

海藻多糖ラミナランの酵素的分解

261 (第一報) ラミナラン分解菌の検索及び培養条件の検討

農水省食総研 ○春見隆文, 横山祥子, 林 清, 久保直哉

1) 目的 海藻中に含まれる貯蔵多糖類の一つ、ラミナランを酵素的に分解し、飼料や発酵原料として用いるなど、その有効利用をはかることを目的として、ラミナラン分解活性の強い微生物を検索し、同菌の菌学的性質及び培養条件の検討を行なった。

2) 方法 ペプトン 0.2%, 酵母エキス 0.1%, K_2HPO_4 0.05%, 乾燥コンフ粉末 (*Laminaria diabolica*, 300メッシュ) 0.3% よりなる寒天平板に、常法により土壤懸濁液を塗布して一定時間保った後、溶解斑を示すコロニーを釣菌した。また、培養条件の検討は、上記組成より乾燥コンフ粉末を除いたものを基本培地とし、これに種々の炭素源及び窒素源を加えて行なった。

3) 結果 土壤試料その他303点中より、コンフ粉末溶解活性の強い菌、7株(いずれも細菌)を選抜した。さらにこの中から、液体培養により二次選抜を行ない、最も活性の強い菌株を得、No.50株と命名した。本菌は有胞子性の桿菌で、好気性であることから、*Bacillus* sp. と判定された。ラミナラン、澱粉の他、アルコース、フルクトース、キシロースなどの単糖類、スクロース、マルトース、セロビオースなどの二糖類を炭化するか、一般に生育は不良であり、特に酵素生産に関しては、ラミナラン以外では殆んど効果は見られなかった。従って、本酵素は、ラミナラン特異性の誘導酵素と考えられる。窒素源ではコーンステアフルリカーに顕著な生育促進効果が見られ、ペプトン、トリプトンの2倍程度の酵素活性を示した。本酵素の若干の酵素的性質も合わせて検討した。

本報告は農水省大型別材研究バイオマス変換プロジェクトによった。(BCP-84-V-1-10)

Enzymatic Hydrolysis of Laminaran. (Part I) Isolation and Cultural Characteristics of Microorganism Producing Laminaran Hydrolyzing Enzyme.

○Takafumi Kasumi, Yoshiko Yokoyama, Kiyoshi Hayashi, and Naoya Kubo (Applied Microbiology Division, National Food Research Institute, 2-1-2 Kannondai, Yatabe-machi, Tsukuba-gun, Ibaraki 305)

Streptomyces sp. WAK-83 株の生産するキチナーゼについて

262 (広島大学工学部・工業微生物, *湧永興農)

○工藤雅義・寺田宏行・森永力・西村泰史・能美良作

1) 目的 キチンは甲殻類、昆虫類などに多く含まれ、また、菌類、藻類などの細胞壁にも存在している。キチンはこのように自然界に豊富に存在し、レガも植物組織中に含まれるセルロースなどに比して精製が容易であるにもかかわらず、ほとんど工業的に利用されてはいない多糖類である。我々は、このように大量に廃棄されるキチンを利用する試みの一つとして、酵素による加水分解を行ない、低分子化したキチンを再利用することを考え、まず強力なキチン分解酵素の取得を行なった。

2) 方法 まず土壤中よりキチナーゼ生産菌のスクリーニングを行なった。培地には、コロイダルキチン 2g, KCl 0.5g, K_2HPO_4 1.0g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, $FeSO_4$ 0.01g, 寒天 20g, 蒸留水 1l, pH 7.0 を用いた。土壤を殺菌水に懸濁し、その懸濁液を用いて塗抹平板法により分離した。次に、分離菌を上記液体培地(寒天を除いたもの)で培養し、その培養口液を用いてキチナーゼ活性を測定した。すなわち、培養口液を粗酵素液とし、キチン(半井製)を基質として酵素反応を行ない、生じたN-アセチルグルコサミンをモルガン・エルソン法により定量した。また、培養口液より硫酸沈殿、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過などを行ない、キチナーゼの精製を試みた。

3) 結果 土壤から56菌株を分離し、そのうちキチナーゼ活性の高かった *Streptomyces* sp. WAK-83株を取得した。本菌は形態的特徴、炭素源の炭化性などから放線菌の一新種であろうと思われる。本菌の培養口液より、硫酸沈殿で粗酵素を得、ゲルろ過後、DEAE-セルロース、ヒドロキシルアパタイト、ウルトラゲル AcA 54により順次精製を行なった。

Notes on chitinase produced by *Streptomyces* sp. WAK-83

Masayoshi Kudo, Hiroyuki Terada, Tsutomu Morinaga, Yasufumi Nishimura and Ryosaku Nomi

Dept. Ferment. Technol., Facult. Engineer., Hiroshima Univ., *Wakunaga Kono