

117

Bacillus colistinus 自己溶解酵素の研究

(信州大、繊維、応用生物)

○宇都宮千恵、黒田章夫、関口順一

(目的) 抗生物質 Colistin の生産菌である、*B. colistinus* は、定常期に入ると、急激に溶菌する。本研究では、その自己溶解機構の解明のため、メジャーな溶菌酵素の精製を目的とした。

(方法、結果) 完全に溶菌させた培養上清から沈澱物を除き、硫酸で塩析することにより、タンパク質を沈澱させた。40%-80%の飽和硫酸により、ザイモグラフィでメジャーと思われる 18 kDa, 23 kDa のタンパク質が分画できた。これら2つのうち、18 kDa のものは対数増殖後期に、23 kDa のものは溶菌が始まってから現れた。しかしながら、活性測定の結果、これら2つのタンパク質は、強い活性を持っているわけではなく、溶菌酵素としてはマイナーなものであった。現在は、強い活性をもつ酵素を DEAE-セファロース、ヒドロキシアパタイトカラムなどにより精製を進めている。

Studies on *Bacillus colistinus* autolysins.

Chie Utsunomiya, Akio Kuroda, Junichi Sekiguchi.

Department of Applied Biology, Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, 3-15-1 Tokida, Ueda-shi, Nagano 386, Japan

118

抗生物質イチュリンを生産する枯草菌 RB14 の性質

(東工大・資源研) ○安積 織衛、阿野 貴司、正田 誠

【目的】 植物病原菌に対して抑制効果を示す菌として枯草菌 *Bacillus subtilis* RB14 を単離した。この菌を微生物農薬として利用する目的で、菌の生産する生理活性物質、土壌定着性等について調べた。

【方法および結果】 1) 抗菌スペクトル・・・各種植物病原菌に対する抗菌活性をプレート上で調べた。その結果、調べた11種の植物病原菌すべてに対して大きな阻止円を形成した。当研究室で既に見つかっている NB22 株より強い抗菌活性を有することが示された。2) 生産する生理活性物質の同定・・・当研究室で開発した抗生物質イチュリンを HPLC により定量する系で調べたところ、RB14 がイチュリンを生産していることが判った。また、TLC 分析によってイチュリン以外の大きなスポットが観察された。このスポットの物質についてマススペクトル、赤外吸収スペクトル、アミノ酸分析等を行ったところ、界面活性剤の一種であるサーファクチンであることが判った。3) 土壌定着性・・・畑作に使用される平塚土壌に RB14 の滅菌水懸濁液を接種し、全菌数と孢子数の経時変化を調べた。温度は 15℃ で一定とした。その結果、栄養細胞は接種後次第に死滅していくものの、孢子は 40 日以上にわたって安定に生存し続けることが判った。4) 固有プラスミド・・・この菌はプラスミド pA1 (約 8.1 kbp) を保持している。この pA1 は通常のキュアリング法でキュアリングしないことから、pA1 を利用した安定な組み換え体の作製が可能であると思われた。

Characteristics of *Bacillus subtilis* RB14 which produces antifungal antibiotic iturin

○Orie Asaka, Takashi Ano, Makoto Shoda

(Research Lab. of Resources Utilization, Tokyo Institute of Technology)