

D-アミノ酸資化菌の系統と資化特性に関する研究

地球上の生物はタンパク質からできている。また、そのタンパク質を構成する 20 種のアミノ酸のうちグリシン以外には左手型の「L-アミノ酸」と右手型の「D-アミノ酸」の 2 種類がある。L-アミノ酸と D-アミノ酸は、物理化学的性質は同じで、光学的性質だけが異なる光学異性体である。一般的にアミノ酸を人工的に合成すると、L-アミノ酸と D-アミノ酸は等量で合成されると言われるが、生体内のタンパク質は、細菌からヒトに至るまで 99% 以上がグリシンと L-アミノ酸で構成されている。このように一方の光学異性体が選択されることを「キラリティの選択」といい、生物はアミノ酸に関して L-アミノ酸を選択していると言える。しかし、なぜ L-アミノ酸が選択されたのかについて説明する理論はまだなく、D-アミノ酸を選択する「逆キラリティ生物」の存在は否定できない。そこで本研究では、逆キラリティ生物の端緒として、D-アミノ酸を資化する「D-アミノ酸資化菌」の分離と、その分子系統学的解析を行った。D-アミノ酸資化菌のアミノ酸資化特性を探るためにその分離株の D-アミノ酸培地及び L-アミノ酸培地での生育を観察した。

様々な環境サンプルを種々の生物より普遍的に検出されている D-アスパラギン酸、D-グルタミン酸、D-アラニン炭素源とする「D-アミノ酸培地」にて培養し、D-アミノ酸資化菌の分離を行った。分離された株は系統分類の指標遺伝子として用いられる 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を決定し、データベース検索からその系統を推測した。

D-/L-アミノ酸の資化特性に関しては、分離した株を D-アミノ酸培地と L-アスパラギン酸、L-グルタミン酸、L-アラニンを炭素源とする「L-アミノ酸培地」にて培養しその生育を観察した。使用した株は分離された株のうちの 1 株である「久米島菌」と、「久米島菌」と 16S rRNA 遺伝子の相同性が 100% であった株「カリフォルニア菌」の 2 株について行った。この 2 株は、固体の D-アミノ酸培地及び L-アミノ酸培地での生育に違いがみられたので、液体の D-アミノ酸培地及び L-アミノ酸培地での培養を行った。細胞密度に比例する波長 600 nm の吸光度の増加から比増殖速度を算出して D-/L-アミノ酸培地間での比較を行った。さらに、吸光度が最大値を示したときに得られた菌体の炭素量を測定し、菌体の収量を比較した。

48 株のアミノ酸資化菌を分離・培養した。その内 21 株の 16S rRNA 遺伝子の系統解析によると、16S rRNA 遺伝子の塩基配列の決定を行った 21 株のうち 15 株が *Pseudomonas* 属、2 株が *Vibrio* 属、1 株が *Arthrobacter* 属、1 株が *Comamonas* 属、1 株が *Halomonas* 属、1 株が *Rhodococcus* 属であった。また、データベース検索において、今回南極のサンプルから分離された株が北極から分離された既知の株と相同性が一致する例など、同一種と考えられる 2 つの株が地理的にかけ離れた場所から分離された例が見つかった。これより D-アミノ酸資化菌は地球上に普遍的に存在している可能性が考えられた。

増殖実験では、カリフォルニア菌については L-アミノ酸培地、久米島菌については D-アミノ酸培地で培養したときの増殖速度が若干大きかった。収量についてはカリフォルニア菌では L-アミノ酸培地での培養した株の方の収量が大きかったが、久米島菌では L-アミノ酸培地も D-アミノ酸培地も同じ程度の収量が得られた。これより、久米島菌はラセマーゼのような D-アミノ酸を一度 L-アミノ酸に変える酵素などを利用した D-アミノ酸の資化とはことなる資化の機構の可能性が考えられる。また、同じ 16S rRNA 遺伝子型を持つ 2 株が異なるアミノ酸資化特性を示すことがわかった。今後はこの 2 株の全ゲノムを比較し、D-アミノ酸の資化に関わる遺伝子を推定する手掛かりとする。

黒田麻美

今回のゼミ (4月26日、9:30～、N407にて) は成果報告です。