

3B11-4 有鞘細菌の鞘に含まれるシステインの絶対配置の決定

○加藤 克哉, 武田 稯, 小田 佳奈恵, 小泉 淳一
(横浜国立大学 工学研究院)

【目的】有鞘細菌は、自らの細胞を包み込む中空糸状の構造体である鞘を形成する。*β-Proteobacteria* に属する有鞘細菌 (The *Sphaerotilus-Leptothrix* group of bacteria) の鞘は、ムコ多糖 (ほぼ構造決定済み) とペプチドの複合高分子である基本繊維が絡み合い、その形態を成していると考えられている。ペプチド部分にはGlyとCysのみが含まれると考えられるが、アミノ酸配列は不明である。今回は鞘に含まれるCysの絶対配置を蛍光性ジアステレオマーに誘導化することで決定することとした。【方法・結果】*S. natans* と *L. cholodnii* をそれぞれ培養後、溶菌酵素とSDSを作用させて細胞を溶解して鞘を得た。鞘からのアミノ酸の遊離に必要な加水分解におけるCysの分解とラセミ化を防止するため、調製した鞘のSH基を4-fluoro-7-sulfamoylbenzofurazan (ABD-F) で蛍光標識した。ABD化した鞘を6 M HCl で加水分解して蛍光標識化Cys (ABD-Cys) を遊離させた。つぎに、ABD-Cysのアミノ基に対して1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5-L-alanine (FADD) を作用させて、蛍光性ジアステレオマーとした。蛍光検出による逆相HPLCでD-CysとL-Cys由来のジアステレオマーは分離可能であり、いずれの鞘に含まれるCysもL体と決定することができた。今回確立したABD-FとFADDを用いたCysの光学異性体同定法では、生じるジアステレオマーが蛍光を有するため、4-vinylpyridineとFADDを用いる既存法に比べジアステレオマー検出が容易である。さらに、反応に用いる試薬がすべて不揮発性であり、操作が容易な上に安全性にも勝ると思われる。

Determination of the chirality of cysteines in the sheaths of the sheathed bacteria

○Katsuya KATO, Minoru TAKEDA, Kanae ODA, Junichi KOIZUMI
(Yokohama National University)

Key words cysteine, sheath, sheathed bacteria, chirality

3B11-5 *p*-ニトロトルエン走性細菌によるフェノール類化合物に対するセンシング特性

○野澤 正嗣, 磯辺 浩利, 荷方 稔之, 柿井 一男
(宇都宮大工・応化)

【目的】*p*-ニトロトルエン (PNT) 走性細菌であるPNT1株は、*p*-tert-ブチルフェノール (PBP)、ビスフェノールA (BPA)、およびこれらの類似物質に対しても集積応答する。応答を示した化学物質は全てヒドロキシル基又はニトロ基を有しており、これらの官能基の集積応答への関与が示唆される。本研究ではPNT1株による集積応答のより詳細な知見を得るため、走化性センサーの適応状態を利用してPNT1株のセンシング特性を検討した。【実験方法】細菌懸濁液に適応させる物質を添加し、その化学物質を感知するセンサーに適応させたPNT1株を用いて試験物質に対する走化性を測定した。走化性は、倒立位相差顕微鏡を用いたキャピラリー法により測定した。【結果と考察】PNT1株は、*p*-及び*m*-クレゾールに集積応答を示し、*o*-クレゾールには集積応答を示さなかった。これはメチル基とヒドロキシル基の近接に伴う立体障害によるものと考えられた。*p*-クレゾールに適応させたPNT1株はPNT、PBP、BPAに対して全て集積応答したことより、*p*-クレゾールは、PNT、PBP、BPAを認識するセンサーとは異なるセンサーで認識されている可能性が示唆された。現在フェノール、ニトロフェノール等の類似物質についても同様な検討を行っている。

Adaptational response analysis toward phenols by *p*-nitrotoluene-accumulating bacterium

○Masashi NOZAWA, Hirotoishi ISOBE, Toshiyuki NIKATA,
Kazuo KAKII
(Dept. Appl. Chem., Utsunomiya Univ.)

Key words bacterial chemotaxis, adaptational response, *p*-nitrotoluene, bisphenol A

3B12-1 細菌胞子における過酢酸の殺胞子効果に影響を及ぼす因子について

○山崎 俊輔¹, 岩崎 慎也², 岡野 哲也², 土戸 哲明¹
(¹関西大学, ²花王株式会社)

過酢酸 (PAA) は高い殺菌活性と幅広い殺菌スペクトルを示す化合物である。処理後は安全な水と酢酸とに変化するため、特に安全性の重視されるペットボトル等の殺菌工程に利用されている。一般にPAAは、過酸化水素 (H_2O_2) および酢酸との平衡状態で市販されている。しかし、1) 廃液処理がコスト高なこと、2) 細菌胞子に対する効果が低いことなどの問題点が指摘されていた。そこで、新規過酢酸製剤が開発された。この製剤はPAAを特異的に即時生成させるもので、PAAに対する耐性が極めて高いとされる *Bacillus cereus* の胞子に対しても有効であった。調査の結果、市販の過酢酸製剤に含まれる H_2O_2 がPAAの殺胞子効果を阻害していることが明らかとなった。同時に、この H_2O_2 の添加効果は *Alicyclobacillus acidoterrestris* においては殺胞子効果に影響することなく、*Bacillus subtilis* 等においては逆に促進的に作用することも明らかとなった。これらの挙動の違いは、胞子の含有する2価金属イオンの差にあると考え、*B. subtilis* について、培養時、および培養後に胞子の蓄積する2価金属イオンを変化させることを試みた。それらの耐性を調査したところ、Coイオンが *B. subtilis* 胞子のPAA耐性を上昇させる効果を示した。一方で、PAA、 H_2O_2 共存下における溶液の酸化還元電位 (ORP) を測定したところ、 H_2O_2 の添加量が増大するに従い、ORPが低下した。これらのことから、過酢酸耐性には、それぞれの胞子の酸化されやすさが大きく関与していることが推察された。

The factors affecting of the sporicidal action of peracetic acid on *Bacillus* spores

○Syunsuke YAMAZAKI¹, Shinya IWASAKI², Tetsuya OKANO²,
Tetsuaki TSUTIDO¹
(¹kansai university, ²Kao Coporation)

Key words *Bacillus cereus*, sporicidal action, peracetic acid, hydrogen peroxide