

2-02

Leptothrix 属細菌の網目状ペリクル形成に関与する因子の同定

○小野 絵里香¹、山本 達也²、尾花 望^{3,4}、杉本 真也⁵、Utada Andrew S^{2,3}、
久能 樹²、野村 暢彦^{2,3}

筑波大学大学院 生命地球科学研究群¹、筑波大学 生命環境系²、
筑波大学 微生物サステナビリティ研究センター³、
筑波大学 医学医療系 トランスボーダー研究センター⁴、東京慈恵会医科大学 細菌学講座⁵

【目的】活性汚泥法では、好気性微生物叢を用い汚水中の有機物などを分解させている。ところが、糸状性細菌の異常増殖は、固液分離障害によって浄水効率を低下させる。そこで細菌を殺さず糸状成長を抑制することが求められている。糸状性細菌 *Leptothrix cholodnii* は、細胞表面から複合多糖鎖からなる無数の微小繊維を分泌し、それらが折り重なったチューブ状鞘構造を形成することで糸状成長する。また、静置培養により気液界面に特徴的な網目状ペリクルを形成することがわかってきた。そこで本研究では、*L. cholodnii* の遺伝子組換え系を構築し、破壊株を作製することでペリクル形成に関与する因子の同定を目的とした。

【方法】異種間接合伝達を行うため、*L. cholodnii* SP-6 株のファンピシン(Rif)耐性株 (以下 WT*) を取得し抗生物質による選択を可能にした。大腸菌 S17-1 株との異種間接合伝達による遺伝子導入により、WT* 株の遺伝子破壊を行った。遺伝子破壊は、ダブルクロスオーバーの相同組換えにより、目的遺伝子をカナマイシン(Km)耐性遺伝子に置き換えた。遺伝子破壊株は Km および Rif を添加培地で選択し、コロニーPCR で目的遺伝子の破壊を確認した。分泌微小繊維や鞘構造は、蛍光顕微鏡や大気圧走査型電子顕微鏡で観察した。また、気液界面に形成されるペリクルは、ズーム顕微鏡および自作観察システムで上方及び側面から継時観察した。

【結果】*Leptothrix* 属細菌は、極鞭毛で水中を泳ぐことが知られている。そこで極鞭毛欠損となる *flgA flgB* 遺伝子破壊株を作製したところ、遊泳出来なくなりペリクルを形成しなかった。また、分泌微小繊維の生合成に関わる糖転移酵素をコードする *lthA* 遺伝子の破壊株は、鞘構造を形成できず、WT* とは異なる模様のないペリクルを形成した。この *lthA* 破壊株のペリクルは、時間経過と共に細胞が蓄積することで崩壊したが、WT* のペリクルは細胞の集積が抑制されるため崩壊しなかった。

【考察】静置培養において、*Leptothrix* 属細菌の浮遊細胞は、極鞭毛を使って泳ぐことで気液界面に集積することがわかった。WT* 株においては気液界面に浮遊し続ける網目状ペリクルを形成する一方、鞘構造を形成しない *lthA* 破壊株はペリクルを形成するものの、その形状は異なり、ペリクルの成長に伴い崩壊した。このことから、鞘形成が網目状ペリクルの形成に重要であるとともに、酸素獲得に有利な気液界面上に存在し続けることにも関与していると考えられる。