

P-035

Quorum-sensing 機構による亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira japonica* の活性制御メカニズム

牛木 章友¹, ○島田 侑¹, 藤谷 拓嗣¹, 諸星 知広², 常田 聡¹

¹早大院・生医, ²宇大院・工

【背景】亜硝酸酸化細菌 *Nitrospira* は亜硝酸を硝酸に酸化することでエネルギーを獲得する独立栄養性細菌であり、生態系における窒素循環の一角を担っている。しかしながら、*Nitrospira* は分離培養が困難であるため、その性質の多くが謎に包まれている。これまでに我々の研究チームでは *Nitrospira japonica* NJ1 株の分離培養に成功し、ゲノム配列の解読を完了している。その結果、*N. japonica* NJ1 株はアシル化ホモセリンラクトン (AHL) 合成遺伝子と AHL 受容体遺伝子を保持しており、これまでに *Nitrospira* 属では報告のない Quorum-sensing (QS) 機構により微生物活性を制御している可能性が示唆された。そこで本研究では、QS 機構による *N. japonica* NJ1 株の遺伝子発現制御を調査し、亜硝酸酸化活性に対する制御機構の解明を目的とする。

【方法】菌体密度と QS 機構関連遺伝子の関係性を調査するために、*N. japonica* NJ1 株を亜硝酸含有無機培地で 12 日間振とう培養し、細菌数、QS 機構関連遺伝子の発現量の変化を測定した。また、*N. japonica* NJ1 株から DNA を抽出し、AHL 合成遺伝子を PCR で増幅後、大腸菌 *E. coli* JM109 株に形質転換した。つづいて、形質転換した *E. coli* JM109 株を LB 培地で一晩振とう培養し、培養上清を孔径 0.22 μ m の滅菌フィルターで処理後、LC-MS により同定を試みた。さらに、上記の上清サンプルを *N. japonica* NJ1 株に添加後、数日間振とう培養し、亜硝酸酸化活性の評価、亜硝酸酸化還元酵素をコードする *nxrA* 遺伝子の発現量を測定した。

【結果】12 日間の培養試験の結果、細菌数の増加に伴い QS 機構関連遺伝子の発現量が増加することが確認された。また、形質転換した *E. coli* JM109 株の培養上清を LC-MS により同定した結果、上清中には 5 種類の AHL が分泌されていることが明らかになった。さらに、上記の上清サンプルを *N. japonica* NJ1 株に添加した結果、亜硝酸酸化活性が向上し、一部の *nxrA* 遺伝子の発現が誘導されていることが明らかになった。したがって、*N. japonica* NJ1 株は QS 機構により、細菌数に依存した亜硝酸酸化活性制御を行うという新たな知見が見出された。