

有機スズ化合物耐性海洋細菌の性状

鈴木 聡 ・ 深川 竜郎 ・ 福永 健治

鈴木 鐵也 ・ 高間 浩蔵

(北海道大学・水産学部・水産食品学科*)

Characterization of Tributyltin-resistant Marine Bacteria

Satoru SUZUKI, Tatsuo FUKAGAWA, Kenji FUKUNAGA, Tetsuya SUZUKI, Kozo TAKAMA

Faculty of Fisheries, Hokkaido University

ABSTRACT

Tributyltinchloride (TBTCI) resistant bacteria were isolated from coastal sea water. *Vibrio* sp. M-1 was the most resistant. This strain could grow in the medium containing 40 mg/ml of TBTCI. Much uptake of TBTCI by this strain was observed in a short incubation period. However, uptake of TBTCI decreased after log phase, indicating exclusion of tin in log phase. When the strain was cultured with TBTCI, two polypeptides of 30 KDa and 12 KDa were induced.

有機スズ化合物は、船底塗料等として広く使用されている。日本では、最近一部の化合物は使用禁止となったが、まだ、世界的に見ると大量に生産、使用されており、海洋汚染及び食物連鎖による生体汚染の原因となっている。有機スズ化合物は、真核、原核細胞を問わず毒性を示す¹⁾が、微生物の中には、有機スズ化合物に対して耐性を示すものがあることが報告されている²⁾。しかし、その耐性機序は未だ不明である。

筆者らは、海洋細菌を用いて有機スズを無毒化する試みを行っているが、今回は、沿岸海域から単離した有機スズ耐性菌、*Vibrio* sp. M-1 株の性状について報告する。

実験方法

1. 耐性菌の単離

ステンレス板にTributyltinchloride (TBTCI), Tributyltinmetaacrylate (TBTM) あるいは

*所在地：函館市港町3-1-1 (〒041)

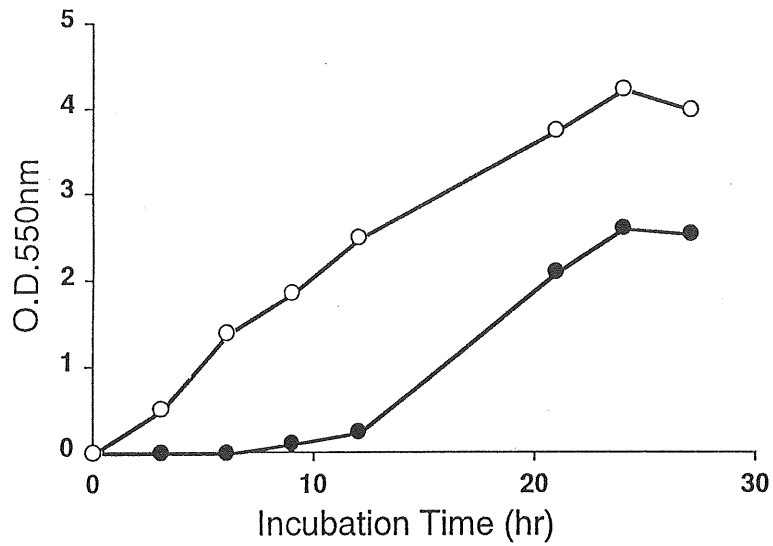


Fig. 1. Growth of *Vibrio* sp. M-1 in liquid medium with (●) or without (○) TBTCI.

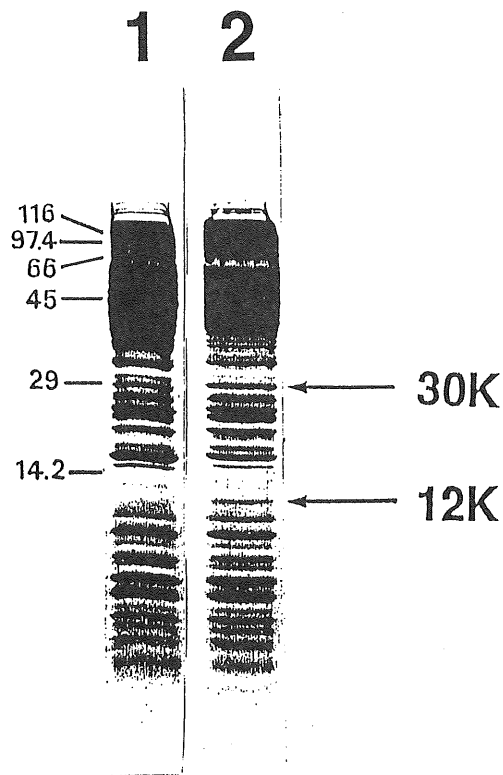


Fig. 2. SDS-PAGE of cellular proteins of *Vibrio* sp. M-1. Culture with TBTCI (right) and without TBTCI (left) are shown.

Molecular markers are indicated with short bars (numbers are kilodalton).

Triphenyltinchloride (TPTCl)を塗り、これらを、北海道臼尻沖1 kmの海水中3 m, 6 m及び9 mの水深に沈めた。72時間後にこれらを引き上げ、ステンレス板に付着した細菌をZoBell 2216E培地³⁾を用いて単離した。任意に単離した150株についてディスク法⁴⁾により、TBTCI耐性能を調べた。

2. 菌の増殖とTBTCIの取込

液体培地での菌の増殖は550nmでの吸光値の増加により測定した。スズの取り込みは、試料を硝酸：硫酸(1:1)にて湿式灰化した後、日立180-30原子吸光光度計にて測定した。培養液を均一に懸濁したものに含まれるスズの含量に対する菌体画分のスズ含量をもって取り込み率とした。

3. SDS-ポリアクリルアミド電気泳動(PAGE)

スズ存在下及び非存在下で増殖した菌体を超音波処理でホモジナイズし、菌体タンパク質を常法に従ってSDS存在下で電気泳動を行った。

結果と考察

単離した150株中、9株がTBTCI耐性菌であり、その内8株は*Vibrio*に分類された。特に強い耐性を示したM-1株を以後の実験に用いた。M-1株は、40ppmのTBTCI存在下でコントロール群に比べ長いlag phaseを持ち、その後、通常の増殖をした(Fig. 1)。定常期の細胞の菌体タンパク質をSDS-PAGEで調べたところ、30KDaと12KDaのポリペプチドの誘導が観察された(Fig. 2)。これらが耐性に関与していることが推察されるが、現在のところその性質は不明である。細菌の有機水銀耐性についてはよく調べられており、マーキュリー・リアーゼとマーキュリー・リダクターゼの関与が明らかになっている⁵⁾。同じ有機金属である有機スズについては、どのようなタンパク質が働いているかは未だ明らかにされていない。耐性菌M-1は、プラスミドを持たないので、TBTCI耐性はクロモソーム上に担われて

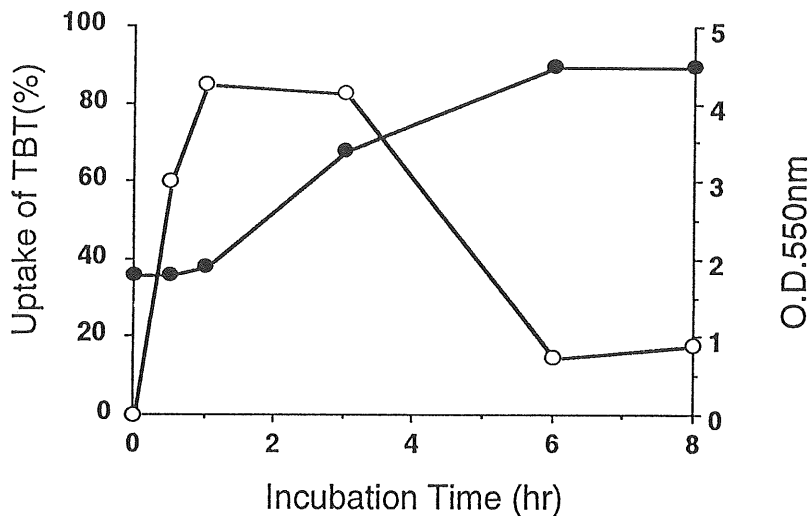


Fig. 3. Growth (●) and TBTCI uptake (○) of *Vibrio* sp. M-1.

いることが推察される。TBTCI 存在下で誘導された二つのポリペプチドの遺伝子を明らかにすることが耐性機序解明に必要であろう。

M-1 株の TBTCI の取り込みを検討したところ、TBTCI 添加 1 時間で 80% の TBTCI が菌体画分で検出された。さらに培養を続けると、取り込まれたスズの減少が観察された (Fig. 3)。増殖の log phase でこの現象が起きていること、及び TBTCI 存在下では長い lag phase を示したこと (Fig. 1) より、M-1 株は、lag phase の間に耐性機構を獲得し、log phase でスズを排出していると推察される。Fig. 3 の実験では、lag phase が比較的短い、これは、接種菌数が多いためであろう。同様の取り込みを TBTCI 感受性菌で行ったところ、やはり M-1 と同様に 1 時間以内に 80% のスズを取り込んだが、その後菌体画分からのスズの減少は起こらなかった。その際、増殖は全く起こらなかった。感受性菌と耐性菌の違いは、スズの排出機構の有無によっているのかも知れない。

文 献

1. VIGHI, M. and D. CALAMARI (1985) *Chemosphere* 14 : 1925
2. HALLAS, L. E. and J. J. COONEY (1981) *Appl. Environ. Microbiol.* 41 : 446
3. ZOBELL, C. E. (1940) *J. Bacteriol.* 40 : 223
4. FUKAGAWA, T., S. SUZUKI, K. FUKUNAGA, T. SUZUKI and K. TAKAMA (submitted)
5. BELLIVEAU, B. H. and J. T. TREVORS (1989) *Appl. Organometal. Chem.* 3 : 283