

02-023

A

Change of proteolytic enzyme activities and bacterial assemblage in stored seawater

○Chui Wei Bong、大林 由美子、鈴木 聡

愛媛大 CMES

Heterotrophic bacteria are the major degraders of organic matter in the sea. Consequently, bacterial extracellular enzymes are important for the processing of high molecular weight compounds in the sea. Proteins are important substrate for bacterial growth. However, little is known about the protein degradation process and the distribution of the proteolytic enzyme activities among the different bacterial species in natural assemblages. In this study, we evaluate the potential activities of proteolytic enzymes in seawater and the variability in the enzyme profiles of different bacterial isolates. Samples were collected from coastal seawater in Matsuyama, Japan. The seawater was stored at 20°C for time course analysis. Enzyme activity and substrate preference in the seawater (total and <0.2 µm fraction) and isolated bacteria were assayed using 19 types of peptide analogue methylcoumarylamide (MCA) substrates for aminopeptidase, trypsin, elastase and chymotrypsin. Classification status of picked-up isolates was determined using 16S rDNA sequence. Results showed that trypsin, chymotrypsin and aminopeptidase were most active whereas the activities of elastase were weak in seawater. The changes in the levels of enzyme activities during 56 days suggested the changes of microbial population composition. Among the picked-up isolates, *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* and *Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides* showed highest activities in aminopeptidase whereas *Gammaproteobacteria* were active in aminopeptidase and chymotrypsin activities, suggesting that specialization for different types of substrates in different bacterial species and the complementary hydrolysis by different enzymes produced by diverse natural bacterial communities are important in determining the fate of proteins in the sea.

chuiweibong@agr.ehime-u.ac.jp

02-024

K

コンポスト中における好熱性細菌間の相互作用とその生態

○出口 奈吾、境 雅夫

鹿児島大農

〔背景・目的〕 環境中には多種多様な細菌種が生息しているが、この中には培養が容易ではない細菌種の存在も知られている。その要因の一つとして、細菌間の相互依存性が考えられている。本研究では、堆肥中に存在するこのような異種細菌との共存下で増殖する新規な細菌種を分離し、その特性と分類について解析を行った。

〔方法・結果〕 活性汚泥堆肥の平板培養プレート(60°C培養)上において、大きなコロニー(細菌L)の周囲に存在する小コロニー(細菌S)を見出した。この細菌Sの純粋分離を試みたが、増殖させることが困難であった。そこで、細菌Lと共存して培養したところ、細菌Sが増殖することが確認された。さらに、細菌Lの培養液を添加した培地での増殖も可能であり、細菌Sを純粋分離することに成功した。16S rDNA 配列による系統解析の結果、細菌Lは既知の *Geobacillus stearothermophilus* と判明した。一方、細菌Sは *Bacillales* 目に属しているが、既知の細菌種の中で最も近縁である *Thermobacillus xylanilyticus* との相対率が 89%しかなく、新規な細菌種であることが推察された。細菌Sは増殖の最適温度が60°Cにある中等度好熱細菌であった。また、増殖可能なpH範囲は、8.5付近の狭い範囲にしかなく、このようなpH環境を細菌Lが作り出していることも予想された。さらに、細菌Sの16S rDNAに特異的なPCRプライマーを作製し、さまざまなコンポスト中での細菌S近縁種の検出を試みた結果、いくつかのサンプルに生息することが明らかとなった。

dai_going515_t@yahoo.co.jp