

# 黒毛和種ルーメンにおける重要デンプン分解菌の

## 機能に関する基礎的研究

生物資源科学専攻 家畜生産生物学講座 動物機能栄養学 中光大輔

### 1. 背景と目的

黒毛和種は日本の肉用牛飼養頭数の約70%を占める重要な肉用品種である。本品種は良好な脂肪交雑を得るために長期間の穀物飼料多給による肥育を行うため、安定生産においては健全な第一胃（ルーメン）発酵を維持することが極めて重要である。肥育期の黒毛和種ルーメン内では、デンプン分解菌として知られる *Ruminococcus bromii* に近縁な細菌群（グループC1）の分布量が増加し、総細菌の約30%を占めることがこれまでにわかっている。このことから、グループC1が黒毛和種肥育牛のルーメン内における飼料分解および発酵に大きく貢献している可能性が高い。本研究では、グループC1に属する分離培養株を用いた培養試験を行い、黒毛和種の安定的なルーメン発酵に貢献する重要細菌の機能に関する基礎的知見の取得を目指した。

### 2. 方法

**実験1) アミラーゼ発現解析** 黒毛和種肥育牛ルーメン由来の分離株 YAB-127 株を供試菌株として用いた。ゲノムシーケンシングを行ったのち、遺伝子機能予測によりゲノム上に存在するアミラーゼ遺伝子を特定した。異なる炭素源（グルコース、マルトースまたは可溶性デンプン）を基質として培養し、各アミラーゼ 遺伝子の発現解析を行った。

**実験2) 他菌との相互作用に関する解析** YAB-127 株およびルーメン内最優勢菌種の一つである可溶性糖類利用菌 *Selenomonas ruminantium* の分離株 S137 株の2菌株を供試菌株として用いた。粗飼料と穀物飼料を2:8の割合で含む培地で各菌株を単独もしくは共培養し、還元糖濃度および発酵代謝産物濃度を測定した。

### 3. 結果と考察

**実験1)** 遺伝子機能予測により YAB-127 株のゲノム上には14のアミラーゼ遺伝子が存在することが明らかになった。発現解析を行った4つのアミラーゼ遺伝子のうち、いずれの炭素源を基質とした場合でも、ORF2840の発現が他に比べて高く、この遺伝子がコードするアミラーゼが特にデンプン分解に貢献している可能性が示唆された。また ORF2840 の発現量をそれぞれの基質を用いた場合で比較したところ、有意な差は認められなかった。以上より、ORF2840 がコードするアミラーゼ が YAB-127 株のデンプン分解において重要な役割を担い、その発現は構成的であることを明らかにした。

**実験2)** 培地中の還元糖濃度は、共培養区において YAB-127 株単独培養区よりも有意に減少した。これは YAB-127 株のデンプン分解によって蓄積された還元糖が *S. ruminantium* によって消費されたためと考えられる。共培養区では、各菌株単独培養区と比較して、プロピオン酸濃度の増加と乳酸濃度の減少が認められ、YAB-127 株の主要な発酵産物である乳酸が *S. ruminantium* によってプロピオン酸に変換されることを確認した。したがって、黒毛和種ルーメン内では C1 グループ細菌が産生する乳酸は可溶性糖類利用菌との協調作用で肉牛の主要なエネルギー源となるプロピオン酸に変換されることが示唆された。