

PM-005

トマト根表面のバイオフィームと
トマトの生長

○吉田 浩起¹、土屋 雄揮¹、前川 佳代¹、江田 志磨¹、森崎 久雄¹
¹立命館大・院生命

バイオフィーム（以下、BF）は、主に固液界面に形成される微生物共同体で、水環境中に普遍的に見られる。有機水耕栽培したトマトの根表面にもBFが形成され、水や栄養分は根のBFを通過した後、トマトに吸収されると考えられる。このことから、トマトの生長に、BFが何らかの影響を与えている可能性が推測される。そこで、本研究では、BFがトマトの生長に与える影響を明らかにすることを目的とした。複数のトマト苗を一定期間有機水耕液で育苗した。その後、それらの苗を2つのグループ、すなわち、それまでと同条件で栽培を継続したもの（BF形成株群）と毎日1回BFを除去したもの（BF除去株群）、に分けて栽培した。なお、BF除去以外の栽培条件は、両株群間で同様にした。栽培中、トマトの生長を観察した結果、BF形成株群の根体積と茎丈がBF除去株群よりも明らかに大きく生長した。このことから、BFがトマトの生長を促進していると推測された。BFは周囲のイオンを濃縮することがこれまでの研究で知られており、水耕栽培の場合にも周囲の栽培液からBFに栄養塩が濃縮され、それをトマトが吸収していると考えられた。栽培液中の栄養塩（ NH_4^+ 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} ）量の経時変化を調べた結果、 NO_3^- のみBF形成株群の方がより減少していた。このことから、BFによる栄養塩の濃縮に加え、それ以外のメカニズム（例えば、BF内で有機物が分解され、栄養塩が生産される等）が存在し、それによってもトマトの生長が促進されている可能性が考えられた。現在、BFの持つ機能について解析中である。

Key words: biofilm, plant root, plant growth, nutrient ions

PM-007

環境応答セカンドメッセンジャーcAMPが
緑膿菌の基質への付着に及ぼす影響

○小野 佳織¹、坂口 文音¹、岡 理栄¹、豊福 雅典¹、吉田 志央美¹、野村 暢彦¹
¹筑波大・院 生命環境系

実環境において微生物は浮遊状態だけでなく、多くが固体表面に付着し増殖することによって集合体を形成していることが広く知られてきている。また、微生物集合体は浮遊菌と異なる遺伝子発現や挙動を示し、微生物間相互作用の場となることも知られている。菌の付着には可逆的付着と不可逆的付着の二種類がある。一度固体表面に可逆的に付着した菌はすべてが集合体を形成するわけではなく、環境にตอบสนองして浮遊状態へ戻るか不可逆的付着へ移行するか判断し、不可逆的付着へ移行した菌が固体表面上で集合体を形成する。しかし、この可逆的付着から不可逆的付着への移行がどのような因子によって制御されているかは明らかとなっていない。そこで本研究では環境常在菌である緑膿菌をモデルとして、環境応答セカンドメッセンジャーであるcAMPが緑膿菌の付着制御に関与している可能性に着目した。cAMP分解酵素を欠損したcAMP蓄積株において初期付着の様子を野生株と比較したところ、顕著に不可逆的付着の低下が見られた。cAMP蓄積株においてcAMP受容タンパクの一つであるVfrを欠損させることによって野生株様に表現型が回復したことから、この現象はcAMP-Vfr複合体の蓄積によって起こることが考えられた。初期付着に関連因子として、細胞表面の疎水性や電荷、鞭毛、多糖、cDNAなどが挙げられる。これらのうちcAMP蓄積株では野生株に比べ細胞表面の疎水性が低下していた。また多糖の生産量も野生株と比べ減少している可能性が示唆された。これらの結果より、cAMPが付着に関与する菌体表面の性質を変化させていることが示唆され、緑膿菌が環境変化に応じて付着を制御している可能性が示された。

Key words: Attachment, *Pseudomonas aeruginosa*, cyclic AMP
E-mail: s1221053@u.tsukuba.ac.jp

PM-006

バイオフィーム間隙水中の糖成分の解析

○北村 明裕¹、土屋 雄揮¹、江田 志磨¹、森崎 久雄¹
¹立命館大・院生命

バイオフィーム（以下BF）とは固液界面に普遍的に見られる微生物共同体で、主に微生物、細胞外ポリマー、ポリマー間を満たす間隙水で構成されている。これまでの研究で、琵琶湖で形成されたBFの間隙水中には、糖様物質が高濃度で存在していること、および低分子量の糖様物質が主に含まれていることが明らかになってきた。低分子量の糖様物質はBF内の微生物にとって炭素源となりうる重要な物質であると考えられる。しかしながら、琵琶湖以外の環境で形成されたBFの間隙水中の糖様物質についてはまだ調べられていない。さらに、BF間隙水中の低分子量の糖様物質は未同定である。そこで本研究では、様々な環境で形成されたBFの間隙水中の糖組成を比較すること、およびこれら糖様物質を同定することを目的とした。高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により、様々な環境で形成されたBFの間隙水中の糖様物質を分析した。また、BF間隙水中の主要な低分子量の糖様物質を分取し、¹H NMRスペクトルを測定した。HPLCの結果、全てのBF間隙水でクロマトグラムが似ていた；検出されたピークのほぼ全てが、どのBFでも共通して見られた。環境が異なってもBF間隙水の糖組成は似ていることが示唆された。主要なピークを分取し、¹H NMRスペクトルを測定した結果、それぞれグリセロール、グルコース、マルトースのスペクトルと一致した。これらの物質は、BF内で細胞外ポリマーの分解や微生物の溶菌などによって生じている可能性が考えられた。現在、他のピークについても同定を進めている。発表では、物質の同定結果をもとに、BF間隙水における糖成分の起源、糖組成の類似性について議論する予定である。

Key words: biofilm, interstitial water, saccharides, HPLC, NMR
E-mail: sb0001hf@ed.ritsumeit.ac.jp

PM-008

細胞間コミュニケーションがバイオフィームの脱離にも関与する

○伊藤 聡志¹、柿原 健祐¹、豊福 雅典¹、中島 敏明¹、内山 裕夫¹、野村 暢彦¹
¹筑波大・院・生命環境系

近年、微生物はもはや浮遊状態の単体細胞ではなく、高分子のマトリックスに覆われた不均一な集合体であるバイオフィームを形成し、生存していることが明らかになってきた。微生物は(1)固体表面に接近、付着し、(2)細胞の凝集と細胞外マトリックスの生産を伴ってバイオフィームを成熟させ、(3)ある条件に達すると細胞が、能動的あるいは受動的に、バイオフィームから脱離して新たな場所に付着し、バイオフィームを形成するといった生活環を営んでいる。この脱離という過程は多くの細菌で観察される現象であり、固着型のバイオフィーム細胞から浮遊状態に移行するという点でバイオフィーム形成のライフサイクルを構築させるため、生態学的に非常に重要なプロセスとなる。したがって、脱離に関する課題は長年、バイオフィーム研究の中核を担ってきた。また最近では、バイオフィーム形成において重要な役割を果たしている因子として、細胞間シグナル物質が報告されている。それらがバイオフィーム形成過程における付着や成熟に影響を及ぼすという報告は多数存在するが、脱離への関与を明らかにした報告は少ない。そこで我々は、バイオフィーム中での細胞間コミュニケーションと脱離因子として知られている一酸化窒素(NO)の蓄積量の関係に着目した。本研究では緑膿菌のバイオフィームにおいてPQSというシグナル物質が脱離の過程で生産されるNOの蓄積量を調節し、バイオフィームからの脱離を誘導する現象を見出した。さらに我々は、この過程においてC-di-GMPという細胞内シグナル物質が干渉しているという可能性も示した。

Key words: Biofilm, Dispersion, PQS, Nitric Oxide, C-di-GMP
E-mail: s1321092@u.tsukuba.ac.jp