

## 2P-1173 セルロースフィルムを用いた新規微生物培養法の開発

○馬場 康輔<sup>1</sup>, 村山 晃一<sup>2</sup>, 今泉 卓三<sup>2</sup>, 後藤 直美<sup>2</sup>,  
青柳 秀紀<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 筑波大院・生命環境, <sup>2</sup> フタムラ化学 [株])

## 【緒言】

寒天平板培養法を基礎とした微生物純粋培養法により単離培養できる微生物は自然界の微生物の1%前後であることが示唆され、従来法の問題点を排除した新規培養法が求められている。Tamakiら<sup>1)</sup>はゲル化剤として寒天の代わりにゼランガムを用いて培地を作製し、培養を行った結果、寒天培地では得られなかった微生物のコロニーを得ることに成功した。しかしながら、この現象のメカニズムは十分に解明されていない。また、寒天やゼランガムは天然物のため品質にばらつきがあり、得られる結果の再現性に問題がある。そこで本研究では、材質が均一で物性の改変も容易なセルロースフィルムを活用した、微生物の新規培養法の開発を試みた。

## 【方法と結果】

YPD寒天培地上にセルロースフィルムを敷き、フィルム上で*Saccharomyces cerevisiae*を培養した結果、コロニーが良好に形成された。フィルム上のコロニーは全て容易に回収できた。ゲル化剤として寒天とゼランガムの2種類を用い、YPDとR2A培地を作成した。それぞれの培地上にフィルムを敷き、フィルム上に環境サンプルを塗布して培養を行い、フィルムを用いないYPDとR2A培地の系と比較した。その結果、YPDとR2A培地ではコロニー形成が認められないサンプルで、フィルムを用いた系ではコロニー形成が観察された。コロニーのDNAを抽出し、DGGE法で微生物叢を比較解析した結果、セルロースフィルムを用いた系でのみ得られる微生物の存在が示唆された。現在、微生物叢の詳細を解析中である。1) Tamakiら, *Env. Microbiol.* 11, 1827 (2009).

## Development of novel method for culturing microorganisms using cellulose film

○Kosuke BABA<sup>1</sup>, Koichi MURAYAMA<sup>2</sup>, Takuzo IMAIZUMI<sup>2</sup>,  
Naomi GOTO<sup>2</sup>, Hideki AOYAGI<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Grad. Sch. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, <sup>2</sup>Futamura Chem. Co., Ltd.)

**Key words** cellulose film, colony formation, gelling agent

## 2P-1175 リンの除去を目的としたビフィズス菌および乳酸菌のスクリーニングとその利用

○佐藤 麻由子, 青柳 秀紀  
(筑波大院・生命環境)

## 【目的】

慢性腎臓病では腎臓機能の低下により、尿素やクレアチニンなどの老廃物が体内に蓄積し、病気の進行に伴い血中のリン値が上昇する。現在、高リン血症治療剤として塩酸セベラマーや炭酸ランタン (CLa) などリン吸着剤が使用されているが、便秘や副作用などの問題があるため、QOLの観点から新たなリン除去法が求められている。新たなリン除去法として腸内有用微生物の活用が期待されるが、これまでリン除去能に着目し比較評価した研究はほとんどない。本研究では、リンの除去を目的としたビフィズス菌および乳酸菌のスクリーニングを試みた。

## 【方法および結果】

高リン血症治療剤はリン酸水溶液中では高いリン吸着能を示したが、各種培地中ではリン吸着能が大きく低下した (特にCLaは著しく低下)。JCM登録株の*Bifidobacterium breve*等のビフィズス菌9株、*Lactobacillus plantarum*等の乳酸菌7株を用いて静置培養を行い、リン酸イオン濃度 (リン除去能を評価)、pH、細胞量、糖消費など培養経過をモニターした。その結果、リン除去量は菌株により大きく異なった。単位菌体当たりのリン除去量で比較すると、全般的にビフィズス菌は乳酸菌に比べて高い値を示した (ビフィズス菌株間で比較するとリン除去能は約3倍の幅があった)。種々検討した結果、リン除去能を指標にプロバイオティクス用の腸内微生物のスクリーニングを行う事の意義が示唆された。現在、(a) 他のビフィズス菌や乳酸菌のリン除去能評価、(b) 効果的なリン除去が可能な条件、について検討中である。

## Screening of bifidobacteria and lactic acid bacteria for removing phosphorus and its application.

○Mayuko SATO, Hideki AOYAGI  
(Grad. Sch. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba)

**Key words** bifidobacteria, lactic acid bacteria, phosphorus removal

## 2P-1174 微小重力培養を活用した微生物の新規スクリーニング法の開発

○黒田 晶葉, 青柳 秀紀  
(筑波大院・生命環境)

【目的】近年、従来の微生物培養法により単離培養できる微生物は自然界に存在する微生物の1%前後であることが示唆され、従来法に代わる新たな培養法が求められている。この現状をふまえ、我々は微小重力培養に注目し、新規スクリーニング法として活用する事を考案した。これまで微小重力を微生物のスクリーニングに応用した研究は無く、微小重力に対して感度が高い微生物の存在の有無についても未解明な部分が多い。本研究では、微小重力培養による微生物の新規スクリーニング法の開発を最終目的とし、微小重力培養条件が環境サンプルの微生物叢に及ぼす影響を解析した。

【方法および結果】Schneider, LB, R2Aなど各種培地を適宜調整し、環境サンプルを接種し、微小重力培養装置 (Synthecon社) を用いて培養した。その結果、通常重力下の培養系に比べて、微生物叢の増殖促進、糖消費の促進、誘導期の短縮など、微小重力培養特異的な培養経過が得られた。変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) 法を用いて、種々の微生物叢を比較解析した結果、(a) 微小重力培養で特異的に増殖 (あるいは増殖促進)、(b) 微小重力培養で増殖が抑制 (あるいは阻害)、(c) 微小重力培養の影響を受けにくい、3種類のタイプの微生物の存在が示唆された (現在、微生物種を解析中)。また、種々検討した結果、微小重力培養を適切に用いる事で、微生物の新規スクリーニング法として有効に使用できる可能性が得られた。

## Development of a novel method for screening microorganisms using microgravity culture

○Akiha KURODA, Hideki AOYAGI  
(Grad. Sch. Life. Env. Sci., Univ. Tsukuba)

**Key words** Microgravity culture, Screening

## 2P-1176 培養温度と通気条件が設定可能な小型振盪培養システムの開発 (第2報)

○土田 貴之<sup>1</sup>, 澤田 宜介<sup>2</sup>, 青柳 秀紀<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup> 筑波大院・生命環境, <sup>2</sup> いわしやバイオサイエンス)

【目的】フラスコ等を用いた振盪培養法や培養条件は、ペニシリンが工業生産された1950年代に確立され、今日まで用いられてきた。近年、社会的ニーズとして新たな微生物機能の利用性の拡大が求められている。我々は従来の培養法や培養条件を見直すことで微生物利用の新たな可能性を見出せるのではないかと考え、フラスコ振盪培養法に換わる新規な小型振盪培養システムを開発した<sup>(1)</sup>。今回は新規培養システムの微生物スクリーニングへの適用を試みた。

【方法と結果】新規培養システムの酸素移動容量係数 ( $k_{La}$ ) [16.3~32.5 h<sup>-1</sup>], 揮発速度定数 ( $k_v$ ) [0.113~0.499 h<sup>-1</sup>], および培養温度 [10~50°C] や使用する培地を種々の条件で組み合わせ、環境サンプルを用いて集積培養を行った。経時的に、本システムと従来のフラスコ振盪培養法で得られる微生物叢を、PCR-DGGE法を用いて比較した結果、全般的に、本システムでは従来法と異なり特定の微生物の濃縮が認められた。また、従来法とは異なる微生物の存在が示唆された。種々検討した結果、適切な条件を設定することで、本システムが微生物スクリーニングに有用である事が示唆された。また、スクリーニングの効率を向上させるため、本システムを基本に、32サンプル同時培養が可能なシステムを作製した。現在、CO<sub>2</sub>などAir以外のガスを通気した系のスクリーニングを実施中である。

(1) H21生物工学会要旨P.175

## A novel method for in-vessel temperature and aeration control of an orbital culture system (part 2)

○Takayuki TSUCHIDA<sup>1</sup>, Yoshisuke SAWADA<sup>2</sup>, Hideki AOYAGI<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Grad. Sch. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, <sup>2</sup>Iwashiy Biosci.)

**Key words** orbital culture system, screening, aeration, PCR-DGGE