

# 窒素固定能を持つシアノバクテリア *Nostoc* sp.に対するホルモゴニア分化

## 誘導因子の研究

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 生態化学生物学 西塚紘明

### 1. 研究背景・目的

窒素固定能を持つ *Nostoc* 属シアノバクテリアは、複数の光合成植物と相利的な共生関係を構築することが知られている。*Nostoc* sp.と宿主植物との共生系構築の初期段階においては、*Nostoc* sp.がホルモゴニア (hormogonia) と呼ばれる運動性を有する形態へと分化し、宿主共生部位へたどり着く過程が必須と考えられている。このホルモゴニア分化は、宿主植物から放出されるホルモゴニア分化誘導因子 (hormogonia inducing factor, HIF) によって引き起こされ、これまでに HIF の一つとしてソテツ・サンゴ状根から 1-palmitoyl-2-linoleoyl-*srr*-glycerol (Fig. 1) が単離同定されているが、このジアシルグリセロールを含め、HIF 活性機構に関する知見はいまだに少ない。本研究では、HIF の存在が期待される複数の植物抽出物からの HIF の探索および (±)-ジアシルグリセロール合成品によるアシル基の違いが HIF 活性に及ぼす影響について検討を行った。

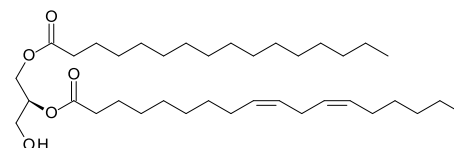


Fig. 1

1-palmitoyl-2-linoleoyl-*srr*-glycerol

と呼ばれる運動性を有する形態へと分化し、宿主共生部位へたどり着く過程が必須と考えられている。このホルモゴニア分化は、宿主植物から放出されるホルモゴニア分化誘導因子 (hormogonia inducing factor, HIF) によって引き起こされ、これまでに HIF の一つとしてソテツ・サンゴ状根から 1-palmitoyl-2-linoleoyl-*srr*-glycerol (Fig. 1) が単離同定されているが、このジアシルグリセロールを含め、HIF 活性機構に関する知見はいまだに少ない。本研究では、HIF の存在が期待される複数の植物抽出物からの HIF の探索および (±)-ジアシルグリセロール合成品によるアシル基の違いが HIF 活性に及ぼす影響について検討を行った。

### 2. 方法

植物試料として、ヒョウタンゴケ (*Funaria hygrometrica*) 植物体、ソテツ (*Cycus revolute*) 葉およびリター、イチョウ (*Ginkgo biloba*) 偽果を採取し、これらのメタノール抽出物およびその分画物を HIF 活性検定試験に供した。HIF 活性検定試験の被験菌には、ソテツ・サンゴ状根から分離した *Nostoc* sp.屋久島株を用いた。BG-11 無窒素寒天平板培地上で継代培養した *Nostoc* sp.のコロニーを滅菌金属メッシュ(70 mesh/inch)でばらばらにしながら濾過し、得られた長径0.2 mm以下の凝集体をさらに2週間同培地で静置培養した。生育した *Nostoc* sp.凝集体コロニーを押さえるように検定試料を含ませたペーパーディスクを乗せ、*Nostoc* sp.凝集体の応答と形態分化を25°C, 16時間明所条件で蛍光顕微鏡下経時観察し、菌体のホルモゴニア分化および分散を追跡した。同様に、炭素鎖や不飽和結合数が異なるアシル基をもつ複数のジアシルグリセロール類をラセミ体として合成し、それらの HIF 活性を検定した。

### 3. 結果と考察

バイオアッセイ開始後48時間以内に、新鮮重0.001-0.1 g相当量でヒョウタンゴケ水溶性画分、ソテツ各種分画物、イチョウ EtOAc 可溶画分は、*Nostoc* sp.凝集体に対する HIF 活性を示した。イチョウ EtOAc 可溶画分(10.2 g)の活性本体を各種クロマトグラフィーにより追跡し、アナカルド酸類 (Fig. 2) を同定した。この化合物はジアシルグリセロール類のアゴニストとして HIF 活性を示していると予想された。また、各ジアシルグリセロール類合成品は0.6 µg/discで HIF 活性を示した。以上の結果は、種特異的な各種 HIF が存在する可能性を示している。これらの化合物群により発現する *Nostoc* sp. 遺伝子を解析することにより、HIF 活性作用機序の解明が期待される。

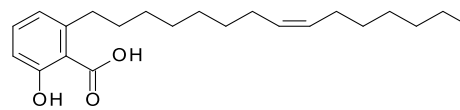


Fig. 2

2-hydroxy-6-(8Z)-8-pentadecenyl-benzoic acid (= 22:1 ω7-anacardic acid)