

## 多糖類を産生する低温微生物の培養

高橋哲也<sup>1</sup>, 星野保<sup>2</sup>, 麻生祐司<sup>3</sup>, 近藤哲男<sup>4</sup>, 工藤栄<sup>5</sup>, 伊村智<sup>5</sup>, 神田啓史<sup>5</sup>

<sup>1</sup> 島根大学教育学部,

<sup>2</sup> 産業技術総合研究所 北海道センター, <sup>3</sup> 京都工芸繊維大学大学院, <sup>4</sup> 九州大学大学院農学研究院, <sup>5</sup> 国立極地研究所

### Isolation culture of the cold-adapted microorganisms for polysaccharide producing

Tetsuya Takahashi<sup>1</sup>, Tamotsu Hoshino<sup>2</sup>, Yuji Aso<sup>3</sup>, Tetsuo Kondo<sup>4</sup>, Satoshi Imura<sup>5</sup>, Sakae Kudoh<sup>5</sup>, and Hiroshi Kanda<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Education, Shimane University,

<sup>2</sup> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, <sup>3</sup> Department of Biobased Materials Science, Kyoto Institute of Technology, <sup>4</sup> Faculty of Agriculture, Kyushu University, and <sup>5</sup> National Institute of Polar Research

A low-temperature culture was applied to the microbes that were collected in Antarctica and Hokkaido, which were expected to produce polysaccharides. As a control, acetic acid bacterium was also treated with a similar culture method. As culturing conditions, at three levels of temperatures (4°C, 15°C, and 30°C), a shaking culture was applied for 35 days using potato dextrose as a liquid culture medium. As a result, in *Microdochium nivale* (No.1) collected in Hokkaido, the culture at 4°C clearly formed pellicles, and the culture at 15°C formed a large amount of pellicles. However, the culture at 30°C did not form any pellicles, showing that this microbe was clearly psychrophilic. In *Rhodotolura glacialis* (No.3), *Cryptococcus gastricus* (No.4) and *Cryptococcus victoriae* (No.5), which were collected in Antarctica, a similar pattern was observed: Although the culture at 4°C formed pellicles, cultures at 15°C and 30°C formed little pellicles. On the other hand, in acetic acid bacterium used as a control, while the cultures at 4°C and 15°C did not form pellicles at all, the culture at 30°C formed a large amount of pellicles. At present, for obtained bacterium celluloses, confirmation of the fine network structure and other features are conducted using a scanning electron microscope.

セルロースは、我々の生活において多く用いられている有用な生物資源である。このセルロースの大部分は樹木などの高等植物によって生産される。しかし、微生物でも産生でき「バクテリアセルロース」と呼ばれる。植物セルロースとは異なる性質を示すために、新しい素材として非常に注目されている。

南極大陸は低温で且つ貧栄養な極限環境である。また、そこに生息する動植物は他地域との交流も非常に少ないため、特異な微生物が分離培養できるものと期待される。そこで、南極および北海道の各地域より採取された多糖類産生が期待できる微生物に対して、低温培養を行った。比較として、酢酸菌についても同様の培養を行った。なお、培養に関しては、4°C、15°C、30°Cの3つの温度条件にてポテトデキストロース液体培地 50ml を用いて 35 日間の振盪培養を行った。

その結果、北海道産紅色雪腐病菌 *Microdochium nivale* (No.1) では、4 °C 培養で明らかにペリクルを形成し、15 °C 培養では大量のペリクルを形成した。一方、30 °C 培養になると全くペリクルを形成せず、明らかに好冷性を示した。また、南極産の *Rhodotolura glacialis* (No.3)、*Cryptococcus gastricus* (No.4)、*Cryptococcus victoriae* (No.5) でも同様の傾向が見られ、4 °C 培養ではペリクルを形成するものの、15 °C 培養や 30 °C 培養ではあまりペリクルを形成しなかった。一方、比較のために用いた酢酸菌では、4 °C 培養や 15 °C 培養では全くペリクルを形成しないのに対して、30 °C 培養では大量のペリクルを形成した。現在、得られたバクテリアセルロースに対して、走査型電子顕微鏡にて微細な網目構造などの確認を行っている。

Table 1 States of growing bacterial cultures for 35 days (Using potato dextrose liquid medium)

Sample	Place	Culturing temperature		
		4 °C	15 °C	30 °C
1. <i>Microdochium nivale</i>	Hokkaido	++ , Formed pellicle 8.56	+++ , Formed pellicle 8.54	— 3.23
2. <i>Mrakia</i> sp.	Antarctica	+ 2.95	+ 0.66	+ 0.64
3. <i>Rhodotolura glacialis</i>	Antarctica	++ 8.53	— 5.95	— 1.51
4. <i>Cryptococcus gastricus</i>	Antarctica	++ 4.90	+ 4.12	+ , Formed pellicle (a little) 1.25
5. <i>Cryptococcus victoriae</i>	Antarctica	++ 5.37	+ 4.78	+ , Formed pellicle (a little) 0.63
6. <i>Leucosporidium antarcticum</i> S4-B strain	Antarctica	++ 3.29	+ 6.35	— 1.18
7. <i>Leucosporidium antarcticum</i> NBRC1917 strain	Antarctica	++ 1.95	— 0.72	— 2.23
8. Acetic acid bacterium	(Cont.)	— 0.30	— 1.93	+++ , Formed pellicle 7.26

Upper: Culture state

Lower: Dry weight / medium (mg/ml)