

## 酸素ラジカル照射されたコウジカビ胞子の $\alpha$ -アミラーゼ活性化

### $\alpha$ -amylase activation of *Aspergillus* spores exposed to oxygen radicals

名城大<sup>1</sup>, 名古屋大<sup>2</sup> ◯(M1)後藤 拓也<sup>1</sup>, 志水 元亨<sup>1</sup>, 加藤 雅士<sup>1</sup>, 橋爪 博司<sup>2</sup>,  
堀 勝<sup>2</sup>, 伊藤 昌文<sup>1</sup>

Meijo Univ.<sup>1</sup>, Nagoya Univ.<sup>2</sup>, ◯(M1)Takuya Goto<sup>1</sup>, Motoyuki Shimizu<sup>1</sup>, Masashi Kato<sup>1</sup>,  
Hiroshi Hashizume<sup>2</sup>, Masaru Hori<sup>2</sup>, Masafumi Ito<sup>1</sup>

E-mail: 183427009@ccamailg.meijo-u.ac.jp

#### 1. はじめに

我々はプラズマ中に生成される中性な酸素ラジカルのみを供給することのできる非平衡大気圧酸素ラジカル源を用いてミドリカビ胞子の殺菌因子が基底状態の酸素原子 O(<sup>3</sup>P<sub>j</sub>)であることを明らかにしてきた<sup>[1]</sup>。一方で、出芽酵母に酸素ラジカルを作用させることで成長を制御することが可能であることを報告してきた<sup>[2]</sup>。

本研究では醸造産業にて利用されている有益なコウジカビ(*Aspergillus oryzae* RIB40)の胞子を対象に、酸素ラジカル照射による $\alpha$ -アミラーゼ活性への影響を調査した。

#### 2. 実験方法

コウジカビ胞子 1 mg に 1 % に希釈した界面活性剤 Tween20 溶液 1 mL 加え、胞子懸濁液を調製し、ディッシュへ 1  $\mu$ L ずつ 25 点滴下し、乾燥させたものを照射サンプルとした。ラジカル照射は、中性ラジカルのみを供給することのできる非平衡大気圧ラジカル源 (Fuji 製 Tough Plasma) を用いた。酸素ラジカル照射の場合、ガス総流量 5 slm、酸素ガス流量比 O<sub>2</sub>/(Ar+O<sub>2</sub>) を 0.6 % とし、照射口からサンプルまでの距離を 10 mm とした。照射後のサンプルに 1% Tween20 溶液 300  $\mu$ L を加え回収した。回収した液を液体培地に 300  $\mu$ L 加え、振とう培養を 4 日間行った。その後、吸引ろ過にて上澄み液を回収し、バッファ交換用自然落下型カラム (PD10) を用いてリン酸緩衝液に置換し、遠心濃縮チューブ (Vivaspin) を用いて 40 倍に濃縮した。濃縮した酵素液を  $\alpha$ -アミラーゼ測定キット (キッコーマンバイオケミファ社製) を用いて  $\alpha$ -アミラーゼの活性を測定した。

#### 3. 結果と考察

Fig.1 に酸素ラジカル処理によるコウジカビ胞子の  $\alpha$ -アミラーゼ活性の測定結果を示す。酸素ラジカル照射により、 $\alpha$ -アミラーゼ活性は照射時間 15 s で 1.77 倍に増加した。これは、酸素ラジカルによる化学的刺激が胞子に作用し、タンパク質全体の分泌量が増加し、それに伴い  $\alpha$ -アミラーゼの量も増加し活性が向上したことによると考えられる。

#### 4. まとめ

コウジカビ胞子に酸素ラジカルを照射することで  $\alpha$ -アミラーゼ活性が 1.77 倍向上できることを確認した。今後、他の酵素活性に及ぼす効果についても調査する予定である。

研究の一部は私立大学戦略的研究基盤形成事業 (S1511021) の支援により行われた。

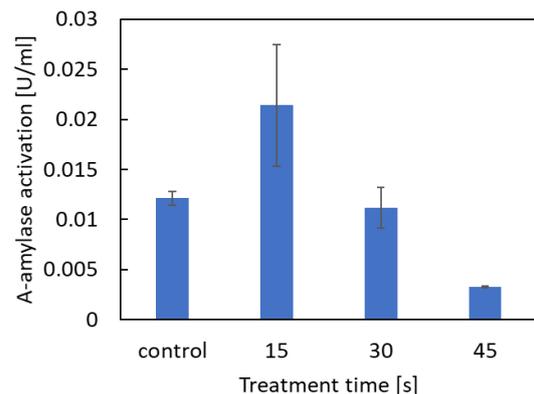


Fig.1  $\alpha$ -amylase activity as a function of oxygen-radical treatment time

#### [参考文献]

- [1] H. Hashizume *et al.*, Appl.Phys Lett. **103**, 153708 (2013).
- [2] H. Hashizume, *et al.*, Appl. Phys. Letts. **107**, 093701 (2015).