

3H11-2 *Gordonia* sp. によるバイオサーファクタントの生産水野 春彦¹, ○野口 紀子¹, 松井 徹², 市川 創作¹, 佐藤 誠吾¹
(¹筑波大院・生命環境, ²琉球大・遺伝子)

【目的】*Gordonia* sp.が生産するバイオサーファクタント(以下BS)は、有機溶剤を添加せずに粉体をそのまま使用した場合、あるいは水懸濁液として使用した場合でも重油に対して非常に高い分散性能を示す。このため海洋の石油汚染に用いる油処理剤としての性能に非常に優れており、その実用化が期待されている。そこで本研究では、BS生産培地の完全合成培地化を目指し、新規なBS生産培地の開発およびジャーファーマンターによる高濃度BS生産について検討した。

【方法および結果】BS生産用の無機塩培地の組成をフラスコ培養により検討した結果、n- テトラデカン、KNO₃、Na₂HPO₄、KH₂PO₄、MgSO₄・7H₂O、CaCl₂・2H₂O、微量元素およびビタミンを添加した培地によりBSを良好に生産できることがわかった。BSの定量法として、大豆油の乳化能を指標とする簡便な手法について検討したが、BSは消費されずに培養液中に残った基質油成分の乳化にも使われるため、実際のBS生産量よりも低く定量されることが推定された。そこでアンスロン硫酸法を併用した。2.6L容ジャーファーマンターを用いてBSの高濃度生産を試みたところ、培養5日目で20g/Lを超えるBSを生産できたが、それ以降培養を続けてもBS濃度は増加しなかった。この原因としてBS生産に伴う培養液粘度の増加、生産阻害物質の蓄積等が考えられたため、BS生産用培地を培養液の半分量入れ替える繰り返し培養を行った。その結果、生産速度が低下することなく、20g/Lを超えるBSの生産を続けることができた。

Production of a biosurfactant by *Gordonia* sp.Haruhiko MIZUNO¹, ○Noriko NOGUCHI¹, Toru MATSUI²,
Sosaku ICHIKAWA¹, Seigo SATO¹
(¹Grad. Sch. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba, ²COMB, Uni. Ryukyus)**Key words** biosurfactant, bioremediation, oil-degrading bacterium**3H11-4 赤潮殺藻ペプチドの殺藻機構の解明と応用に関する研究**○河野 大樹, 加藤 純一, 黒田 章夫, 滝口 昇
(広島大院・先端・生命機能)

有明海から単離された *Pseudoalteromonas* sp.A28 株は赤潮珪藻 *Skeletonema costatum* に対してセリンプロテアーゼ AspI を分泌することで殺藻することが明らかとなっている。本研究ではAspIの殺藻機構を解析し、環境にやさしい赤潮防除技術への応用を目指している。市販のプロテアーゼでは赤潮珪藻は殺藻されないことから、AspIにはプロテアーゼ活性以外の機能が殺藻に必要であると考えられた。この仮説を基にタンパク質工学的な解析した結果、現在、AspIのC末端ドメインにその機能が存在すると示唆されている。C末端ドメインには特徴的な繰り返し配列が存在する。この領域は赤潮珪藻表層に結合することから、赤潮認識を担っていると考えられる。さらにはプロテアーゼ活性を必要とせずに赤潮細胞を殺藻する結果が得られていることから、殺藻ペプチドとしても応用が期待できる。現在、AspIC末端ドメインを中心にさらなる殺藻機構の解析を進めると共に、このC末端ドメイン搭載微生物の創製も応用研究として行っている。

Alga-lysing and binding activities in C-terminal domain of a protease from a marine bacterium○Daiki KOUNO, Junichi KATOU, Akio KURODA,
Noboru TAKIGUCHI
(Dept. Mol. Biotech., Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.)**Key words** red tide, marine bacterium, protease, algicidal activity**3H11-3 迅速なアトラジン分解能をもつ大腸菌の作製に関する基礎的研究**○稲葉 真知子¹, 岩崎 昭夫², 高木 和広³, 田中 秀夫⁴,
青柳 秀紀⁴
(¹残留農薬研究所, ²興和総合研究所, ³農業環境技術研究所, ⁴筑波大院・生命環境)

【目的】トリアジン系除草剤のアトラジンは環境ホルモン様作用を持つ疑いがあり、近年使用が禁止されはじめている。今後、製造元で大量のアトラジンが残る懸念があり、環境に負荷をかけずにアトラジンを分解処理する方法が求められている。アトラジンは分解酵素AtzAの働きで2-ヒドロキシアトラジンへ、AtzB、AtzCによりイソプロピルアメライド、シアヌール酸へと順に変換される。本研究ではアトラジンの分解に関与する上記のトリアジン系除草剤分解遺伝子群を大腸菌に導入し、アトラジン分解特性の評価を行った。

【方法・結果】アトラジン分解菌*Pseudomonas* sp. strain ADPのトリアジン系除草剤分解遺伝子¹⁾*atzA*および*atzB*を発現ベクターpETDuet1に、*atzC*をpCOLADuet1に挿入し、大腸菌の形質転換を行った。*atzA*遺伝子のみを導入した大腸菌は5 ppmのアトラジンを1時間程度でほぼ完全に分解したのに対し、*atzA* 遺伝子および*atzB*遺伝子を両方導入した大腸菌では5 ppmのアトラジンを30分以内にほぼ完全に分解した。また、*atzB*遺伝子を導入した大腸菌と*atzC*遺伝子を導入した大腸菌を混合して5 ppmの2-ヒドロキシアトラジンに作用させたところ、培地中からシアヌール酸が検出された。今後は本系を最適化する事により、アトラジンをシアヌール酸に分解し再利用する一連の実用的な環境低負荷型のシステムを構築することを予定している。

1)Martinez et al. (2004) J Bacteriol. 183(19)

Construction of *E.coli* with rapid degrading ability for atrazine herbicides.○Machiko INABA¹, Akio IWASAKI², Kazuhiro TAKAGI³,
Hideo TANAKA⁴, Hideki AOYAGI⁴
(¹Ins. of Env. Toxicology, ²Kowa Res. Ins., ³NIAES, ⁴Univ. Tsukuba)**Key words** Atrazine, *E.coli*, Degradation