

372 嫌気性ルーメン細菌融合細胞の酵素によるリグニン関連物質の分解

(石大畠・食工化) °大森美香・陳 巍・大宮邦雄・清水祥一

1. 目的: リグニンを構成する主要な化学結合を切断する嫌気性ルーメン細菌の中で、協奏的に分解能を発揮する *Fusobacterium varium* と *Enterococcus faecium* を単離同定した。両菌株の細胞融合により、リグニン関連物質の分解能を改善し、分解生成物を同定するほど、多くの知見を得た。しかし、融合細胞の産生する酵素のリグニン分解特性に関する詳細は全く不明である。今回は融合細胞のリグニン関連物質分解酵素について検討した。

2. 実験方法および結果: *F. varium* と *E. faecium* の融合株 (FE-7) をデヒドロジバニリン (DDV, 50 mg/l) を含む酵母エキス培地 500 ml に絶対嫌気条件下で2日間培養し湿潤菌体 2 g を得た。その 0.5 g に DDV あるいはバニリン (V) の水溶液 (40 mg/l: Na₂CO₃ と CO₂ で pH 6.8 に調整) 1 ml を加之、37℃で酵素反応を行った。これらの操作はすべて嫌気条件下で行った。一方湿潤菌体 1 g に酸化アルミニウムを3倍容添加し、20 mM メルカプトエタノール存在下で磨砕した。これをトリス緩衝液で抽出・遠心し、上清を酵素液として DDV あるいは V の分解を、37℃で試みた。反応終了後、反応液上清を高速度液体クロマトグラフィー (カラム: Finepak SIL C18S, 溶媒: CH₃CN:H₂O=25:75) にかけたところ、菌体に直接基質を反応させた場合には、1日で DDV が 32%, V が 9% 減少し、かわりに保持時間が 3.0 分 (基質: DDV), および 4.0 分 (基質: V) の新しい成分が生成されていた。また、菌体より抽出した酵素液を用いた場合には、DDV が 6%, V が 4% 減少し、保持時間がそれぞれ上記と同様の両成分が生成されていた。これらの結果から、絶対嫌気性の細胞融合株 FE-7 より DDV や V を分解できる酵素を抽出し、酵素反応を行わせることが可能となった。

Enzymatic degradation of lignin related compounds by a fusant between *Fusobacterium varium* and *Enterococcus faecium*.
Mika Ohmori, Wei Chen, Kunio Ohmiya, and Shoichi Shimizu.
Department of Food Science and Technology, School of Agriculture,
Nagoya University.

373 窒素固定菌による多糖の生産 (第二報)

(筑波大・応生化) °宮城文敬, 遠藤 敏, 田中秀夫

(工技院・微工研) 染谷淳一郎, 佐藤昭雄

1. 目的 前報において、土壌中より分離した多糖生産能を有する窒素固定菌 *Beijerinckia indica* N-7 の生理的性質及び基礎的な培養条件等を報告した。今回は本菌における酸素、窒素 (無機・有機) 濃度を中心とした、より詳細な培養条件について検討し、さらに生産多糖の物性、構成糖についていくつかの知見を得たのでここに報告する。

2. 方法 原則として前報と同様に行った。

3. 結果 酸素分圧 10~20% では比増殖速度 (μ)、菌体・多糖収率に変化はなかった。20% の場合に比べ 10% では誘導期が十数時間短縮したが、基質を完全消費するまでの時間は延長した。また、30% 以上では増殖及び多糖生産に対して阻害が認められた。窒素分圧の違いは菌体・多糖収率に対して影響は無いが、窒素分圧の減少に伴い誘導期が延長し、 μ_{max} が低下していった。これらの結果をふまえ、酸素による増殖阻害を避け、かつ窒素を十分に供給するため対数増殖期の前後で各分圧を O₂ 10%-N₂ 90% から O₂ 20%-N₂ 80% にしたところ単位菌体量当り通常の約 2 倍の多糖を得ることに成功し、培養時間も短縮することができた。また、アンモニア態無機窒素は唯一の窒素源としては利用されなかった。通気培養系へのペプトンの添加 (0.1%) は誘導期を消失させた。抽出した多糖の水溶液は凝塑性流体で 1% にて 3500 cP を示し、同濃度の Xanthan Gum よりも高粘度であった。また本多糖は中性多糖と酸性多糖とに分けられ、前者について酸加水分解し、TLC にて構成糖を検索したところ、Glucose, Galactose, Mannose, Xylose と推定された。現在、後者の構成糖、さらに多糖のより詳細な物性、生理活性等について検討中である。①田中秀夫ら 日才醗酵工学会大会講演要旨集 P.132 (1985)

Polysaccharide Production by Nitrogen-fixing Bacteria (Part II)

°Fuminori Miyagi, Satoshi Endo and Hideo Tanaka (Institute of Applied Biochemistry, Tsukuba University, Ibaraki 305)

Junichiro Someya and Akio Sato (Fermentation Research Institute, Tsukuba, Ibaraki 305)