

2D11-3 メタン発酵における揮発性脂肪酸分解菌とメタン生成古細菌の相互作用の解析

○石井 俊一¹, 高坂 智之², 渡辺 一哉²
(¹海洋バイオ研 (NEDOフェローシップ養成技術者), ²海洋バイオ研)

近年、メタン発酵法が、バイオマスからのエネルギー回収法として、注目されている。しかし、揮発性脂肪酸 (VFA) の蓄積によって、発酵槽の処理能力が低下することが知られている。メタン生成古細菌と相利共生的に VFA を分解する *Pelotomaculum thermopropionicum* strain SI が、メタン発酵槽から単離された。吸エルゴン反応である VFA 分解反応は、吸エルゴン反応のメタン生成反応と共役して進行する反応である。その際には、水素分子が移動する事で、共生関係が保たれると考えられている。本研究では、SI 株とメタン生成古細菌を共生的に培養し、水素の産生および授受に焦点を当てて解析を行った。

SI 株とメタン生成古細菌 *Methanothermobacter thermoautotrophicus* deltaH を、エタノールを炭素源として嫌氣的回分培養を行ったところ、エタノールを分解し、メタン、水素、酢酸の生成が起こった。この様子を顕微鏡観察した所、SI 株と deltaH 株が付着している様子が見られた。この付着により、水素が効率良く SI 株から deltaH 株へ移されると考えられる。また、乳酸を用いて培養した場合は、この付着現象があまり見られなかった。これより、乳酸分解反応では、強固な相互作用で水素を授受する必要が無いと考えられる。

本研究は、経済産業省の『生分解・処理メカニズムの解析と制御技術の開発』の一環として、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構より委託を受けて、実施したものである。

Analysis of the correlation between *Pelotomaculum thermopropionicum* strain SI and methanogen at the methane fermentation

○Shun'ichi ISHII, Tomoyuki KOSAKA, Kazuya WATANABE (MBI)

Key words symbiosis, methane fermentation

2D11-5 乳酸菌による共役リノール酸 (CLA) 生産に関する酵素系の解明

○岸野 重信, 小川 順, 清水 昌
(京大院・農・応用生命)

【目的】共役リノール酸 (CLA) は抗癌作用、抗動脈硬化など多様な生理活性を示すことから近年注目を集めている機能性脂肪酸である。我々は、乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* AKU 1009a の洗浄菌体が休止菌体反応においてリノール酸を効率よく CLA へと変換することを報告している。本研究では、この乳酸菌を破碎して得られる cell-free extract (CFE) を用いて、リノール酸からの CLA 生産に関与する酵素系の解明を試みた。

【方法と結果】*L. plantarum* AKU 1009a の洗浄菌体を超音波破碎処理することにより CFE を得た。本 CFE を用いリノール酸からの CLA 生産を試み、変換反応が進行することを確認した。さらに、本 CFE を超遠心分離することにより得られる上清および沈殿画分について、CLA 生産活性を示す画分の検討を行なった。その結果、それぞれの画分単独では変換反応が見られず、超遠心上清および沈殿の両画分が存在するときのみ効率よく CLA 生産が進行することを認めた。また本 CFE に対し様々な化合物の添加効果を検討したところ、金属キレートである *o*-phenanthroline の添加により CLA 生産活性が著しく低下することを見いだした。

Studies on enzyme systems of lactic acid bacteria involved in conjugated linoleic acid (CLA) production

○Shigenobu KISHINO, Jun OGAWA, Sakayu SHIMIZU
(Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ.)

Key words conjugated linoleic acid (CLA), *Lactobacillus plantarum*, polyunsaturated fatty acid, conjugated fatty acid

2D11-4 *Mortierella alpina* 1S-4 由来の油脂漏出性変異株が菌体外に漏出する油滴小胞の膜構造について

○安藤 晃規¹, 井岡 勇児¹, 伊東 泰洋¹, 櫻谷 英治¹, 小川 順¹, 青木 一弘², 山本 憲二², 清水 昌¹
(¹京大院・農・応用生命, ²京大院・生命)

【目的】*M. alpina* 1S-4 から誘導された変異株 V6 株は、トリアシルグリセロールを多量に含有する油滴小胞を菌体外に漏出する。この油滴小胞は液体培地中に均一に分散するため、特異な界面活性を有する膜構造の存在が予想された。本研究では、油滴小胞膜を構成すると考えられる極性脂質の構造解析を目的とした。

【方法及び結果】TLC にて油滴小胞膜の脂質分析を行った結果、リン脂質及びセレブロシド様脂質の存在を確認した。この内主要成分のセレブロシド様脂質をシリカゲルカラムクロマトグラフィー及び HPLC を用いて精製し、3 種の分子種を得た。この内一つは GLC 及び GC-MS の分析結果から、ステロールにグルコースが結合したステロール配糖体であると考えられた。残りの 2 種はセレブロシドと考えられ、GLC、GC-MS、MALDI-TOF-MS による質量分析及び NMR 分析の結果から、グルコース、炭素数 14、15、16 の 2-ヒドロキシ飽和脂肪酸、9 位にメチル基、4 位と 8 位に二重結合を持つスフィンガジエニン型長鎖塩基から構成されるセレブロシド、および、グルコース、炭素数 14、15、16 の 2-ヒドロキシ飽和脂肪酸、炭素数 19 で、2 つの二重結合と 2 つの水酸基を持つヒドロキスフィンガジエニン型長鎖塩基から構成されるセレブロシドであると推定された。

Structural analysis of lipid body membrane excreted by *Mortierella alpina* 1S-4 mutant

○Akinori ANDO¹, Yuji IOKA¹, Tiyo ITO¹, Eiji SAKURADANI¹, Jun OGAWA¹, Kazuhiro AOKI², Kenji YAMAMOTO², Simizu SAKAYU¹
(¹Div. Appl. Life Sci., Agric., Kyoto Univ., ²Grad. Sch. Biostud., Kyoto Univ.)

Key words lipid excretion, polyunsaturated fatty acid, arachidonic acid, *Mortierella alpina*

2D12-1 油糧微生物 *Mortierella alpina* 1S-4 より誘導された変異株による triarachidonyl glycerol の蓄積

○野尻 増俊, 櫻谷 英治, 富 亜希子, 小川 順, 清水 昌
(京大院・農・応用生命)

【目的】*Mortierella alpina* 1S-4 から誘導された変異株 M1 は、パルミチン酸 (16:0) をステアリン酸 (18:0) に鎖長延長する酵素活性が低下していることから、天然では希少な n-4 系及び n-7 系高度不飽和脂肪酸から成る脂質を蓄積する。本研究では、M1 株を変異処理することにより、さらに多様な脂肪酸生成経路やユニークな脂肪酸組成を持つ変異株の探索を試みた。

【方法・結果】M1 株の胞子をニトロソグアニジン処理して得られた菌体の脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーで分析することで変異株の探索を試みた。変異株 NJ915 は n-4 系、n-7 系脂肪酸のみならず、アラキドン酸 (AA) 生合成の中間体となる脂肪酸も少なく、全脂肪酸に占める AA 含量は親株 (M1) や野生株 (1S-4) に比べてそれぞれ約 2.1 倍、約 1.2 倍高くなった。2% グルコース、1% 酵母エキスを含む培地 (pH6.0) で振とう培養 (28℃) し得られた菌体から抽出したトリアシルグリセロール (TG) の分子種分析を行った。本変異株の主要な TG 分子種は triarachidonyl glycerol (Tri-AA)、palmitoyl-diarachidonyl glycerol、tetracosanoyl-diarachidonyl glycerol の 3 種であり、1S-4 株で検出される分子種数より少なく、培養 7 日目の Tri-AA 含量は全 TG の約 55% に達した。

Accumulation of triarachidonyl glycerol by a mutant derived from an oleaginous fungus, *Mortierella alpina* 1S-4

○Masutoshi NOJIRI, Eiji SAKURADANI, Akiko TOMI, Jun OGAWA, Sakayu SHIMIZU
(Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ.)

Key words *Mortierella*, mutation, triarachidonyl glycerol, triacylglycerol molecular species