

I-3. 多糖類分解酵素の生産菌の探索および特性解明

食品総合研究所 応用微生物部 酵素利用研究室

原 口 和 朋

1. 目的

未利用多糖類に微生物酵素を作用させ、ダイエット甘味料、新規食品素材となる糖類を生産することを目的とする。対象となる多糖類としてはキクイモなどに貯蔵多糖として大量に含まれる物質であるイヌリンを選定した。検索するイヌリン分解酵素生産菌としては細菌に焦点をしばってスクリーニングを行った。

2. 経過

千葉県天津小湊町に昭和62年10月12, 13日の両日おもむき、大風沢川流域の水田、畑地などの土壤50点を採取した。この試料を分離源として用い、集積培養、寒天平板分離などの手法を用いてイヌリン資化性菌約200株を分離した。このようにして得られた菌株を個別に液体培養し培養上清を粗酵素液としてイヌリンと反応させた。生じた反応生産物をペーパークロマトグラフィーによって分析した。菌体外にイヌリン分解酵素を生産することが示された菌株約100株についてイヌリン分解酵素の酵素活性を測定した。その結果、高活性を示した優良株6株を選定された。

3. 収集成果

各地点別の土壤試料の採取数および分離されたイヌリン分解酵素生産菌の株数は表2に示すとおりである。海岸に近い低地から採取された土壤からより多くのイヌリン分解酵素生産菌が分離されるという傾向がみられた。イヌリン分解活性の高い6菌株については表3に示した。これらの菌株の分類学的性質について検討を行うと、6株はいずれもグラム陽性の好気性細菌であった。またカタラーゼ陽性、運動性が見られない、胞子を作らないなどの点でも良く一致していた。これらのことから6菌株はいずれも *Corynebacterium*, *Arthrobacter* などのコリネフォルムバクテリアに属することが明らかにされた。コリネフォルムバクテリアの分類同定に関してはDNAのGC含量、キノンの同定、細胞壁のペプチドグリカンの組成の分析などの chemotaxonomy の手法の導入が不可欠であり、更に検討を行う必要がある。優良株として選定された6株については、イヌリン分解酵素の分離精製を行い、目的酵素の特性解明を行ってゆく予定である。

4. 所感

今回のようなきわめて短期の探索事業では必要な微生物の分離源を採取できたとは言えない。また今回は1名のみによって試料の採取を行ったが実際の行動にはきわめて困難が多かったのが実情である。このような事業を行うには2名以上でチームを作って行動することが必要である。

表1. 探索・収集日程表 (千葉県, 1987)

月 日	旅 程	行 動 内 容
10月12日(月)	筑波-東京-小湊	試料採取
10月13日(火)	小湊-東京-筑波	陸路移動

表2. 収集記録表

収集地点	収集試料数	酵素生産菌株数
A	15	46
B	17	30
C	18	25

表3. イヌリン分解酵素高生産株

菌 株 名	試料採取地点	グラム染色	酵素活性 (U/ml)
K-2-2	A	+	0.76
K-3-1	A	+	0.78
K-9-1	A	+	0.90
K-10-2	A	+	0.54
K-31-4	B	+	0.61
K-36-3	C	+	0.50

表 4. 国内微生物遺伝資源の現地収集実績 (62年度調査分)

微生物群	微生物種類	利用区分	菌株整理番号	対象微生物(属・種名または目的微生物)	分離源
300	01	20	K-2-2	<i>Coryneform bacteria</i>	土 壤
300	01	20	K-3-1	<i>Coryneform bacteria</i>	土 壤
300	01	20	K-9-1	<i>Coryneform bacteria</i>	土 壤
300	01	20	K-10-2	<i>Coryneform bacteria</i>	土 壤
300	01	20	K-31-4	<i>Coryneform bacteria</i>	土 壤
300	01	20	K-36-3	<i>Coryneform bacteria</i>	土 壤

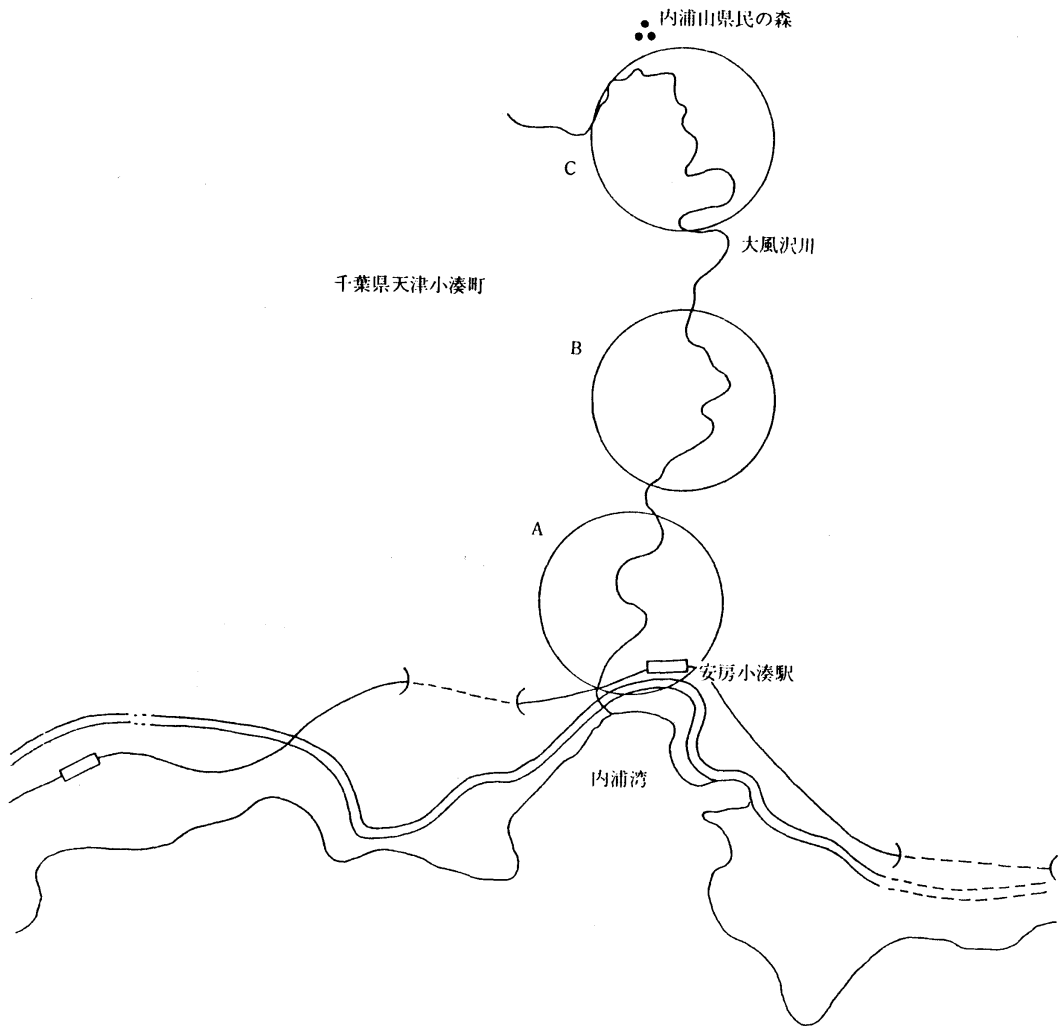


図 1 探索収集関連地図

収集年月	収集場所	特 記 事 項
62. 10	千葉県天津小湊町	イヌリン分解酵素生産菌
62. 10	千葉県天津小湊町	イヌリン分解酵素生産菌
62. 10	千葉県天津小湊町	イヌリン分解酵素生産菌
62. 10	千葉県天津小湊町	イヌリン分解酵素生産菌
62. 10	千葉県天津小湊町	イヌリン分解酵素生産菌
62. 10	千葉県天津小湊町	イヌリン分解酵素生産菌