

もつ¹⁾をつくる。結果的に虫歯菌-グルカン-食物のカスからなる複合体、いわゆる歯垢が形成されてスペースとしたエナメル質の歯の表面に付着する。この酵素を何かで阻害して働けないようにしたら歯垢は形成されず、従って虫歯も起こりにくくなると考えられる。

実際に、ヒト虫歯菌から GTF を取り出して、この酵素を阻害する物質を広く微生物の培養液からスクリーニングして、放線菌の仲間のマイクロモナスポラ属の1菌株が強力な GTF インヒビターを産生することを見出し、M-GTFI と名づけ²⁾目下精製中である。

M-GTFI を実際に虫歯菌の培養液に添加すると、菌そのものの生育は大して影響されないが、粘着性の強いグルカンの生成は阻止される。酵素阻害機構の解析から、本インヒビターはショ糖と何ら拮抗しない非拮抗型の阻害型式を示す分子量10,000前後の酸性物質で、かつ唾液等による消化にもきわめて安定な物質である。

虫歯菌にもいろいろの種類(血清型で a から g まで)があるが、M-GTFI は、すべてのタイプの虫歯菌から得られた GTF をも阻害できることが分かっており、適用範囲が広く今後の応用が期待される。

エンザイム インヒビターという概念からの、この種の阻害剤としては、1放線菌がつくるリボシトリン³⁾(ホモクエン酸にリボースが3分子結合したもの)やアスペルギルス属かびがつくる糖タンパク質、ムタステイン⁴⁾その他公開特許公報に二、三認められる。

フラボノイド類が、この種の酵素を阻害することも最近明らかになっている。⁵⁾

- 1) Hare, M. D. *et al.*: *Carbohydr. Res.*, 66, 245 (1978).
- 2) 上田ら: 日本農芸化学会大会要旨集, p. 424 (1982); p. 219 (1983); p. 505 (1984); *Infect. Immun.* に投稿中.
- 3) Okami, Y. *et al.*: *J. Antibiot.*, 34, 344 (1981).
- 4) Endo, A. *et al.*: *J. Antibiot.*, 36, 203 (1983).
- 5) Iio, M. *et al.*: *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2143 (1984).

(熊本大・薬学部・上田 勝)

ワイン貯蔵中の不活性ガスの利用¹⁾

ワインをタンク等に貯蔵している間に生起する事故のうち、酸素の存在が誘因または原因となるものに、過度の酸化現象および *Saccharomyces bayanus* 等の産膜性酵母に代表される好気性微生物の繁殖がある。これらの事故を防止するためには亜硫酸の添加が一般的であるが、添加した亜硫酸はワイン中のカルボニル化

合物やフェノール性化合物に結合することにより遊離型から結合型の亜硫酸に変化したり、ワイン中に溶存する酸素と結合することにより硫酸塩等に変化する。

このため、貯蔵容器の上部に大きな空間を有する、いわゆる端桶(はおけ)の状態では、空間に存在する酸素の影響を著しく受けることとなる。また、亜硫酸耐性の著しく強い産膜性酵母が貯蔵中のワインに生存しているときには、全亜硫酸として 150 mg/l 以上の亜硫酸がワインに含有されていても、表面に被膜を形成し、酒質の劣化を招く。

タンク貯蔵中のワインについては、月に一回の頻度で亜硫酸濃度を測定し、減少分を補てんすることが望ましいが、この場合無水亜硫酸を使用しないでメタ重亜硫酸カリウムを用いて繰り返し亜硫酸を補てんすると、ワイン中に残存するカリウム量が増大し、苦味の原因となる。

端桶でワインを貯蔵する際に窒素ガス等の不活性ガスで上部空間を充満させることが酒質劣化防止に有効であることは、Mondavi P. (1960) および Ribéreau-Gayon J., Peynaud E. (1961) により認められている。フランスでは、1969年10月6日付農務省通達により、果醪およびワインの入ったタンクの上部空間を不活性ガスで置換することを許可した。不活性ガスとしては二酸化炭素、窒素およびアルゴンが認可したが、アルゴンガスは経済性等の理由から使用されていない。

本邦においても、不活性ガスによるワイン貯蔵管理が近年ようやく実施されるようになった。ただし、酒税法基本通達により 20°C におけるガス圧が 0.5 kg/cm² 以上の二酸化炭素を含有する酒類は、発泡性を有するものとして酒税が加算されるので、窒素ガスの使用が賢明である。なお、用いる窒素ガスの品質は必ずチェックし、異臭を付与することのない高純度のものであることを確認することが重要である。

貯蔵タンクの上部空間の窒素ガス圧は、0.1~0.2 kg/cm² を保持すれば十分である。したがって、特に耐圧性の優れたタンクでなくとも、密閉性の良い清潔なものであれば目的を達する。貯蔵時の不活性ガスの使用は、あくまでもワインに接触する酸素量を減少させることにあるため、乳酸菌の汚染を防ぐためには貯蔵当初に亜硫酸を使用することは不可欠であることを申し添えておく。

本法は、酸化を忌避する酒類・食品等には普遍的な方法であるが、特に詰口数量の関係から端桶になりや

すい清酒や焼酎の貯蔵にも応用を検討してはどうだろうか。

1) Ribéreau-Gayon, J. et al.: *Sciences et Techniques du Vin*, Tome 3, 81, Bordas, Paris (1976).

(醸造試・戸塚 昭)

シクロデキストリンの バイオテクノロジーへの応用

百日咳菌 (*Bordetella pertussis*) は、1906年に Bordet により患者喀痰より分離されたグラム陰性の短桿菌であり、以来、医学細菌学の分野では盛んに研究されている細菌である。本菌は血液を含む Bordet-Gengou (BG) 培地上では生育するが、合成培地上での生育は難しく、しばしば“相変化”と称する変異を起こし、その病原性、すなわち毒素産生能等を欠失する。合成培地上での生育が困難な理由は、peptone, surfur, peroxide, manganase や fatty acids 等が増殖阻害因子として働くためと報告されている。

さて、本菌の産生する百日咳毒素 (Pertussis Toxin; PT) はインシュリン分泌促進活性、リンパ球増多活性、アジュバント活性等を示し、近年細菌学者のみならず薬理学者等から注目されているタンパク質である。また世界に先がけて日本で開発された改良百日咳ワクチンの主要な成分であり、百日咳菌が産生する繊維状赤血球凝集素 (Filamentous Hemagglutinin; F-HA) とともに、予防医学上きわめて重要なタンパク質であることが知られている。PT および F-HA を従来、かく拌培養で効率よく得ることは困難とされており、特に F-HA はたとえ静置培養で産生させてもかく拌条件にするとすぐに活性が消失してしまう¹⁾ ことから、上述のワクチンは多数の培養瓶による静置培養法により製造されており、効率のよいかく拌培養系でのワクチンの製造が望まれていた。

今泉らは、百日咳菌の培養に包接能を有するシクロデキストリン (CD) 類の添加を企図した。血液を含まない合成固型培地 (ステナー・ショティー; SS 培地) での生育促進能の比較を、各種 (D 類を用いて行った。その結果、2,6-O-dimethyl β -cyclodextrin (Me β CD) を培地に0.1%添加することにより、合成固型培地上で BG 培地と同等の生育が観察された。²⁾ さらに PT と F-HA の産生に及ぼす Me β CD の効果を 500 ml 容坂口フラスコを用い、液量 200 ml の SS 培

地を用いて振とう培養下検討した。PT 産生については、無添加系に比し1%の Me β CD の添加は約100倍の産生量の増大をもたらした。また最適培養条件の検討を行うことにより、従来の静置培養法(5日間培養)の約10倍の産生量が約40時間の振とう培養で得られた。³⁾ また F-HA の産生についても、Me β CD の添加は無添加系と比し約1,000倍の産生量の増大が得られ、これらも従来の静置法の2~4倍ほどの産生量の増大が認められた。⁴⁾ Me β CD 添加かく拌培養より得られた PT および F-HA は、Me β CD 非存在下静置培養で産生されたものと電気泳動的、免疫化学的および形態学的差異は認められなかった。さらに 300 l 容発酵槽を用いたスケールアップに成功し、効率的でかつ高力価のワクチン製造が達成できた。

シクロデキストリン類を病原微生物の培養、特にワクチン製造に応用し、成功した例を示したが、今後、Me β CD の作用機作の解明とともに、培養が困難な種々の微生物の培養系への Me β CD の応用が期待される。

- 1) Arai, H., Munoz, J. J.: *Infect. Immun.*, 25, 764 (1979).
- 2) Imaizumi, A. et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 17, 781 (1983).
- 3) Imaizumi, A. et al.: *Infect. Immun.*, 41, 1138 (1983).
- 4) Imaizumi, A. et al.: *J. Microbiol. Methods*, 2, 339 (1984).

(帝人・生医研・今泉 厚, 鈴木洋二)

微生物による石油三次回収

既往の採油技術によって、二次回収が終了した油層にはなお大量の原油が残されており、その回収率は平均30~35%といわれている。この残留油を強制的に回収しようとするのが EOR (Enhanced Oil Recovery) と呼ばれている三次回収で、石油ショック以降、一、二次回収が終わり、捨てられていた油田の再生が注目を集めるようになり、種々の三次回収技術が開発されてきている。これらは主に物理化学的な EOR 技術であるが、最近、微生物を石油三次回収に利用する (Microbial EOR: MEOR) 試みが注目されている。これは、既往の物理化学的 EOR 諸法ほどには技術的に確立されていないが、操作コストが安いことや回収効率改良の可能性などから、その開発が期待されている。

石油三次回収への微生物の利用にはいくつかのアプローチが試みられているが、ここでは、選択された微