

1B-15

口頭発表

超純水中における *Bradyrhizobium* 属細菌の生存と適応

○菅原 千晶、増田 幸子、板倉 学、川原田 泰之、三井 久幸、江田 志摩、南澤 究

東北大・院・生命科学

Key words : *Bradyrhizobium*, CO₂fixation, UltraPure Water, Viability

【目的】*Bradyrhizobium* 属細菌は、医療用や工業用の超純水中でしばしば検出される。実際、*B. japonicum* USDA110 株は、超純水中へ接種することで Viability の維持または増加が報告されている(Crist et al. 1984)。私たちは、大気中の微量気体による化学独立栄養生育が超純水中の細胞の生存を支えている可能性を考えている。そこで、本研究では、(1)超純水中での Viability 維持の追試(2)超純水中における CO₂ 固定の測定を行った。【方法】実験にはダイズ根粒菌 *B. japonicum* USDA110 株を用いた。①細胞を超純水中に接種し、1~2ヶ月間 25℃、静置条件でインキュベート後、HM 寒天培地による CFU 測定と位相差顕微鏡により形態を観察した。②振とうと静置のインキュベーション条件の比較を行った。③超純水中で細胞を1ヶ月間インキュベーション後、¹⁴CO₂を気相に添加し、CO₂固定量を測定した。【結果】①初期濃度に関わらず接種後2ヶ月程度で CFU 値が約 10²⁻⁴CFU/ml から約 10⁵CFU/ml 程度に増加し、以降安定した。通常の約 2mm であった細胞は、超純水中では約 10mm へ変化した。②振とう時であっても CFU 値、細胞形態は静置時と同じ結果であった。③10⁶CFU/ml の菌密度の超純水の試験管気相に 278kBq の ¹⁴CO₂ 導入した。3日後の超純水中の酸安定性の放射活性は約 2500 dpm/ml、対照煮沸処理細胞で約 3 dpm/ml であった。この結果より、超純水中の細胞は CO₂ を炭素源として生育している可能性が示された。

rctrx494@yahoo.co.jp

1B-16

口頭発表

低濃度チオ硫酸を電子供与体としたダイズ根粒菌の化学独立栄養

○増田 幸子、江田 志摩、三井 久幸、池田 成志、南澤 究

東北大院・生命科学

Key words : *Bradyrhizobium japonicum*, thiosulfate oxidation, *sox* gene

ダイズ根粒菌 *B. japonicum* USDA110 株における全塩基配列の相同性検索の結果から、チオ硫酸酸化に関わる *sox* 相同遺伝子群(*sox* TRSVWXYZABCD)を、ゲノム上の 4 箇所に見出した。そこで本研究では、USDA110 株におけるチオ硫酸を電子供与体とする化学独立栄養について検討した。その結果、USDA110 株は炭素源の有無に関わらず 4 mM 以下のチオ硫酸のみ酸化でき、*soxY*₁(locus I)欠損変異株ではチオ硫酸酸化は認められなかった。また野生株において、チオ硫酸依存的な酸素呼吸の増加を検出した。さらに、チオ硫酸を電子供与体とする最小培地で生育した USDA110 株において、チオ硫酸依存的な ¹⁴CO₂ 固定活性を検出した。以上の結果から、株は、低濃度のチオ硫酸を電子供与体、酸素を最終電子受容体、CO₂ を炭素源とする化学独立栄養生育を行い、そのチオ硫酸酸化能は、*soxY*₁ が担っていることを明らかにした。次に、*Bradyrhizobiaceae* 科細菌におけるチオ硫酸酸化能と *sox* locus I の分布をハイブリダイゼーションで解析した。その結果、*sox* locus I 保有株は低濃度のチオ硫酸酸化能を示した。また、*soxY*₁ のアミノ酸配列に基づいた系統樹を作成したところ、既知の硫黄酸化細菌 *Paracoccus pantotrophus* GB17 株の属する *Rhodobacterales* とは異なる、*Rhizobiales* の新規クレードを形成した。したがって、ダイズ根粒菌 USDA110 株のチオ硫酸酸化系は低濃度チオ硫酸を電子供与体とする新規グループであることが推察された。

sachiko@ige.tohoku.ac.jp