

## 水曜海山から新規に単離された微生物の増殖過程における形態変化

## Morphological changes during growth of microorganisms newly isolated from Suiyo Seamount

# 桑原 朋彦 [1]

# Tomohiko Kuwabara[1]

[1] 筑波大

[1] Univ. Tsukuba

<http://www.biol.tsukuba.ac.jp/~kuwabara/index.html>

我々は熱水と海水の混合を許容するタイプの、微生物単離を目的とした微生物現場培養器 (ISCD) を開発し、それを用いて南部マリアナの熱水孔から細胞融合する *Thermococcus* を単離した。本器が細胞融合する微生物の採取に特に適しているかどうかは、今後の本器の使用実績により明らかになると思われる。本研究では ISCD を用いて微生物 MN14 株を単離し、増殖過程における形態変化を調べた。形態変化から細胞融合の可能性が示唆された。

RV なつしま (JAMSTEC) の NT05-16 航海 (2005.9.22-2005.10.7) において ROV Hyper Dolphin により水曜海山の海底熱水孔 (水深 1384 m, 281°C) に ISCD を設置し、2 日後に回収した。現場培養には担体としてアパタイト・軽石を用いた。現場培養後、母船上で担体を嫌気パウチして 4°C で研究室に輸送した。担体を粉砕し、微生物源として従属栄養微生物のための TF 培地に接種し、60°C で 20 時間集積培養を行った。継代培養後、極限希釈法および 0.8% Gelrite を含むプレートを用いた単コロニー単離法により微生物を単離した。

担体として用いた軽石から MN14 株が単離された。MN14 株は桿菌であり、幅  $1 \mu\text{m}$ 、長さ  $4 \sim 15 \mu\text{m}$  のフィラメントを形成した。様々な増殖段階において位相差および Live/Dead を用いたエピケイ光顕微鏡観察を行った結果、この株は桿菌から球菌への形態変化を行うことが示された。特徴的な 4 つの形態は、対数増殖期から定常期にかけて (1) エピケイ光がほぼ細胞内全体に広がった桿菌 (2) エピケイ光が断片化した、桿菌の数倍長のフィラメント (3) エピケイ光が断片化し、フィラメントの一部がバルーン状に変形したもの、および (4) 「強いエピケイ光を放つ大きな核様体」をもった大球菌 (直径、 $\sim 10 \mu\text{m}$ )、であった。これらの形態的特長は MN14 株が *Thermosiphon* に属することを示唆する。すなわち、フィラメントは複数の桿菌が縦に連結した状態で構成されており、それら全体が 1 つの外膜の中に存在してフィラメントを形成していると思われる。形態 (1) では細胞の判別は可能であったが、形態 (2) 以降ではフィラメント内に何個の細胞があるか、判別できなかった。形態 (4) で「強いエピケイ光を放つ大きな核様体」は異常に増幅した核様体あるいはフィラメント内の核様体の融合を示唆する。もし後者であるとすれば、それはフィラメント内の細胞が形態 (2) 以降の増殖過程において融合していることを意味する。グラム染色の結果は、桿菌部分はグラム陰性であるがバルーン部分はグラム陽性であり、両者の表層構造が異なることを示唆した。培養液を長期間 (1 ヶ月) 室温で保存したところ、形態 (4) の球菌が多い状態になった。これを培地に接種しても菌は再生しなかった。形態 (4) の大球菌は、それ自体は生きているが、子孫を残せない「行き止まりの微生物」であるかもしれない。現在、16S rRNA 遺伝子配列決定により MN14 株の分類を確定するとともに、形態変化についてさらに研究を進めている。

桿菌の球菌への変化はいくつかの真正細菌において見られる現象である。形態変化過程においては細胞骨格に関する遺伝子の発現が大きく変化しているものと思われる。MN14 株の形態 (2) 以降においてはフィラメント中に細胞がいくつあるのか、細胞膜がどのような状態かは光学顕微鏡ではわからなかった。これと共に、形態 (4) の「強いエピケイ光を放つ大きな核様体」が本当に膜に囲まれていないか、透過型電子顕微鏡観察により確認する必要がある。