

27-C-20

アレイ状顆粒生産菌の各増殖相における形態観察

にしの ともひこ¹⁾、ひろせ(やすもと)みな²⁾、いけもと えいこ¹⁾、こぐれ かずひろ¹⁾
 西野智彦¹⁾、廣瀬(安元)美奈²⁾、池本栄子¹⁾、木暮一啓¹⁾

1) 東京大 海洋研究所 微生物、2) 海洋バイオテクノロジー研究所

【目的】

沖縄県恩納村のサンゴ礁海域の底生生物より分離された α -Proteobacteria に属する海洋細菌はカルサイトとよく似た結晶構造を有するアレイ状顆粒を細胞外に良好に生産することを前大会において報告した。今回我々はそのアレイ状顆粒の形成過程を解明することを目的に各増殖相における本細菌の微細構造を観察した。

【方法】

アレイ状顆粒を生産する菌株を ZoBell 2216E 培地で 30°C にて振盪培養を行った。経時的に Optical Density (OD600 nm)、pH を測定したあと、ホルマリン固定を行い原子間力顯微鏡 (Atomic Force Microscope: AFM) を用いて微細構造の観察を行った。また、カルシウム特異的蛍光指示薬 (Fluo3, Molecular Probes) を用いて菌体を染色し、菌体周辺のカルシウムの局在性について観察を試みた。菌体密度は Percoll を用いた密度勾配遠心分離を行うことで測定した。

【結果と考察】

アレイ状顆粒生産菌の増殖は通気条件下で良好であった。pH は培養開始から定常期にはいるまで低下したが、定常期に入ると急激な上昇が見られた。これらの培養液を経時に分取して固定後、AFM を用いて菌体表面の観察を行った。培養が進むに伴って周毛の発現が増加し、菌体外に見られる顆粒の大きさも増加していた。また、カルシウム蛍光指示薬を用いた菌体染色により、菌体周辺にはカルシウムを吸着することができるフィルム状の物質が生産されていることも確認された。さらに、対数増殖期、定常期の菌体密度を測定したところ、菌体密度は定常期になるにつれて低くなっていた。現在、経時にサンプリングされた培養液中のカルシウム濃度の測定を行っている。