

801 枯草菌のiturin A高濃度培養液による植物病抑制効果

○水本真司, 平井光代, 阿野貴司, 正田 誠 (東工大・資源研)

【目的】我々は、枯草菌を微生物農薬として利用出来ること、またこの菌の植物病抑制効果がその代謝産物である iturin A によることを明らかにしてきた。従来までは枯草菌の iturin A の生産能力は数 100 mg/L であった。本研究では、培地を改良することにより iturin A を高濃度生産させ、この培養液を用いた植物病抑制効果について検討した。

【方法及び結果】菌株として *Bacillus subtilis* RB14-CS を用い、改良培地として Soy bean powder 及び Maltose を主成分とする培地を用いた。改良培地を用いると、iturin A 生産量が従来の培地の約 15 倍となった。*Rhizoctonia solani* のトマト苗立枯病に対するポット試験において、この iturin A 高濃度培養液を土壌に施用したところ、従来の培養液を施用した場合に比べて著しく高いトマト苗立枯病抑制効果が確認された。また、iturin A 高濃度培養液の施用量と植物病抑制効果の間には比例関係が成り立つことも明らかにした。

Suppressive effect of *Bacillus subtilis* culture broth containing high concentration of Iturin A on damping-off of tomato caused by *Rhizoctonia solani*

○Shinji Mizumoto, Mitsuyo Hirai, Takashi Ano, Makoto Shoda (Chem. Resour. Lab., Tokyo Inst. Technol.)

Key words suppressive effect, *Bacillus subtilis*, iturin A, danping-off**803 ノニルフェノールエトキシレートにおける微生物分解過程について**○寺井規哲¹, 山内 力², 勝又雅子³, 岡崎 渉⁴ (¹東洋大院・生命科, ²アリミノ, ³ザ・カミング, ⁴東洋大・生命科)

【目的】工業的に幅広く用いられるノニルフェノールエトキシレート (NPEO) は、環境中へ放出されると、低分子化され有害物質になることが報告されている。それら NPEO において高い分解能を示す微生物を探索し、微生物分解過程及び分解物の解明と、環境浄化への応用を検討した。

【方法と結果】対象を工業用廃水とし、NPEO (n=2 ~ 15) の 1% (w/v) 水溶液中で生育できる微生物の単離を行い、24 菌株を得た。それら菌株の同定試験を行い属性ごとに菌株数を絞り込み、TLC 及び HPLC によって分解性の確認及びエチレンオキシド付加モル数の差異に基づく分解能を評価したところ、*Enterobacter* 属の 1 菌株である G42 株が、NPEO に対して最も高い分解能を示した。

また、カラムクロマトグラフィー及び分取 TLC により、エチレンオキシド付加モル数の異なる NPEO の単離を行い、IR 分析にてエチレンオキシド付加モル数を確認後、各付加モル数での微生物生育挙動をはじめ、分解速度及び分解パターンの差異を検討した。その結果、付加モル数 8 モル以上で分解速度が早くなる傾向が示され、各付加モル数においても分解パターンが異なることが示唆された。これら NPEO を単離して分解過程を評価することにより、明らかなメカニズムの解明ができ、特定微生物を用いた分解処理法の技術にも応用できることが考えられる。

Biodegradation process of nonylphenoethoxylates○Noriaki Terai¹, Chikara Yamauchi², Masako Kathumata³, Wataru Okazaki⁴ (¹Grad. Sch. Life Sci. studies Toyo Univ., ²Arimino Co., Ltd., ³Coming Co., Ltd., ⁴Dept. Life Sci. Toyo Univ.)**Key words** Nonylphenoethoxylates, polyoxyethylene, biodegradation**802 新規ヨウ素系殺菌剤の開発**○吉川和俊¹, 浦上貞治¹, 倉井広子², 銅谷正晴² (¹三菱ガス化学, ²東邦アーステック)

【目的】これまで、食品工場等で使用される殺菌剤として、ハロゲン系、ピグアナイド系、界面活性剤系、アルコール系等が開発されている。これらの中で、広範かつ即効的な殺菌力を持つヨウ素剤に着目し、安定性に優れ、ヨウ素臭を軽減した新規ヨウ素系殺菌剤の開発を目的として検討を行った。

【結果】高濃度のヨウ素分子を可溶化し、安定に保持する化合物につき検討し、エチレングリコールを選択した。更に添加するヨウ化物種の検討等を行い、ヨウ素分子、エチレングリコール、ヨウ化ナトリウム、リン酸からなる、安定性良好でヨウ素臭の少ない高濃度製剤を開発した。本製剤は低いヨウ素濃度でも細菌、糸状菌、酵母に対し即効的、殺菌的に作用し、細菌芽胞に対しても殺菌活性を示した。

更に殺芽胞活性を増強するため、過酢酸との混合剤の検討を行い、ヨウ化物イオンと過酢酸によるヨウ素分子生成反応を利用した 2 液タイプの殺菌剤を開発した。本剤は A 液及び B 液がそれぞれヨウ化カリウム溶液及び平衡過酢酸溶液であり、B 液は過酸化水素濃度が劇物濃度以下になるよう平衡化されている。本剤の A 液及び B 液の希釈混合液中では速やかにヨウ素分子が生成され、ヨウ素分子及び過酢酸の混合液となり、同濃度のヨウ素液と比べ細菌芽胞に対する殺菌活性が増強されていた。

Development of new iodine germicides○Kazutoshi Kikkawa¹, Teizi Urakami¹, Hiroko Kurai², Masaharu Doya² (¹Mitsubishi Gas Chem. Co., Inc., ²Toho Earthtech, Inc.)**Key words** iodine, peracetic acid, germicide, fungicidal, sporicidal**804 鉄酸化細菌*At. ferrooxidans* AP19-3株由来タングステン結合タンパク質の精製と諸性質の検討**○杉尾 剛¹, 浜子佳子², 上村一雄¹ (¹岡山大院・自然科学, ²岡山大・農)

目的：鉄酸化細菌は、バクテリアリーチング等応用的にも重要な好酸性の化学合成独立栄養細菌である。最近我々は、*At. Ferrooxidans* AP19-3 のタングステンによる生育阻害機構を検討し、タングステンが AP19-3 株のチトクローム c オキシダーゼに強く結合し、鉄酸化酵素を阻害することによって生育を阻害することを明らかにした。研究の過程で本オキシダーゼよりも更に大量のタングステンを結合できる未知の膜タンパク質が細胞膜に存在することが明らかになったので、今回、このタンパク質をタングステン結合タンパク質 (WBP) と命名し、精製と性質の検討を試みた。

材料及び方法：本菌の細胞膜を 1.5% 1-o-octyl-D-glucopyranoside (OGL) で可溶化、超遠心分離後の上清画分を得た。本上清画分を透析後生成する緑色沈殿画分を 2% OGL に再可溶化、CM-Toyopearl 650M カラムクロマトグラフィー、TSK-GELG3000SW ゲル濾過カラムクロマトグラフィーを用いて WBP の精製を行った。タングステンの結合量はチオシアン酸吸光度法で測定した。

結果：最終精製サンプルの Native-PAGE は 1 本のバンドのみを示した。未変成 WBP の分子量は 26.4 kDa であった。また SDS-PAGE より WBP は 12 及び 20 kDa のサブユニットから構成されるヘテロダイマータンパク質であった。膜画分及び精製された WBP 1 mg タンパク質当たりのタングステン結合量は、それぞれ 155 及び 1506 マイクログラムであった。10 mM のモリブデン酸、バナジン酸、銅、カドミウム、マンガン、コバルト等の重金属の共存によってタングステンの WBP への結合は阻害されなかったことから WBP はタングステンを特異的に結合するタンパク質と考えた。WBP の生理的役割に関して現在検討中である。

Purification and some properties of tungsten-binding protein from iron-oxidizing bacterium *At. ferrooxidans*○Tsuyoshi Sugio¹, Yoshiko Hamago², Kazuo Kamimura³ (¹Grad. Sch. Natural Sci. Technol., Okayama Univ., ²Fac. Agric., Okayama Univ., ³Grad. Sch. Natural Sci. Technol., Okayama University)**Key words** *At. ferrooxidans*, tungsten, binding protein, heavy metal, bioleaching, inhibition