

赤潮殺藻細菌 *Pseudoalteromonas* sp. A28株が産生する ホモセリンラクトンの解析

なかしまかつのり いすんおぐ かとうじゅんいち くろだあきお いけだつかさ たきぐちのぼる おおたけひさお
○中島克則、李宣沃、加藤純一、黒田章夫、池田宰、滝口昇、大竹久夫

広島大学大学院先端物質科学研究科分子生命機能科学専攻

【目的】

Pseudoalteromonas sp. A28 株は、赤潮珪藻 *Skeletonema costatum* を殺藻する細菌として有明海の海水から分離された。A28株と *S. costatum* の二者培養を行うと、培養10日程度経過してA28株の細胞濃度が高まってから殺藻が開始される。また、A28株が生産する赤潮殺藻物質であるセリンプロテアーゼは、A28株を単独で培養した時対数増殖後期から生産が始まる。これらの結果から、A28株が持つ赤潮殺藻能はquorum sensingの制御下にあるのではないかと推定された。Quorum sensing とは、アシル化ホモセリンラクトン(AHL)を介して細胞密度を感知し、遺伝子発現の制御を行う制御系であり、多くのグラム陰性菌がこの制御システムを持つことが知られている。しかし、A28株が実際にAHLを生産しているか、いまだ不明である。そこで、本研究は、A28株が生産するアシル化ホモセリンラクトン(AHL)を探索すると共に、赤潮殺藻能とquorum sensingの関連を解明することを目的とする。

【方法および結果】

A28株のn培養上清100mlをロータリーエバポレーターで1約10倍に濃縮した後、酢酸エチル50mlで溶媒抽出を行った。抽出後、酢酸エチルを1mlにまで濃縮し、逆相シリカゲルTLCで展開した（展開溶媒、メタノール:水=60:40）。展開後、*Chromobacterium violaceum* CV026株を含むL寒天培地の薄層フィルムをTLCプレートに重層し、30℃で培養した。CV026株は、アシル化ホモセリンラクトンが存在すると青紫色の色素を生産する。一晚培養後、大小二つの青紫スポットが検出され、A28株が少なくとも2種類のAHLを生産することが示された。大きいスポットは *Pseudomonas aeruginosa* が生産するブチリルAHLと同程度のRf値を示した。小さなスポットのRf値はそれより小さなことから、さらに長鎖のアシル基を持つと推測された。既に取得されているA28株の赤潮殺藻能欠損株についても、同様にAHLの解析を行った。その結果、変異株はAHLを生産しないか、もしくは親株より少量のAHLしか生産しないことが判明した。このことから、赤潮殺藻能の制御にAHLがかんよしているのではないかと推察された。現在、赤潮殺藻能に及ぼすAHLの添加効果を解析しているところである。