



Production of extracellular bifidogenic growth stimulator (BGS) from *Propionibacterium shermanii* using a bioreactor system with a microfiltration module and an on-line controller for lactic acid concentration

精密ろ過膜とオンライン乳酸コントローラーを備えた培養システムを用いた
*Propionibacterium shermanii*によるビフィズス菌特異的増殖促進物質 (BGS) の生産

(JBB, Vol.105, No.3, 184–191, 2008)

高屋 朋彰・飛田 和宏・堀内 将史・中山 惠理・出口 央視・田中 孝明・谷口 正之*

プロピオン酸菌は、グラム陽性、孢子非形成、非運動性、嫌気性または酸素耐性を有する桿菌であり、数多くの有益な性質と機能を有していることから、乳製品製造に限らず、その他の分野においても利用されている。すなわち、プロピオン酸菌は、各種有用物質（プロピオン酸、ビタミンB₁₂、ビタミンK、バクテリオシンなど）の生産に利用されている。また、腸内腐敗菌の増殖抑制、生体に有害な酵素活性 (β -glucuronidase, azoreductase, nitroreductase) の抑制、乳糖不耐症の改善などのプロバイオティクス効果を示す微生物として利用することが検討されている。さらに、金子らは、スイスタイプチーズ（エメンタルチーズ）のスターターとして古来利用されてきたプロピオン酸菌 (*Propionibacterium freudenreichii* ET-3) が、きわめて微量でビフィズス菌の増殖を特異的に促進させる物質 (bifidogenic growth stimulator, BGS) を産生することを報告しており¹⁾、すでにこの成分を含む商品が市販されている。これまで、ビフィズス菌の増殖を促進するキノン系物質として、1-hydroxy-2-naphthoic acid や 2-amino-3-carboxy-1,4-naphtha-quinone (ACNQ) が知られていたが、プロピオン酸菌の生産するBGSの主成分は、1,4-dihydroxy-2-naphthoic acid (DHNA) であることが報告された²⁾。

著者らは、すでにBGS生産菌として報告されている *P. freudenreichii* 以外に、これまでにグルコースを炭素源としてBGSを生産するプロピオン酸菌の選抜を行い、数種類のプロピオン酸菌が数～数十 mg/l 程度のDHNAを生産することを報告している³⁾。そこで本研究では、これらのプロピオン酸菌の中からビタミンB₁₂生産菌としても知られている *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* PZ-3 を用いて、著者らが開発した精密ろ過膜とオンライン乳酸コントローラーを組み合わせた培養システムによるBGSの効率的生産方法について検討した。

この培養システムの特徴として、以下の3点が挙げら

れる。

- ①精密ろ過膜によって、プロピオン酸菌の増殖やBGS生産に対して阻害作用を示す代謝産物（プロピオン酸や酢酸）を除去することが可能である。
- ②精密ろ過膜によって、増殖したプロピオン酸菌をバイオリクターシステム内に循環させ、高濃度化することが可能である。
- ③オンライン乳酸コントローラーによって、バイオリクター内の炭素源（乳酸）をプロピオン酸菌の増殖やBGS生産にとって最適な濃度になるように、フィードバック制御することが可能である。

これらの特性をすべて備えた本システムを用いて、BGSの連続生産を行った。炭素源である乳酸を低濃度に維持しつつ、代謝産物であるプロピオン酸や酢酸を除去しながらBGSを生産することに成功した。本システムを用いることによって、従来のろ過培養システムにおいて問題であった培地使用量の増大を回避することができた。この培養によるBGS生産を、従来の回分培養、精密ろ過膜を備えた培養システム、および乳酸濃度をコントロールした従来の流加培養によるBGS生産と比較した。その結果、培養時間あたりの生産性および使用した総培地量あたりの生産性は、大幅に向上し、回分培養の値と比較して、それぞれ37倍および2.1倍高くなった。

以上のように、本バイオリクターシステムは、BGSの生産において非常に有用であった。また、本システムはBGSの生産ばかりでなく、種々の有用物質の生産手段として使用することが可能であると考えられる。今後、本システムの汎用性・応用性について検討したいと考えている。

- 1) Kaneko, T. et al.: *J. Dairy Sci.*, **77**, 393 (1994).
- 2) Isawa, K. et al.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 679 (2002).
- 3) Kouya, T. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **103**, 464 (2007).

* 著者紹介 ¹⁾ 新潟大学大学院自然科学研究科材料生産システム専攻 (教授) E-mail: mtanig@eng.niigata-u.ac.jp