

C-22

界面での枯草菌の増殖様式

しんがきりゅうじ、かさはらやすひろ、いのうえてつよし、ふくいかずひろ

○新垣隆資¹⁾、笠原康裕²⁾、井上哲圭¹⁾、福井一博¹⁾

1 岡山大・院・医歯・口腔微生物、2 奈良先端大・バイオサイエンス

【目的】

L-form (L 型) と呼ばれる細胞壁を欠く状態が多くの細菌で報告されている。細菌細胞壁の合成阻害は抗生物質の作用ターゲットのひとつであり、細胞壁合成制御に関する知見は有用なものと思われる。今回、寒天平板上に枯草菌を植菌後、カバーグラスを被せて培養を行ったところ、L 型化と思われる形態変化を含む特徴的な増殖形態が観察されたので、その結果を報告する。

【方法】

Bacillus subtilis 168 株を最小合成培地 (Spizizen's medium)、C1 (Spizizen's medium に 0.05%酵母エキス、0.02%カザミノ酸を添加)、LB、TBAB、BHI 寒天平板培地上に植菌後、カバーグラスを被せ、37℃にて培養し、顕微鏡観察を行った。それぞれの培養菌体の全菌体タンパク質を SDS-PAGE にて解析した。

【結果】

最小培地での細胞は液体培養時と同等の桿状の形態を示した。一方、LB、TBAB、BHI のリッチ培地では、個々の細胞の伸長化と秩序的で集団性を持った拡がりが見られた。C1 培地での培養ではリッチ培地での細胞伸長、集団性ととともに、細胞の肥大化、球状化、棍棒状化といった著しい形態変化が観察された。肥大化・球状化は増殖の中心部、棍棒状化は端部に多く観察された。カバーグラスを剥がしてしばらく放置したとき、及び増殖がカバーグラスの端にまで達し、外側に出てきたときには通常の桿状形態に回復した。全菌体タンパク質の SDS-PAGE 像比較から、異形化を示す C1 培養の細胞ではいくつかのタンパク質バンドの消失、及びバンド量の減少が見られた。

【考察】

L 型化と思われる形態変化が見られた C1 培養の菌体からは、リゾチームを用いない、直接の 1%SDS ボイルのみで容易に菌体タンパク質が溶出したことから、C1 培地カバーグラス下の増殖では、欠如を含む、何らかの細胞壁の構造変化が生じていると考えられた。C1 培地でのこのような形態変化は最小合成培地に 0.05%酵母エキスのみ、あるいは 0.02%カザミノ酸のみを添加した際にも観察された。枯草菌細胞の異形化には界面、栄養といった環境・培養因子が関与しているものと考えられた。現在、通常の形態を示した最小合成培地培養と異形化の見られた C1 培養における全菌体タンパク質像の比較から、発現に違いが見られたタンパク質の同定を行っている。今後、それらタンパク質遺伝子の変異株を用い、細胞壁合成系を中心に解析を進める予定である。