

# アラスカ永久凍土由来放線菌の休眠細胞における生残機構解析

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 応用分子微生物学 池 晃祐

## 1. はじめに

芽胞非形成細菌には環境ストレスに対応して「生存してはいるが増殖しない」状態に陥るものがある。このような状態は休眠(dormancy)と呼ばれている。我々のグループはアラスカの楔状に発達した永久凍土層から新属新種の芽胞非形成放線菌 *Tomitella biformata* AHU 1821<sup>T</sup>を単離し、本菌を人工的に休眠状態へ誘導可能であることを見出した。このような休眠状態が氷中での長期生存に関与していると考えられているが、その分子メカニズムは不明である。本研究ではプロテオーム解析により休眠中に特徴的なタンパク質を同定することで、休眠中の生残機構解析を目指した。

## 2. 方法

休眠細胞の調製は次のように行った。液体栄養培地で前培養した *Tomitella* 菌体を生理食塩水で2度洗浄した後、フルクトースを加えた液体最小培地に OD<sub>600</sub> が 0.01 となるよう接種した。本培養は 30 mL 容バイアルチューブに 20 mL の培地を添加し、チューブの口をブチルゴム栓で覆う酸素制限状態で行った。溶存酸素濃度がほぼ 0 になるまで振盪培養した後、静置に切替えて培養を継続した。本手法で約 2 か月静置して得た休眠細胞と通常の好気的な対数増殖期細胞からビーズ式細胞破碎によって全タンパク質を抽出し、質量分析によるプロテオーム解析に供した。

## 3. 結果と考察

休眠細胞からは 2,003 タンパク質、対数増殖期細胞から 2,135 タンパク質が検出・同定され、そのうち約 250 個のタンパク質は休眠・増殖条件で有意に発現強度が異なっていた。その中には生残中のエネルギー維持に関わるタンパク質も多く含まれていた。解糖系の酵素群はその多くが休眠条件で高発現していた。一方 TCA 回路の酵素群は、上流・下流の酵素群こそ休眠条件で高発現がみられたものの、2-オキソグルタル酸脱炭酸酵素の発現が非常に低く抑えられていた。この結果は、TCA の酸化的サイクルは機能しておらず、嫌気性代謝でよくみられるオキサロ酢酸からコハク酸への還元的反応が進行していることを示唆する。また呼吸鎖電子伝達系のタンパク質群では、通常使われる末端酸化酵素であるシトクロム *c* 酸化酵素の発現が休眠条件で低下し、高い酸素親和性を持つシトクロム *bd* 型キノール酸化酵素の発現が上昇していた。中枢代謝系以外では、一酸化炭素によるエネルギー獲得に関わる一酸化炭素脱水素酵素の発現が休眠条件で上昇していた。GC-MS 分析による休眠細胞の有意な一酸化炭素取込み結果と合わせて、一酸化炭素を栄養源に生残性を高めていることが示唆される。

## 4. まとめ

以上の結果から、本来偏性好気性である本菌は休眠状態において、嫌気型に近いエネルギー代謝を活性化させることで生命を維持しているものと考えられる。