

# アオコ原因種 *Microcystis aeruginosa* に対する 殺藻細菌の殺藻機構におけるクオラムセンシング関与の可能性 (学会発表練習)

## 1. はじめに

藍藻 *Microcystis aeruginosa* が形成するブルーム (アオコ) は富栄養化した湖沼などにおいて景観の悪化や悪臭, 水生生物の斃死等を引き起こすことから防除対策が必要である。アオコ対策として物理的・化学的な防除法が提唱されているが生態系への影響やコストの高さが懸念され, 実用技術は少ない。

近年, 湖沼生態系に配慮したアオコ防除法として, *M. aeruginosa* に対する殺藻能を持つ殺藻細菌を用いたアオコ防除法が提案されている。殺藻細菌のアオコ防除への活用を検討するにあたり, その殺藻機構を把握することは重要である。

ところで浅海域の赤潮防除における殺藻細菌の研究をみると, 殺藻機構におけるクオラムセンシング (QS) の関与が報告されている。QS は細菌の情報伝達機構であり, 細菌は自らが産生する情報伝達物質のオートインデューサー (AI) を介して周囲の細菌密度を感知し, その密度に応じて特定の遺伝子の発現を制御する。*M. aeruginosa* に対する殺藻細菌に関しても, 殺藻機構と QS の関係性が注目されているものの, 未だ知見は少ない。そこで本研究では, AI としてアシルホモセリンラクトン (AHL) が働く QS に注目し, *M. aeruginosa* に対する殺藻細菌の殺藻機構における QS の関与を検討した。

## 2. 材料と方法

*M. aeruginosa* に対する殺藻細菌および増殖阻害細菌は, 2015 年に北海道函館市五稜郭公園外堀の湖水, およびそこに自生する水草ヒシの表面バイオフィームより単離したものを使用した。まず -80°C で冷凍保存していた殺藻細菌株を解凍し, ST10<sup>-1</sup> 寒天培地にて維持培養を行った。解凍した細菌株のうち *M. aeruginosa* に対する殺藻能および増殖阻害能が再度確認できた 30 株を以降の実験に供した。

実験-I: 各細菌株の殺藻機構について AHL を介した QS との関連を検討した。QS 阻害剤として, AHL と包接錯体を形成する β-シクロデキストリン (β-CD) を終濃度 10<sup>3</sup> μM とな

るよう CT 培地に溶解させ, 試験管に分注した。そこに無菌の *M. aeruginosa* (Ma17 株) を約 10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup> のオーダーの密度となるように添加し, さらに寒天培地にて培養した各細菌株のコロニーを滅菌爪楊枝で釣菌接種した。また, 細菌を添加していない細菌無添加区, および β-CD を添加していない β-CD 無添加区を準備した。各実験区を温度 25 °C, 光強度約 50-100 μmol photons m<sup>-2</sup> sec<sup>-1</sup>, 明暗周期 14 hL : 10 hD の条件下で 14 日間培養し, ターナー蛍光光度計を用いて *M. aeruginosa* の増減を蛍光値によりモニタリングした。実験-II: 実験 I の結果, 殺藻機構と QS の関連が示唆された細菌株に対し, β-CD のほか α-CD と γ-CD をそれぞれ QS 阻害剤として用いた実験区を設け, 実験 I と同様の条件で細菌株と *M. aeruginosa* の二者培養実験を実施した。

## 3. 結果と考察

実験-I の結果, 水草ヒシの表面から単離された *Pseudomonas* 属の細菌株 1 株 (NO.30) において, β-CD の添加による殺藻の阻害が顕著に認められた。NO.30 株と共培養した *M. aeruginosa* の増減を表す蛍光値は, β-CD 無添加区では 0.63-8.4 の間で推移していたが, β-CD 添加区においては 0.63-34.0 まで増加した。さらにこの細菌株に対して実験 II を実施したところ, 添加した CD の違いによって殺藻の阻害効果に差異が見られ, α-CD < β-CD < γ-CD の順に殺藻が阻害される傾向が見られた。

CD 類はオリゴ糖が環状に結合した構造であり, 分子の空洞部分に AHL 類を包接することによって QS を阻害する。今回の実験結果から, NO.30 株の殺藻機構には AHL を介した QS の関与が示唆された。さらに各 CD の空洞部分の容積は α-CD < β-CD < γ-CD の順に大きいことから, NO.30 株は比較的分子量の大きな AHL を QS に用いていると考えられる。今後は化学分析等を用いた AHL 類の分子の同定および詳細な殺藻機構の解明を進めていく必要がある。

大洞裕貴