を含む特定保健用食品と比べて有意な活性を認めた。これまでキノコを牛乳やスキムミルクで発酵させたという試みならびに、その発酵乳から比較的強い活性を示すペプチドを検出したという報告例は国内外にはない。現在までの予備的な検討で、*N. lepideus* の発酵乳由来活性ペプチドの本体は Tyr-Pro (YP) であり、既報 (Yamamoto et al., J. Dairy Sci 82:1388-1393, 1999) の乳酸菌



Lactobacillus helveticus CPN4 株よりも 20 倍以上高い生産能力を有するという結果を得ている (右下図)。Tyr-Pro は鎮痛活性を有する内因性オピオイドペプチドやホルモン、そしてニューロペプチドの重要な構成ペプチドであり、最近では精神的ストレス緩和作用 (抗不安作用) も認められるなど、生体調節にとって重要なペプチドとして注目されている。したがって、ジペプチド YP を酵素添加なしで、カゼインタンパク質から発酵で選択的にかつ比較的大量に切り出すという、今回新たに見出したキノコが示す意外な能力は非常に興味深い。また、*N. lepideus* の牛乳発酵液中には当該ペプチドのほかに、グルタミン、GABA、BCAA (ロイシン、イソロイシン、バリン) や芳香族アミノ酸 (チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン) の遊離が顕著であるという点も乳酸菌とはやや異なる特徴である。



鳥根大学医学部病理学・並河 徹教授との共同研究によって、高血圧や脳卒中発症ラットを用いた血圧降下作用をはじめとする in vivo での多面的な効果を検証する。

具体的な研究項目としては、

- ① キノコによるジペプチド YP 生産向上に向けた牛乳最適発酵条件を明らかにする。
- ② キノコの種類の違いによる YP 生産能力について調査する。
- ③ YP の生産に関わるタンパク質分解酵素について検討する。
- ④ 高血圧モデルラットへ牛乳発酵液を連続投与し、高血圧の予防や症状緩和への効果について調べ、機能性食品としての応用可能性を探る。
- ⑤ 高血圧モデルラットの脳室内に YP を直接投与して、オピオイドペプチドとして交感神経系にどのような影響を及ぼすのか、脳内機序について明らかにする。

【期待される研究成果と展開】

- ・ 消費期限切れなど廃棄乳の有効利用による酪農業の活性化
- ・ キノコによる機能性ペプチド YP の安価な大量生産技術の開発
- ・ 乳タンパク質から YP を選択的に切り出す分解酵素の単離
- ・ YP の生理活性、作用機序の解明
- ・ 超高齢化社会での健康寿命延長に向け、生活習慣病予防やストレス緩和を目的とした、天然素材を効果的に活用した機能性食品（発酵乳、各種飲料、タブレットなど）の開発

【過去5年間の研究論文リスト】

- 1) Kenji Okamoto, Uchii Atsushi, Ryuichi Kanawaku, and Hideshi Yanase: Bioconversion of xylose, hexoses and biomass to ethanol by a new isolate of the white rot basidiomycete *Trametes versicolor*. SpringerPlus, **3**:121 (2014).
- 2) 岡本賢治: きのこの香り 菌茸, **60**(6), 13–19 (2014).
- 3) Motoki Kojima, Kenji Okamoto, and Hideshi Yanase: Direct ethanol production from cellulosic materials by *Zymobacter palmae* carrying *Cellulomonas* endoglucanase and *Ruminococcus* β -glucosidase genes. Appl. Microbiol. Biotechnol., **97**(11), 5137–5147 (2013).
- 4) Motoki Kojima, Tomohiro Akahoshi, Kenji Okamoto, and Hideshi Yanase: Expression and surface display of *Cellulomonas* endoglucanase in the ethanologenic bacterium *Zymobacter palmae*. Appl. Microbiol. Biotechnol., **96**(4), 1093–1104 (2012).
- 5) Hideshi Yanase, Hitoshi Miyawaki, Mitsugu Sakurai, Akinori Kawakami, Mari Matsumoto, Toshio Haga, Motoki Kojima and Kenji Okamoto: Ethanol production from wood hydrolysate using genetically engineered *Zymomonas mobilis*. Appl. Microbiol. Biotechnol., **94**(6), 1667–1678 (2012).
- 6) Kenji Okamoto, Ryuichi Kanawaku, Masaru Masumoto, and Hideshi Yanase: Efficient xylose fermentation by the brown rot fungus *Neolentinus lepideus*. Enzyme Microb. Technol., **50**(2), 96–100 (2012).
- 7) 岡本賢治: C5・C6発酵担子菌によるバイオマスからの直接的エタノール生産 日本菌学会報, **53**(4), 63–70 (2012).
- 8) Kenji Okamoto, Yuko Sugita, Natsumi Nishikori, Yasuyuki Nitta, and Hideshi Yanase: Characterization of two acidic β -glucosidases and ethanol fermentation in the brown rot fungus *Fomitopsis palustris*. Enzyme Microb. Technol., **48**(4–5), 359–364 (2011).
- 9) Kenji Okamoto, Yasuyuki Nitta, Nituro Maekawa, and Hideshi Yanase: Direct ethanol production from starch, wheat bran and rice straw by the white rot fungus *Trametes hirsuta*.

Enzyme Microb. Technol., **48**(3), 273–277 (2011).

- 10) Kenji Okamoto, Koji Imashiro, Yuya Akizawa, Asako Onimura, Motoki Yoneda, Yasuyuki Nitta, Nituro Maekawa, and Hideshi Yanase: Production of ethanol by the white-rot basidiomycetes *Peniophora cinerea* and *Trametes suaveolens*.
Biotechnol. Lett., **32**(7), 909–913 (2010).
- 11) Jacques Mathieu, William W. Mohn, Lindsay D. Eltis, Justin LeBlanc, Gord Stewart, Carola Dresen, Kenji Okamoto, and Pedro J.J. Alvarez: 7-Ketocholesterol catabolism by *Rhodococcus jostii* RHA1.
Appl. Environ. Microbiol., **76**(1), 352–355 (2010).

【本研究テーマに関して従来受けた研究費・奨励金等】

特になし。