## 有機溶媒に安定なプロテアーゼを分泌する有機溶媒耐性菌の単離467

(阪府大・工・化工)○荻野博康、安井潔、塩谷隆嗣、石川治男

【目的】有機溶媒中で酵素反応を行う場合、酵素の有機溶媒中での安定性が問題となる。 我々は、先に有機溶媒に安定なリパーゼを分泌する有機溶媒耐性菌を単離した<sup>1)</sup>。今回、 有機溶媒に対して安定なプロテアーゼを分泌する微生物を得ることを目的として、有機溶 媒を添加した培養液で生育でき、かつプロテアーゼを産生する菌のスクリーニングを行っ た。また、その微生物の性質および分泌する酵素の性質について検討した。

【方法】有機溶媒を添加した培養液で生育できる菌のうちからプロテアーゼを産生する菌を得る方法と、プロテアーゼを産生する菌のうちから有機溶媒を添加した培養液で生育できる菌を得る方法の二通りでスクリーニングを行った。プロテアーゼ生産菌の選択には小麦粉を含むプレート培地を用い、有機溶媒耐性菌の選択にはシクロヘキサンを重層したプレート培地を用いた。

【結果】プロテアーゼを産生する菌のうちから有機溶媒を添加した培養液で生育できる菌をスクリーニングする方法により、有機溶媒を添加した培養液で生育でき、かつプロテアーゼ活性を有する菌を6株得ることができた。これらの菌株のうち最もプロテアーゼ活性の高いPST-01株は、シクロヘキサンやp-キシレンを添加した培養液で良好に生育した。この菌の諸性質を調べたところ、Psuedomonas属の菌であった。無細胞培養上清に有機溶媒を添加して、有機溶媒存在下でのプロテアーゼの安定性を検討したところ、有機溶媒に対し非常に安定であった。

1) 荻野ら;化学工学会第26回秋季大会研究発表講演要旨集(1993).

Isolation of organic solvent-tolerant bacteria which produce proteolytic enzyme OHiroyasu OGINO, Kiyoshi YASUI, Takashi SHIOTANI and Haruo ISHIKAWA (Dept. Chem. Eng., Univ. of Osaka Pref.)

新しく分離された炭化水素を唯一の炭素源として生育する好アルカリ性炭化 468 水素資化性菌の特性について (1)工技院・北開試、2,工技院・生命研) ○池田 光二1、中島 健二2、湯本 勲1)

[目的] これまで報告されてきた好アルカリ性細菌は、絶対好アルカリ性細菌、通性好アルカリ性細菌の二つのグループを通してほとんどが、Bacillus 属であるい。また、好アルカリ性細菌の分離には、炭水化物や糖、有機酸が使われてきた。これまで報告されてきた Bacillus 属の好アルカリ性菌の研究に加えて他の異なった性質を持つ異なった属の好アルカリ性細菌の研究を進めることによって、より広い視野に立って細菌のアルカリ環境への適応を研究することができると考え、土壌より炭化水素を唯一の炭素源とした合成培地で生育可能な、好アルカリ性細菌の分離を試みた。

[方法] 約30種類の土壌試料より、1%テトラデカンを唯一の炭素源とした合成培地 (pH= 10.2)を用いて27℃、一週間培養し、好アルカリ性炭化水素資化性菌4株を分離した。そのうち最も生育の速い K-171 株を選定し、分類学的諸性質について検討した。

[結果] 分離した菌株は、性状検査の結果、絶対好気性、非運動性、非抗酸性、で芽胞を作らない、グラム陽性でペプチドグリカンは、 meso-DAP、アラビノース、ガラクトースを含み、グリカン部のN-アシル型はアセチル基であった。さらに、カタラーゼ陽性、オキシダーゼ陰性で、DNAの GC mol %が70%であることから Corynebacterium 属と同定した。本分離菌株は、 pH 7~10 の pH範囲で同程度の生育を示す通性好アルカリ性菌で、 pH 7及び pH 10 で生育に Na+ を必須としなかった。また、菌体より調整した膜画分にはチトクロムは全く含まれておらず、これまで報告されている Bacillus 属の好アルカリ性細菌とは性状が異なっていた。

1) Krulwich AT & Guffanti AA(1989) Ann. Rev. Microbiol 43,435-463

Isolation and characterization of facultatively alkalophilic Corynebacterium sp.strain K-171 grown on n-alkanes
OKoji Ikeda<sup>1</sup>, Kenji Nakajima<sup>2</sup>, and Isao Yumoto<sup>1</sup>,
(GOVT IND DEV LAB HOKKAIDO<sup>1</sup>), NATL INST BIOSCI HUMAN-TECHNOL<sup>2</sup>)