

## *Ruminococcus albus* NE1 による mannan 代謝機構の解析

生命分子化学講座 生物化学分野

中島 碧

【背景および目的】ルーメン細菌の一種である *Ruminococcus albus* NE1 は、cellulose の資化性に優れ、cellulase、cellobiose phosphorylase および cellobiose 2-epimerase (CE) などの cellulose 代謝関連酵素を持つ。しかし、cellulose と比べ hemicellulose の一種である mannan の代謝に関する知見は少ない。本研究では、*R. albus* NE1 の mannan およびその分解物に対する資化性を検証した。

【手法および結果】4 種類の mannan に対する *R. albus* NE1 の資化性を検討した。mannan が不溶性なため濁度では菌の増殖を評価できなかったが、培養 60 時間ですべての mannan が消失し、菌体の沈殿が確認された。このことから本菌が mannan を資化したことが明らかになった。培養上清には mannan 分解物である mannose および mannobiose が検出されたため、本菌は菌体外に  $\beta$ -mannanase を分泌すると考えられた。

次に mannose および mannobiose と cellulose 分解物である glucose および cellobiose を炭素源として増殖曲線を作成した。cellobiose、glucose および mannobiose をそれぞれ炭素源とした培養液では菌の増殖が見られ、培養上清から残存糖はほとんど検出されなかった。mannose を炭素源とした培養液では菌の増加は見られず、培養上清からは mannose が検出された。よって本菌は glucose、cellobiose および mannobiose は代謝されるが、mannose を取り込めないことが明らかになった。

mannan を炭素源とした時の培養菌体の無細胞抽出液を mannobiose に作用させ、生成物を解析した。MES buffer (pH 7)中、37°Cで反応させ、経時的に反応生成物を TLC で分析した。TLC 解析の結果から、反応開始から 30 分後には 4-*O*- $\beta$ -D-mannopyranosyl-D-glucose (ManGlc) のスポットが見られ、同時に glucose および mannose のスポットが見られた。これら 3 スポットは反応時間に伴い、増加した。次に、同様な方法で無細胞抽出液を ManGlc に作用させた。反応生成物を TLC 解析したところ、反応開始から 30 分後には glucose および mannose のスポットが見られ、反応時間に伴い増加した。

【考察】本菌は mannan を菌体外  $\beta$ -mannanase により mannose あるいは mannobiose まで分解する。分解産物である mannobiose は菌体内に取り込まれた後、CE による異性化を受け、ManGlc に変換される。次いで、glucose と mannose に分解されると推測された。