

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

研究テーマ	廃棄される静岡産原木栽培シイタケの有効活用・有用酵素の発現誘導と利用				
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
		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
		所属・職名	静岡県東部農林事務所森林整備課・主任	氏名	山本 正晃
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	河原崎 泰昌

講演題目	<p style="text-align: center;">廃椎茸に含まれる有用酵素の増量法・簡易精製法の開発改善と 食品加工への利用に向けた精製法最適化</p>
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江戸期に伊豆で開発された。東部・伊豆地区に加え、近年は西部天竜地区でも原木栽培が広がっており、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廃棄量を減らし、かつ有用酵素ラッカーゼの簡便な調製法を確立することを第一の目的とし、あわせて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・定量的評価法を確立しており、本年度はラッカーゼの簡便な精製法の技術的改善を図った。有機酸・界面活性剤抽出を軸とした従来の抽出・精製法では、椎茸特有の菌臭が精製酵素溶液（最終産物）に高度に残存したが、アセトン沈殿を行うことで効果的に脱臭できることが分かった。さらに、疎水クロマトグラフィーの条件を検討し、短時間でラッカーゼを濃縮、分離できる条件を見出した。ただし食品に添加できない界面活性剤を利用する必要があり、代替となる可溶化剤を検討する必要があった。</p> <p>上記と並行して、シイタケの他のラッカーゼ（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。今後はこの遅発性プロモーターを利用して、他のラッカーゼアイソザイムのクローニング・発現系の構築を行い、各ラッカーゼの酵素学的諸性質を明らかにしたい。</p>