

223 火落菌に対するモノクローナル抗体の作製

(大関総研) ○土肥健児・中村甚七郎・浜地正昭・本馬健光・布川弥太郎

1. 目的 清酒の火落ちに関する研究と共に、加熱殺菌法はもとより濾過法等除菌の技術も進み火落ちの現象は殆どなくなってきたが、その発生の可能性は未だ存在している。近年、消費嗜好の多様化と共に低アルコール酒や加熱殺菌を全く行わない「生酒」のように、火落ちの危険性のある製品が開発されている。一方、火落菌の検出は主として火落菌検出培地(SI培地)を用いる培養法が採用されているが、菌の数や存在の判定にはかなりの日数(1~2週間)を要している。これらの現状を踏まえ、短時間で確実に火落菌を検出する方法として抗原抗体反応を利用することを考え、火落菌のモノクローナル抗体の作製を試みた。
2. 方法 65°C 10分間加熱処理した火落菌(S-24)の菌体の生理食塩水懸濁液を免疫原として用いた。Balb/cマウスに前記免疫原を週2回の割合で10週間静脈内投与した。最終投与の3日後に脾臓を取り出し、骨髓腫細胞(P3U1)とPEG4000の存在下で常法に従って細胞融合を行った。火落菌に対して活性を有するハイブリドーマを選択し、*in vitro*で大量培養を行った。得られたモノクローナル抗体はaffi-gel Protein Aで精製した。さらに、モノクローナル抗体について免疫化学的な検討を加えた。なお、マウス血清中の抗体価の測定はELISA法を用いて行った。
3. 結果 RIB株の火落菌の生菌と、抗体分泌能・増殖性・安定性の優れたハイブリドーマとの反応性について、ELISA法及び膜免疫蛍光法を用いて検討した。この2つの測定法で共に反応性が認められたものを陽性とした。その結果、真性火落菌8株のうち4株と火落性乳酸菌4株のうち1株が得られたモノクローナル抗体との反応が陽性であることが分かった。

Preparation of Monoclonal Antibodies against Hiochi-bacteria.
 Kenji Doi, Jinshichiro Nakamura, Masaaki Hamachi, Takemitsu Honma, and
 Yataro Nunokawa. (General Research Institute, Ozeki Sake Brewing Co.,
 4-9 Imazu Dezaike-cho, Nishinomiya-shi, Hyogo 663)

多酸性酵母の検索と同定

224 (東京農大・醸造, 小玉合名*)

○角田潔和・小泉武夫・小玉健吉・野白喜久雄

1) 目的 野生酵母の中には性質が極めて特異なものがしばしば見出される。我々は樹液酵母や鳥獣糞酵母の中に難分解物や難資化物(ペタイン, サポニン, アルカロイド等)廃水中の澱粉や蛋白質などを分解, 資化する菌株や芳香物質を生産する菌株などのあることを報告した。本報では、これらの野生酵母の中に通常の酵母に比較し、多量の有機酸を生成する多酸性酵母を見出したので以下に報告する。

2) 方法 供試株として樹液酵母, 鳥獣糞酵母1200株, 東南アジア産麹から分離した酵母200株を用いた。Screening方法はGlucose 5%, Yeast ex. 0.5%, Polypeptone 0.5%, Malt ex. 0.3%よりなるYM培地に供試株を接種, 30°C, 5日間培養を行なった後、濾液中の酸度を測定した。このうち最も生酸量の高かった15株についてWickerham合成培地(Glucose 10%)に接種, 30°C, 7日間培養して生成された揮発酸, 不揮発酸を定量した。また生成された有機酸の定量は有機酸アナライザーにて行なった。

3) 結果 供試菌株約1400株中より非産膜性で酸度(10mlに対する%NaOH中和滴定ml数)が4.0以上示した15株を選んだ。さらにこれを用いて揮発酸度, 不揮発酸度を定量し、総酸が8.96を示したAN-109, 6.50のAN-208を最終目的株とした。有機酸組成についてはAN-109は乳酸を最も多く生成し, 5.48 mg/mlにも達した。AN-208も乳酸を2.79 mg/ml生成した。対照として用いた協会7号酵母では乳酸生成量が1.16 mg/mlだった。また両菌株について糖発酵性及び資化性, 孢子形成能, 形態観察を行なったところいずれも *Saccharomyces cerevisiae* と同定された。

Screening and identification for yeasts producing large amount of organic acid.

○Toshitaka Kakuta, Takeo Koizumi, Kenkichi Kodama* and Kikuo Nojima (Department of Brewing and Fermentation, Tokyo Univ. of Agriculture, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo, 156 * Kodama Brewing Co. Ltd., Iizuka, Iidagawa-machi, Akita, 018-15)