

## 大腸菌を異なる塩濃度で培養したときの静水圧の影響

○太田 裕也 (日本大学大学院)、関口峻允 (東京海洋大)、藤森裕基 (日本大)、三本木至宏 (広島大学大学院)、加藤千明 (海洋研究開発機構)、為我井秀行 (日本大学)

### 【緒言】

深海とは、大部分が高水圧、低温、暗黒という極限環境条件である。また、地表の7割は海洋で地球の海の平均深度は約3,000~4,000 mの深海であり、現在でも深海の殆どは人類の未踏の世界である。一般的に水深4,000 m以上の水圧下(40 MPa以上)では微生物はほとんど生育できないと言われてきたが、近年水深11,000 mのマリアナ海溝の海底においても多種多様な微生物と深海生物の存在が確認されて、高圧下における生命圏の存在が明らかとなった。このような深海に生息する生物は加圧下で活性を示す生体分子を有しており、高圧下への深海生物の適応機構を分子レベルで理解するための重要な研究材料となっている。好圧性細菌 *Photobacterium profundum* strain SS9 (至適生育温度:15°C、至適生育圧力:28 MPa)の研究において、本細菌を静水圧と塩濃度が高い条件で培養し、細胞内抽出物を測定した結果、それらが低い時と比較して高濃度の $\beta$ -hydroxybutyrateとそのoligomerが確認された。つまり、静水圧と環境中の塩濃度に応じてこのような小分子の溶質が細胞内に蓄積することによって、同細菌の耐圧性に寄与するのではないかと考えられる。圧力感受性菌である大腸菌では静水圧に適応する機能を有していないと考えられるため、環境の塩濃度を変化することにより加圧下での生育に影響が見られることが期待できる。そこで、静水圧と環境中の塩濃度における生体分子の挙動の関係性を明らかにするために、細菌のモデル生物であり全ゲノム配列が公開されている大腸菌 W3110株を用いて、同菌での静水圧と環境中の塩濃度との関係について検討した。

### 【実験】

*Escherichia coli* W3110 を LB 培地をベースにして各種の塩濃度が異なる液体培地 (Table 1) を用いて 0.1 MPa (大気圧下) と 50 MPa において加圧培養を行い、3 時間おきに OD<sub>660</sub> を測定して 24 時間後までの生育曲線を作成した。

### 【結果&考察】

50 MPa の培養時に、50 mM NaCl と 200 mM NaCl の培地において生育を比較した結果、塩濃度が低い培地よりも塩濃度が高い培地の方が生育が良好であった。こうした状況は、硝酸塩、TMAO、フマル酸を添加した場合も同様であった。このことから、浸透圧が大腸菌の生育における耐圧性に影響しているのではないかと考えられた。しかしながら、DMSO が含まれている培地において塩濃度が低い培地と高い培地との生育における有意な差はほとんど見られなかった。これは、DMSO 呼吸系酵素が高圧下でも活性を有すること、あるいは DMSO そのものが高圧状況下から菌体自身を保護している可能性があることが示唆された。

Table 1 本実験で用いた塩濃度が異なる液体培地

LB+50 mM NaCl	LB+200 mM NaCl
LB+10 mM NaNO <sub>3</sub> +50 mM NaCl	LB+10 mM NaNO <sub>3</sub> +200 mM NaCl
LB+10 mM DMSO+50 mM NaCl	LB+10 mM DMSO+200 mM NaCl
LB+10 mM TMAO+50 mM NaCl	LB+10 mM TMAO+200 mM NaCl
LB+10 mM フマル酸+50 mM NaCl	LB+10 mM フマル酸+200 mM NaCl

- 1) Martin, D, D., Bartlett, H, D., and Robert, M, F. 2002. Solute accumulation in the deep-sea bacterium *Photobacterium profundum*. *Extremophiles* 6: 507-514
- 2) Nakashima, K., Horikoshi, K., and Mizuno, T., 1995. Effect of hydrostatic pressure on the synthesis of outer membrane proteins in *Escherichia coli*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59: 130-132