

Yi, Y., X. Yu, C. Zhang and G. Wang (2015)  
Growth inhibition and microcystin degradation effects of  
*Acinetobacter guillouiae* A2 on *Microcystis aeruginosa*  
*Res. Microbiol.* **166**: 93-101.

*Acinetobacter guillouiae* A2 株の *Microcystis aeruginosa* に対する増殖阻害とマイクロキスチン分解効果

HABs (Harmful algal blooms) とは、有害有毒藻類が大量に増殖することである。*Microcystis aeruginosa* は淡水における有毒ブルームの原因種として最も多く報告されており、マイクロキスチンと呼ばれる環状ペプチド構造の肝細胞毒素を生成する。マイクロキスチンはヒトや動物に健康被害を与え、死に至らしめることもある。HABs 防除法として、超音波や電磁波による破壊、ポンプによるブルームの吸引、硫酸銅やキノネの散布などの物理的もしくは化学的な方法が試行されてきた。しかし、これらの方法はコストが高く、二次汚染の危険性が指摘されており、同時に有毒なマイクロキスチンを取り除くことができないのが現状である。そのため、近年では藻類の増殖を阻害する性質（殺藻性）を有する細菌を用いた生物学的な防除法の研究が、環境に優しい手法として注目されている。そこで本研究では、中国江蘇省の太湖にて *M. aeruginosa* のブルーム発生後の湖水から細菌を分離した。*M. aeruginosa* との共培養実験において最も強い殺藻性が確認された細菌（A2 株）を単離し、種同定、殺藻機構の解明、殺藻物質の精製と同定、マイクロキスチン生成能に関する影響の実験、および殺藻物質の影響の特異性に関する実験を通じて細菌を用いた HABs 防除法の有用性を検証した。

本研究に使用した A2 株の種同定は、グラム染色、カタラーゼ試験等の性状と、PCR による 16S rRNA 遺伝子および *rpoB* 遺伝子の配列決定を行い、これらの結果をふまえて GenBank データベースとの配列の照合を行った。また A2 株を遠心分離操作により細胞塊と細胞を除いた濾液に分け、それぞれを *M. aeruginosa* に添加して殺藻機構を調べた。さらに、*M. aeruginosa* のマイクロキスチン生成量とマイクロキスチン合成に関連する遺伝子 (*mcyA*, *mcyD* および *mcyH*) の発現に A2 株が与える影響についても、*M. aeruginosa* との共培養実験により検証した。殺藻物質は数回のクロマトグラフィーにより精製し、化学構造の同定は核磁気共鳴により行った。また、殺藻物質影響の特異性については、*M. aeruginosa* と 2 種の緑藻 (*Chlorella pyrenoidosa*, *Scenedesmus obliquus*) で比較した。

A2 株は *Acinetobacter guillouiae* と同定された。共培養実験の結果、A2 株は *M. aeruginosa* に対して 10% (vol/vol) の添加、7 日間で 91.6% という増殖阻害率を示した。A2 株の濾液が 71.6% と高い増殖阻害率を示したのに対し洗浄細胞は 30% であり、濾液を 85°C で 1 時間熱処理しても濾液添加と同様の結果が得られたことから、殺藻機構は殺藻物質の分泌による間接的な攻撃であり、殺藻物質は熱安定性を有することが示された。また、*M. aeruginosa* が生成するマイクロキスチンと、マイクロキスチン生成に関連する遺伝子の発現量はともに本細菌により減少した。クロマトグラフィーにより精製された殺藻物質は、核磁気共鳴によりフェノール化合物である 4-ヒドロキシフェネチラミンと同定された。本物質は *M. aeruginosa* の増殖を著しく阻害したが、*C. pyrenoidosa* と *S. obliquus* に対しては比較的増殖阻害率が低かった。

以上から、A2 株は本研究で共培養した 3 種の藻類のうち、*M. aeruginosa* に対して特異的に増殖を阻害すると同時に、マイクロキスチンの合成を遺伝子発現のレベルで抑制することが示された。このような *M. aeruginosa* に対する特異的な殺藻性は、ブルームをコントロールするのに有用な性質である。さらに、*Acinetobacter* 属の殺藻性を報告した例はほとんどなく、*M. aeruginosa* に対する殺藻細菌に関する知見が広がった。また、ホザキノフサモ (*Myriophyllum spicatum*) 等の植物から単離されたフェノールおよびフェノール酸の殺藻性は報告されていたが、今回の研究で細菌もフェノール化合物によって藻類の増殖を阻害している可能性が考えられた。したがって、殺藻性をもつ細菌とそこから単離された化合物により、HABs をコントロールする新たな可能性が示唆された。

大洞裕貴

\*\*\*\*\*  
次回ゼミ (6 月 18 日 [木] 13:30~、資源化学セミナー室にて) は、阿部さん、富山君の予定です。