

クリノスタット条件下での細菌増殖と遺伝子発現

○ 小里郁美¹・吉村英尚²・井上哲圭³・大森正之⁴・太田寛行¹¹茨大・農、²東邦大・理、³岡山大・院・医師薬学総合、⁴埼玉大・理

Growth and gene expression of bacteria under the clinorotation.

Ikumi Kozato¹, Hidenao Yoshimura², Tetsuyoshi Inoue³, Masayuki Ohomori⁴, Hiroyuki Ohta¹¹Ibaraki University, ²Tohoku University, ³Okayama University, ⁴Saitama University

Key words: clinostat, microgravity, microarray, swarming

【目的】 有人宇宙計画が進む中で、宇宙環境が生物へ与える影響の解明が求められている。本研究では、模擬微小重力の装置であるクリノスタットを用いて、細菌のバイオフィーム形成と遺伝子発現の解析を行った。クリノスタットでは、試料台を直交2軸まわりに回転させることで、試料に作用する重力ベクトルの方向を変化させることにより、時間平均としての重力を相殺する装置である。

【方法】

寒天表面増殖（バイオフィーム形成）の解析では *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 株を用いた。PAO1 株は LB 培地で対数増殖期まで振とう培養し、5 倍希釈 LB 寒天培地に接種してクリノスタット条件下、30°C で培養した。寒天表面の増殖過程は経時的にスキャナーで画像データとし、画像解析ソフト(NHI Image)を用いて増殖領域を数値化した。また、培地表面から菌体を回収して 0.9% NaCl に懸濁し吸光度(OD₆₀₀)を測定して増殖菌体量を求めた。遺伝子発現の解析は、*Anabena* sp. PCC 7120 株を用いた。PCC7120 株は BG11 培地で定常期まで培養し、遠心で集菌した細胞を暗所で 40 分間順応させたあと、クリノスタット条件においた。経時的に取り出したサンプルから全 RNA を抽出してプローブを調製し *Anabaena* oligonucleotide microarray を用いてハイブリダイゼーションを行い、網羅的な遺伝子発現を解析した。

【結果および考察】 ① *P. aeruginosa* PAO1 の寒天表面増殖は寒天濃度に依存し、0.6～0.8%(w/v)の条件においてクリノスタット条件で増殖促進が観察された。特に、0.6% 寒天の条件では、48 時間培養後の増殖面積は、通常重力下の場合と比較してクリノスタット条件で約 1.6 倍大きかった。また、菌体量でも、28 時間の培養で、クリノスタット条件で約 1.4~1.7 倍高かった。② *Anabena* sp. PCC 7120 をクリノスタット条件においた場合、10 分間では通常重力条件と比較して有意に変化する遺伝子発現は認められなかった。しかし、30 分経過すると発現誘導する遺伝子数が増加し、逆に 1 時間経過すると発現抑制する遺伝子数が増加した。3 時間後では、ほぼ同等数であった。有意に変化した遺伝子は、相対的にアミノ酸生合成系に区分される遺伝子と転写関連あるいは情報伝達系に関連した遺伝子であった。

小里郁美 Ikumi Kozato : i_kozato@yahoo.co.jp