

# 「バイオリアクターを利用したエピラクトースの効率合成法の開発」

研究者名：佐 分 利 亘

所属・役職：北海道大学大学院農学研究院・助教

T-3-11

研究分野

応用生物化学

研究キーワード

エピラクトース；酵素合成；  
プレバイオティクス

## 背景・目的

セロビオース 2-エピメラーゼ (CE) は、セロビオースの還元末端のグルコース残基を異性化し、4-O-βグルコシルマンノースを生成する。ラクトースに作用させると優れたプレバイオティクス効果を有するエピラクトースを合成できる。本研究では、好気性好熱性細菌 *Rhodothermus marinus* 由来 CE (RmCE) を用いたバイオリアクターを構築し、エピラクトースの効率合成に応用することを目的とした。

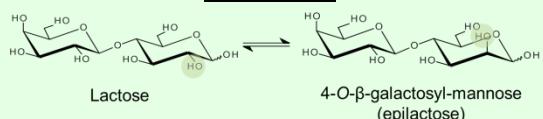
## 研究の成果

陰イオン交換樹脂 (Duolite A568) にRmCEを吸着させ、固定化RmCEを調製した。この時、グルタルアルデヒドで固定化酵素を処理することにより、耐熱性の向上が見られた。長期間の反応では、50°C以下ではほとんど活性の低下がなかったことから、50°Cにて連続反応の検討を行った。固定化RmCEをカラムに充填し、基質供給速度を検討した。1時間当たりカラムの8倍量の流量までエピラクトースの最大変換率が得られた。この条件で連続反応を行い、バッチ反応との酵素使用量の比較を行った。連続反応では13日間までエピラクトースの最大変換率が維持された。固定化酵素の調製に使用した酵素量と13日間の反応で処理できたラクトース量から見積もった1gのラクトースを処理するのに必要な酵素量は1.5 Uであり、24時間のバッチ反応での必要酵素量4 Uと比較して約6割の必要酵素量を削減できた。

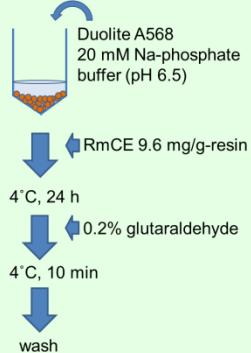
## 将来展望

RmCEの固定化は、エピラクトースの酵素合成において酵素量の削減に有効であることが明らかになった。このことから、本技術を応用してエピラクトースの工業的製造が可能と考えている。また、ラクトースを含むホエーや牛乳などを本研究で構築したバイオリアクターに供することでエピラクトースを含有させ、高機能化を図れると考えられる。

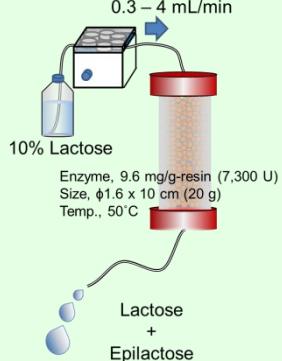
### CEの反応



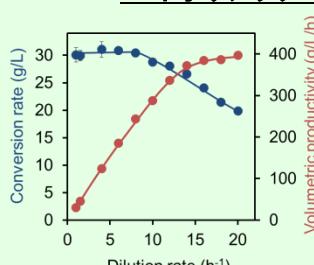
### 固定化RmCEの調製



### バイオリアクターの構築



### バイオリアクターによる連続反応



$$\text{Dilution rate (h}^{-1}\text{)} = \text{flow rate (ml/h) / column volume (ml)}$$

$$\text{Volumetric productivity (g/L/h)} = \text{conversion rate (g/L)} \times \text{dilution rate (h}^{-1}\text{)}$$

Dilution rate は単位時間にカラムの何倍量通液するかを示す。Volumetric productivityはエピラクトースの生成効率を示す。Dilution rate 8まで最大変換率が得られた。13日間エピラクトースの最大変換率が維持され、13日間連続運転するとバッチ反応(24時間)と比較して **62%の必要酵素量の削減が可能**。

