

3D10-1 *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 の代謝転換を制御する新規オートレギュレータ

○中屋 恵三, 中山 俊一, 吉野 貞蔵, 古川 謙介
(九大院生資環・生機科)

【目的】*C. saccharoperbutylacetonicum* N1-4は、対数増殖期に有機酸を生成し、定常期にソルベントを生成する代謝転換機構を有している。細胞増殖によって引き起こされる本代謝転換機構には、多くの細菌で見出されているオートレギュレータの関与が推考される。本研究では、ソルベント生成能が低下し代謝転換能を欠失した変異株を利用し、野生株培養上清から代謝転換を制御するオートレギュレータの取得を試みた。

【方法及び結果】野生株培養上清を限外ろ過(分子量 10,000 以下)し、逆相固相抽出を行った。溶出はメタノールを用いステップワイズ法により行った。得られた溶出液を減圧濃縮して抽出液とし、変異株の代謝転換に対する影響を調べたところ、代謝転換能が回復し、定常期における増殖を促進した。抽出液を逆相 HPLC に供与して促進活性を示すピークを特定し、経時的に培養上清から抽出を行った結果、促進活性物質の分泌量は細胞増殖に伴い増大し、定常期に最大となった。一方、変異株培養上清から促進活性物質は確認されなかった。野生株は代謝転換を促進させる物質の菌体分泌により、代謝転換を制御していることが示唆された。

A novel autoregulator controlling metabolic shift of *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4

○Keizo Nakaya, Shunichi Nakayama, Sadazo Yoshino, Kensuke Furukawa
(Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kyusyu University)

Key words Quorum sensing, autoregulator, metabolism

3D10-3 *Streptomyces* 属放線菌の抗菌活性発現に及ぼすオーキシンの効果

○松川 恵美, 早川 正幸, 中川 洋史, 飯村 聡
(山梨大工・生命工)

【目的】特定放線菌の胞子の出芽や菌糸の成長がオーキシンにより促進されることが報告されている。本研究ではオーキシンをはじめとする各種植物ホルモンが放線菌の抗菌活性発現に及ぼす効果を調査した。

【方法及び結果】*Streptomycin* やアントラサイクリン系抗生物質を産生する既知の *Streptomyces* 属放線菌 6 株について、インドール-3-酢酸 (IAA)、ジベレリン、アブシジン酸など 5 種の植物ホルモンそれぞれを、1 ~ 50 mg/L の濃度で Bennett's 平板培地に添加した際の、気菌糸形成、可溶性色素生産および抗生物質生産への影響について調べた。その結果、供試した植物ホルモンは少なくとも何れかの供試株に対して抗生物質生産の促進・増大効果を示すことがわかった。特に、IAA においては、1mg/L 以上の添加で *S. purpurascens* の気菌糸形成とロドマイシン生産を著しく促進し増大させた。さらに、液体培養においては、IAA を培養 1 日目に添加することによって、効果的にロドマイシン生産が誘導されることがわかった。この IAA による誘導機構については、更に現在検討している。

Effect of auxin on the expression of antimicrobial activity of *Streptomyces*.

○Emi Matsukawa, Masayuki Hayakawa, Youji Nakagawa, Yuzuru Iimura
(Dept. Biotechnol., Univ. Yamanashi)

Key words *Streptomyces*, auxin, IAA

3D10-2 湿度変化に対する酵母の応答

○秦野 琢之, 岡崎 幸枝, 松崎 浩明
(福山大・生物工)

【目的】我々は、細胞周囲の水分変化を「乾燥(低湿度)」と「浸透圧」の二つのストレスとしてとらえ、これらに対する細胞の応答が同一か否かを調べることで、生物が、湿度(大気中水分子)の変化に対する認識・応答機構を保持するかどうかを知らうとしている。

【方法及び結果】酵母 *Zygosaccharomyces rouxii* の浸透圧耐性強度の異なる 2 株を用い、NaCl またはソルビトール添加の浸透圧付加培地と湿度(41 ~ 98%)とを種々組合せ、個体(寒天)培地上での細胞の増殖、グリセロールの蓄積およびタンパク分子種の変動を追跡した。その結果、浸透圧耐性株では浸透圧付加条件下で高湿度により生育が促進され、感受性株では浸透圧による生育抑制が湿度を高めることで緩和された。浸透圧の強さに応じて蓄積量が増加する細胞内グリセロールは、ドライ環境(湿度 41%)でわずかに増加した。SDA-PAGE によるタンパクのバンドパターンは、NaCl とソルビトール存在下さらに固体培地上に置かれた細胞で各々異なったが、NaCl の濃度上昇に伴うタンパク分子の変動は、低湿度下では認められなかった。浸透圧付加時と低湿度下では、細胞の形態変化(小型化)は異なる傾向を示した。さらに、*Saccharomyces cerevisiae* の抗 Hog1p 抗体を用いて *Z. rouxii* の Hog1p の変動を調べたところ、湿度ストレスでの応答は浸透圧変化に応じた応答ほど顕著ではなかった。これらのことから、浸透圧付加と低湿度下での細胞の応答は同一ではないことが示唆された。浸透圧を付加した固体培地上で、異なる湿度条件で培養した時の、細胞のグリセロール量とタンパク分子種の変動について検討を加えた。

Recognition and response to the humidity by yeast

○Takushi Hatano, Sachie Okazaki, Hiroaki Matsuzaki
(Dept. Biotechnol. Fac. Life Sci. and Biotechnol. Fukuyama Univ.)

Key words yeast, humidity, glycerol

3D10-4 ラギタペをスターターとしたポテトパルプ発酵物の菌そう解析

○阿部 歩¹, 曾根 輝雄¹, Sujaya I Nengah², 斎藤 勝一³, 小田 有二³, 浅野 行蔵¹
(¹北大院農・応用菌学, ²北大院農・微生物資源生態, ³農研機構・北海道農研)

【目的】ラギタペはインドネシアの発酵食品スターターである。澱粉製造の副産物であるポテトパルプのラギタペ発酵物を食品として利用するために、その発酵物中の微生物菌そうの変化について調べることが必要である。ラギタペには乳酸生成糸状菌として *Amylomyces rouxii* の存在が確認されている。しかし、これらの糸状菌の菌そう解析は菌数の測定は困難である。DGGE (Denaturing gradient gel electrophoresis) 法は、菌そう解析によく用いられているが、糸状菌を対象とした報告は少ない。そのため、DGGE 法による糸状菌の菌そうを解析する方法を確立し、発酵物中の菌そう解析を行った。**【方法及び結果】**ラギタペを用いた発酵食品であるタペタン中に存在が確かめられている糸状菌(特に接合菌類)について、ITS1 領域付近を利用して DGGE 法で解析できる条件の検討を行った。米及びポテトパルプを滅菌後、ラギタペを 1% 添加し 27°C で培養を行った。乳酸及びエタノールの生成量の増加が見られなくなるまで経時的にサンプリングを行い、DGGE 及び生菌数の変化を調べた。その結果、米とポテトパルプの両方において *A. rouxii* の存在が確認され、その他の糸状菌についても両者の菌そうは類似していることがわかった。このことから、ポテトパルプは発酵食品素材として利用可能であると思われた。

Microflora analysis of potato-pulp fermented with *Ragi tape* as a starter

○Ayumi Abe¹, Teruo Sone¹, I Nengah Sujaya², Katsuchi Saito³, Yuji Oda³, Koza Asano¹

(¹Lab. Appl. Microbiol., Grad. Sch. Agr., Hokkaido Univ., ²Lab. Microb. Resour. Ecol., Grad. Sch. Agr., Hokkaido Univ., ³Nat. Agric. Res. Cent. Hokkaido Region)

Key words DGGE, rDNA ITS, *Amylomyces rouxii*