

大腸菌の増殖速度と耐熱性および薬剤耐性

(阪大磯崎) ○桐井康行, 高野光男, 大西正則, 芝崎 勲

1. 目的 一般に対数増殖期の微生物は, 定常期のもの比べて物理的あるいは化学的ストレスに対して異なった耐性を示すことが経験的によく知られている。その要因はいろいろ考えられるが, 本報告ではケモスタットを用いて比増殖速度の異なる細胞が, それらの耐性にどのような影響を与えるかを, その表層構造の変化と併せて検討した。

2. 方法 供試菌は, *Escherichia coli* W3110株を, 培地はグルコースを炭素源とした合成培地(M9)を使用した。培養は丸菱ミニジャーファーマンターで操液量1L, 通気量1vvm, PH7, 回転数400rpm, 温度15~37°Cの条件下で行なった。耐熱性は試料をミリポアフィルターで補集し, 0.67Mリン酸緩衝液で洗浄後同緩衝液中で加熱処理を行ない, 平板培養法で生菌数を測定した。膜脂肪酸は乾燥菌体をクロロホルム・メタノールで抽出(リン脂質を塩酸メタノールでメチル化後, ガスフロマトグラフィーで分析した。リン脂質はTLCに展開後各スポットの面積をデンストメーターで測定した。細胞外膜のりボ多糖体量はフェノール抽出後 2-Keto-3-deoxyoctonate を指標として測定した。

3. 結果 (1) グルコースを制限基質にした場合, 37°C培養温度で比増殖速度 μ (hr⁻¹)が増加するに従い耐熱性は低くなった。たとえば, 50°C, 10分加熱後の生存率は $\mu=0.03$ で40%, $\mu=0.1$ で5%, $\mu=0.2$ で0.8%, $\mu=0.4$ で0.2%であった。また μ 一定で培養温度を低下させた場合も耐熱性が低くなった。次にそれぞれの μ を示す菌体の膜組成を分析した。細胞外膜成分のりボ多糖体含量は μ に関係なくほぼ一定値になった。リン脂質組成は μ の増加に従いホスファチジルエタノールアミン, ホスファチジルグリセロールの割合が増大しカリジオリンの割合が減少した。脂肪酸組成は μ 増加に従いC_{16:1}, C_{18:1}などの不飽和型の割合が増大し, C_{17:0}ycなどのシクロプロパン型及び飽和型の割合が減少した。同様の傾向が μ 一定で培養温度を低下させた時にも見られた。

(2) NH₄Clを制限基質にした場合 耐熱性は μ に依存せず全体にグルコース制限条件下より耐熱性が高くなった。たとえば, 37°C培養 $\mu=0.03\sim0.04$ の場合, 50°C10分の加熱後の生存率はそれぞれ50~80%を示した。脂肪酸組成も μ に依存した特徴的な変化はあまり見られなかったが, シクロプロパン型脂肪酸がいずれも高い割合で存在した。なおリン脂質組成はグルコース制限下とほぼ同様の傾向を示した。(3) 熱以外のストレスに対する耐性についてグルコース制限下で検討を加えた。コールドショック感受性は μ に依存した変化がみられたが, 薬剤感受性については μ に依存するものもあれば全く依存しないものもあった。