

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	茶およびフェノール含有食品の渋み除去をめざした、安価なポリフェノール酸化重合酵素精製法の開発および技術熟成				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	河原崎 泰昌
	研究分担者	所属・職名	食品栄養科学部・助教 現・東京農工大農学研究科・准教授	氏名	田中 瑞己
		所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 圭祐
		所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	三好 規之
	発表者	所属・職名	静岡県東部農林事務所農山村整備部・主査	氏名	大石 英史

講演題目	椎茸に含まれる有用酵素の増量法・簡易精製法の改善と精製法の最適化
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>原木を用いた椎茸栽培は、県東部・伊豆地区に加え、西部天竜地区でも広がっており、原木栽培生椎茸の出荷額は静岡県の首位が続いている。本研究は、生椎茸褐変化の原因酵素であるラッカーゼ（とくに LeLcc4）の発現誘導促進機構を解明し、廃棄生椎茸にこれを応用して有用酵素であるラッカーゼの簡便な調製法を確立することを目的としている。また、ラッカーゼの効果的な利用法の開発を行うことを第二目的として展開している。</p> <p>以前の検討により、廃椎茸を使用した簡便なラッカーゼ発現誘導法を確立している。-80℃で椎茸に冷凍障害を加えた後、解凍し、25～37℃で1日保温するだけでラッカーゼの発現量が増大することが明らかとなった。この誘導法は生椎茸の陳列日数（残り消費期限）に依存せず有効であった。ポット栽培された椎茸では、冷凍障害によるラッカーゼの発現誘導は顕著に表れなかった。</p> <p>以前の検討により、酢酸緩衝液をもちいた低 pH 抽出液と界面活性剤の添加を組み合わせた抽出法がラッカーゼの抽出に最適（夾雑蛋白質の混入が非常に少ない）であることを見出ししている。この方法では椎茸特有の菌臭が精製酵素溶液（最終産物）に高度に残存した。アセトン沈殿により脱臭できることを昨年度報告したが、アセトン沈殿によるラッカーゼの活性低下、疎水クロマトカラムへの強固な吸着等の問題点を生じた。食品加工に使用可能な各種界面活性剤（乳化剤）を抽出過程に利用することを検討したが、抽出効率が低下し、粗抽出液中のラッカーゼ比活性は低下した。</p> <p>上記と並行して、椎茸の他のラッカーゼ（染色体上に全 14 種類のフェノールオキシダーゼを含むラッカーゼ様配列が確認されている）の出芽酵母を用いた組換え分泌発現系・評価系の構築を行い、独自に見出した培養後期に活性化する遅発性プロモーターを利用することで、発現に伴う細胞毒性のため難生産性を示す LeLcc1 の効率的な生産・評価系を確立できた。また他の菌類の有用酵素のクローニング・組換え発現系として利用を試み、舞茸の蛋白質分解酵素群をコードする一部のプロテアーゼのクローニングおよび活性型発現に成功した。なお、本県の舞茸生産量は全国 2 位である（1 位は長野県）。</p>