

アラスカ氷楔単離株のもつ覚醒増進因子の機能解析

生命分子化学講座 微生物新機能開発学分野

上原 萌

(背景と目的)

Micrococcus luteus で最初に見つかった Resuscitation promoting factor (Rpf) は増殖中の細胞により分泌され、自身の生育を促進、あるいは非分裂状態の細胞分裂を再び開始させるタンパク質であり、*Mycobacterium tuberculosis* を始め、いくつかの放線菌のゲノム上には同遺伝子の存在が知られているが、そのメカニズムは明らかになっていない。ここで非分裂状態とは、無芽胞菌が貧栄養、低水分活性、長期氷点下および低酸素条件などのストレスを受けて、生きてはいるが分裂できない状態を示す。アラスカ永久凍土の氷楔中から単離した新規放線菌 *Tomitella biformata* AHU1821^T の産生する Rpf が①自身の生育を促進するか？②非分裂状態に誘導した同株の生育を再び開始させるか？③非分裂細胞が多いと予想される氷楔環境中の細菌のコロニー形成能に変化をもたらすか？を調べた。

(方法と結果)

T. biformata 由来の *rpf* 遺伝子を *E. coli* TOP10 および *Rhodococcus erythropolis* strain M1218 を用いて発現させ、アフィニティーカラムで精製したところ、推定分子量に相当する組換え Rpf を含む画分 (以下、rRpf) が得られた。対数増殖期まで前培養した *T. biformata* を、*E. coli* 由来の rRpf を添加した新しい培地に接種し、振盪培養して生育への影響を調べたところ、rRpf の濃度依存的に生育が促進された。次に、*T. biformata* を酸素制限下で前培養し非分裂状態に誘導した。これを rRpf を添加した新しい培地に接種、培養して生育への影響を調べた結果、非分裂状態にある細胞を分裂可能にし、再び生育を開始させた。また、アラスカ永久凍土から採取した氷楔を表面殺菌したのち溶解し、これを塗抹して平板培養をする際に、rRpf を加えてコロニー形成数の変化を調べたところ、加えないものに比べてコロニー形成数が日を追って増加した。この平板上で数多く見られたコロニーの一部を釣菌し、rRpf を含む液体培地に接種して生育への影響を調べたところ、実際に生育が促進された。コロニーは *Arthrobacter rhombi* F98 と *Brevibacterium sp.* に近縁の菌であると簡易同定された。

(考察及び結論)

これらの結果から、*T. biformata* の *rpf* 遺伝子産物が覚醒増進因子であることが明らかとなった。さらに、覚醒増進因子は自己だけでなく同環境下細菌のコロニー形成にも影響を与えることを確認した。以上のことから、Rpf は環境微生物の単離・培養を促すことが可能であると考えられ、新たな微生物の探索への利用も期待される。