

764 微生物のメタボリックエンジニアリングに関する基礎的研究
(九州工大・情報工・生化システム) ○鈴木隆夫、白津弘之、清水和幸

【目的】 微生物の培養においては、培養環境の変化に伴って代謝経路が変化し異なる代謝産物が菌体外に放出される。本研究では*Saccharomyces cerevisiae* HUT7107 および *Clostridium acetobutylicum* IAM 19012を用いて、上記調節制御機構を定量的に把握することを目的としている。

【方法及び結果】 上記目的を達成するにはまず中間代謝産物濃度の測定が必要になってくる。本研究では代謝経路の調節制御に中心的役割を果たしているヌクレオチドに着目し、化学量論的な解析に加えて培養環境と菌体内ヌクレオチドレベルの間の関係を調べた。菌体内ヌクレオチドの分析は逆相イオン対HPLCを用い、量論バランスはコンピュータを利用して解析した。その結果、*Saccharomyces cerevisiae* HUT7107 の培養については培養温度と中間代謝産物濃度との間に明らかな関係がみられ、新しいモデル化の可能性が示された。

Fundamental investigation on the metabolic engineering of microorganisms

○Takao Suzuki, Kazuyuki Simizu, (Dept. Biochem. Eng. and Sci. Kyushu Inst. of Technol.)

【Key Words】 metabolic pass way, stoichiometry, *Saccharomyces cerevisiae* HUT7107, *Clostridium acetobutylicum* IAM 19012

765 *Streptomyces Virginiae* によるvirginiamycinの生産と画像処理による形態解析
(阪大・工・応生) ○梁榮國、清水浩、塩谷捨明、菅健一、仁平卓也、山田靖宙

【目的】 *S. virginiae*の回分培養では菌体増殖段階とvirginiamycin MとS (VM & VS)生産段階の二段階の培養パターンを示す。VMおよびVS最大生産のためには増殖段階をできるだけ延長し、菌体量を最大限増加させたのち、適量のautoregulator添加をするのがよいと考えられる。そこで、培地成分の中で、酵母エキス、Bacto-casitoneの初期濃度と菌体増殖、VM、VS生産量の関係について検討した。また、画像解析装置を用いて、菌体の形態と生産との対応関係についても解析した。

【方法】 酵母エキス 7.5g/L、Bacto-casitone 7.5g/L、glycerol 15g/LおよびNaCl 2.5g/Lを含む培地を基本培地として用い、酵母エキス、Bacto-casitoneの濃度を2~8倍に変化させた。培養には5L-jar-fermentor (KMJ-5C、ミツワ 理化社)を用い、温度28℃、pH 6.4-6.6に制御した。DOは2ppm以上になるよう通気中の酸素分圧を上げて制御した。菌体の形態は培養液をサンプリングし、顕微鏡に接続された画像処理装置(SPECTRUM II、三谷商事社製)によって解析した。

【結果】 増殖段階はBacto-casitoneあるいは酵母エキスの初期濃度を高めることにより延長され、酵母エキス濃度を6倍にした時、増殖段階は3.5h、autoregulator最適添加時間は2.5h遅延し、最終菌体量とVM、VSの生産量は共に最も増大することがわかった。一方、画像解析の結果、菌体の形態は、糸状とペレット状のものが観察されたが大部分は糸状であった。糸状の菌体は培養時間経過にともない、二、三の菌糸の絡まりあった状態(entangled filaments:EF)を形成することが観察された。培地組成が異なる四つの回分培養の形態を解析した結果、EFの集団が増加するのはいずれも培養中期の酵母エキス起源の栄養源が欠乏したと思われる時期から始まり、autoregulatorとVM、VS生産開始時期とも対応することがわかった。

Production of virginiamycin by *Streptomyces virginiae* and measurement of mycelial morphology by image analysis.

○Young Kook YANG, Hiroshi SHIMIZU, Suteaki SHIOYA, Ken-ichi SUGA, Takuya NIHIRA, and Yasuhiro YAMADA (Dept. of Biotechnol., Osaka Univ.)

【Key Words】 autoregulator, morphology, image analysis