

黒大豆用納豆菌の育種

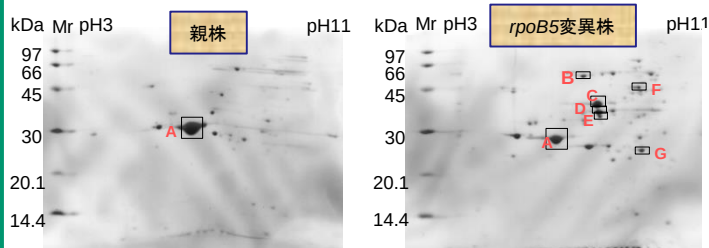
— 菌体外分解酵素増強 $rpoB$ 変異株の選抜 —

技術の特徴

- ・稲わらから多数の納豆発酵適性株を選抜。
- ・選抜した親株から $rpoB5$ 変異を有するリファンピシン耐性株を選抜。
- ・ $rpoB5$ 変異株の菌体外分解酵素(プロテアーゼやセルラーゼ等)の生産量が増加。
- ・種皮の硬い黒大豆の発酵に効果的。
- ・茨城県工業技術センターとの共同研究

研究の内容

菌体外発現タンパク質



菌体外タンパク質70 μ gを二次元電気泳動で解析

スポット N末アミノ酸シーケンス *B. subtilis* (natto) ゲノム内で一致するORF

A	AQSVYPYGISQ	alkaline protease
B	NERELPFKAK	double-zinc amino peptidase
C	AAATGSGTTL	neutral protease
D	AGTKTPVAKN	endo-1,4-beta-glucanase
E	AGTKTPVAKN	endo-1,4-beta-glucanase
F,G	NELTAPSIKSGTILH	α -amylase

黒大豆納豆の粘り物質に含まれるレバン, γ PGA 及び全糖量

菌株	含量 (mg / g 納豆)		
	レバン	γ PGA	全糖量
宮城野株	0.73 $\pm$ 0.02	13.33 $\pm$ 0.04	1.65 $\pm$ 0.04
親株	0.53 $\pm$ 0.03	13.08 $\pm$ 0.02	1.37 $\pm$ 0.02
$rpoB5$変異株	4.52$\pm$0.16	16.16$\pm$0.42	6.60$\pm$0.42

黒大豆の煮豆及び納豆の切断に要する荷重(硬さ測定試験)

サンプル	切断に要する荷重(g)	P 値 0.236
黒大豆煮豆	225.7 $\pm$ 12.5	
黒大豆納豆 (宮城野株)	163.3 $\pm$ 12.9	
黒大豆納豆 ($rpoB5$ 変異株)	155.8$\pm$11.9	

数値のばらつきはあるが、 $rpoB5$ 変異株の納豆は、宮城野株の納豆に比べ、5~10%柔らかくなることが確認できた。

今後の展開

- ・レバン量増加の原因解明
- ・他の有色大豆への並行展開
- ・バクテリオファージ耐性の付与

参 考

1. Kubo Y, Inaoka T, Hachiya T, Miyake M, Hase S, Nakagawa R, Hasegawa H, Funane K, Sakakibara Y, Kimura K. 2013. Development of a rifampicin-resistant *Bacillus subtilis* strain for natto-fermentation showing enhanced exoenzyme production. *J. Biosci. Bioeng.* **115**:654–657.
2. Kubo Y, Rooney AP, Tsukakoshi Y, Nakagawa R, Hasegawa H, Kimura K. 2011. Phylogenetic Analysis of *Bacillus subtilis* Strains Applicable to Natto (Fermented Soybean) Production. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**:6463–6469.
3. 久保雄司, 齊藤勝一, ダニエル ホルヴェック, 舟根和美, 中川力夫, 木村啓太郎. 2013. 菌体外分解酵素が増強された納豆菌 $rpoB$ 変異株による黒大豆納豆の製造. 日本食品科学工学会誌 **60**:557–581.