

Notice on Plankton Seminar

#13012

9:30-11:30, 7 Oct (Mon.) 2013 at Room # N602

\*\*\*\*\*

Carsten, P. and G. Pohnert (2013)

Induction of protease release of the resistant diatom *Chaetoceros didymus* in response to lytic enzymes from an algicidal bacteria

*PLOS ONE*, **8** (3): e57577.

殺藻細菌産生溶解酵素による珪藻 *Chaetoceros didymus* のプロテアーゼ産生誘導

海洋性の殺藻細菌は植物プランクトン群集構造やブルーム消滅過程において非常に大きな役割を担っていると考えられている。これまでに世界中の沿岸域から多くの殺藻細菌が分離され様々な性状解析が行われてきた。近年、殺藻物質としてのタンパク質分解酵素の存在が示唆されている。殺藻細菌 *Kordia algicida* はクオラムセンシングによるプロテアーゼ産生制御機構を有し、珪藻 *Skeletonema costatum* など他数種の珪藻を溶解する事が報告されている。本研究は、*K. algicida* の産生するプロテアーゼに耐性を示す珪藻 *Chaetoceros didymus* の化学的防御機構の解明を目的に行った。

殺藻細菌 *K. algicida* OT-1 株は Zobell 液体培地にて室温、振とう培養 (80-100 rpm) し、珪藻 *S. costatum* と *C. didymus* は栄養塩を強化した人工海水で明暗周期 14hL: 10hD、光強度 40 - 45 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ 、温度 15 $^{\circ}\text{C}$  で培養し実験に使用した。細菌増殖速度は波長 550nm における吸光度 (OD: Optical Density) で測定し、珪藻の増殖速度はクロロフィル *a* 蛍光測定し推定した。次に、対数増殖期の OT-1 株培養から孔径 0.2 $\mu\text{m}$  フィルターを用いた濾液の上記の珪藻 2 種の増殖に対する影響を検証した。また、濾液のプロテアーゼ活性を蛍光色素 (BODIPY FL) を用いその蛍光値から推定した。*K. algicida* 培養濾液を添加した *C. didymus* 及び *S. costatum* 培養、そしてコントロール区として海水を添加した *K. algicida* 培養濾液と海水を添加した *C. didymus* 培養それぞれのプロテアーゼ活性変動を三日間モニターした。そして、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法によって、*C. didymus* の産生するプロテアーゼの分子量による分離、酵素電気泳動法によるプロテアーゼ活性染色によるプロテアーゼの特定を行った。更に、OT-1 株の濾液によって誘導された *C. didymus* 産生プロテアーゼの *S. costatum* 増殖に対する影響を細菌培養濾液を対数増殖期の *C. didymus* 培養に添加し三日間培養後、更にその濾液を対数増殖期の *S. costatum* 培養に添加しクロロフィル蛍光測定によりモニタリングした。

OT-1 株の濾液は *S. costatum* の増殖を阻害したが、*C. didymus* の増殖には影響が見られなかった。また、コントロール区と比べ OT-1 株培養濾液を添加した *C. didymus* 培養中のプロテアーゼ活性が二日目から相対的に高い数値を示した。更に、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法と酵素電気泳動法の結果から、OT-1 株濾液添加区における *C. didymus* が産生したプロテアーゼ数種類 (30-200kDa) は細菌濾液中及び細菌濾液未添加区の *C. didymus* 培養中から検出されず、これらプロテアーゼの細菌濾液添加による産生誘導を示唆している。OT-1 株培養濾液添加 *C. didymus* 培養濾液は OT-1 株培養濾液よりも *S. costatum* 増殖に対して高い殺藻性を示した事から、*C. didymus* が誘導産生するプロテアーゼが *S. costatum* に対して有害な影響をもたらす事が推察された。

稲葉 信晴