

652

プロピオン酸菌と光合成細菌の脱窒能を利用した混合培養によるビタミンB₁₂の生産 (広島大・工・醗酵・*広島電気大)
○浦野博水、佐々木健*、西尾尚道、永井史郎

目的 ビタミンB₁₂ (B₁₂) 生産菌のプロピオン酸菌は嫌気条件下で菌体内にB₁₂を生成しつつ増殖するが、培地中に蓄積する酢酸・プロピオン酸 (VFA) により著しい増殖阻害を受けB₁₂生産も制限されることが多い。一方、光合成細菌は、嫌気・暗条件下で、これらVFAを基質として、脱窒増殖を行ないB₁₂も生成する。そこで、本研究ではプロピオン酸菌と光合成細菌の脱窒能を利用した混合培養において、生産物阻害を解除しB₁₂生産を増大することを目的として、最適となる混合培養条件を検討した。

方法 供試菌は、プロピオン酸菌 4種および *Rhodobacter sphaeroides* f. sp. *denitrificans* IL106 を用いた。培地は通常のグルコース合成培地。培養はバイアル瓶あるいは3lのジャーファーマンターで嫌気条件下、硝酸を添加して行なった。接種はプロピオン酸菌と光合成細菌を単独あるいは種々の比率で、あるいは接種時期を変化させて行なった。菌体量、B₁₂、NO₃⁻、NO₂⁻等分析は常法に準じ分析した。

結果 光合成細菌はその単独培養においてグルコース・酢酸・プロピオン酸の混合基質存在下でそれぞれを同時に消費することがわかった。*P. shermanii*とのバイアル瓶での混合培養(接種比、プロピオン酸菌1:光合成細菌2)において、菌体量はプロピオン酸菌単独時の約1.5倍、B₁₂蓄積量は約2倍に達した。このとき、光合成細菌はプロピオン酸菌が蓄積した酢酸の約20%、プロピオン酸の約9.3%を消費しておりVFAによるプロピオン酸菌の増殖阻害を緩和しているものと思われる。ジャーファーマンターにおける培養については現在、検討中である。

Vitamin B₁₂ production by mixed cultures of *Propionibacterium* spp. and *Rhodobacter sphaeroides* under denitrifying condition.
Ohtsomi Urano, Ken Sasaki*, Naomichi Nishio, and Shiro Nagai
Dept. Ferment. Technol., Fac. Engg., Hiroshima Univ., *Hiroshima-Denki Institute of Technol.

653

デアセチル-7-アミノセファロスポラン酸(D-7-ACA)ラクトン体からの微生物変換によるD-7-ACA生産
(京大・農・農化、*旭化成) 阪井康能、○大林洋子、山本敬三*,

林 善晴*, 谷 吉樹**

【目的】 D-7-ACAラクトンは、セファロスポリン化合物を工業的に生産する際に大量に生成される副産物である。もしこのラクトン体を、新規抗生物質合成の原料として利用されているD-7-ACAへ再変換できれば、現行抗生物質生産プロセスの効率化と収量増大に寄与するものと考えられる。本研究では、D-7-ACAラクトン加水分解によるD-7-ACA生産菌の探索を行い、高活性菌体調製のための培養条件及び反応条件の検討を行った。

【方法及び結果】 自然界から分離された多数の菌株及び保存菌株等を培養後菌体を集菌し、3 mM D-7-ACAラクトンを含む 0.1 M リン酸緩衝液中、30℃で17 h 菌体反応を行い、反応液中の D-7-ACA生成量をHPLCで測定した。この結果、D-7-ACA生産活性を有する2株の菌株が得られ、うち1株は*Pseudomonas putida*と同定された。さらに、D-7-ACA生産活性を増大させるため培養及び反応諸条件の検討を行った。培養時においてはアミノ酸の添加効果が顕著であり、窒素源として、リジン、チロシン、尿素を用いることにより最大活性を有する菌体を得られ、培養開始後 12 hから4 dまでは、ほぼ最大活性を維持していた。菌体反応時には、McIlvaine氏緩衝液を用い、至適pHは6.0であった。また反応至適温度は4℃から10℃の低温で高活性を示し、反応液中の基質濃度は約 4 mMが飽和濃度であるにもかかわらず、基質濃度16 mMまでその生成量はほぼ比例した。以上の最適条件下でD-7-ACAラクトンからのD-7-ACA生産を行ったところ、最高20%の収率で反応液中にD-7-ACAが得られた。本反応の生成物をDiaion-HP-20カラムを用いて精製・単離し、NMR及びIRによりD-7-ACAであることを確認した。(*現 奈良先端大学院大)

Bioconversion of deacetyl-7-aminocephalosporanic acid from its lactone by cells of *Pseudomonas putida*
Yasuyoshi Sakai, *Yoko Obayashi, Yoshiharu Hayashi*, Keizou Yamamoto*, Yoshiki Tani** (Dept. of Agric. Chem., Kyoto University, *Asahi Chemical Ind. Co. Ltd., **Advanced Institute of Science and Technology, Nara).