2P137

Pseudomonas aeruginosa fleN 変異株を用いたべん毛構築数制御の解析

○柴田 敏史、相沢 慎一 (JST, CREST)

Pseudomonas aeruginosa は極単毛グラム陰性細菌である。*P. aeruginosa* のべん毛遺伝子群は class I～IV の階層をなし、各階層でその発現量が制御されている。この制御に関連する遺伝子として、class I に位置する *fleQ* 遺伝子と、その下層の class II に位置する *fleN* 遺伝子が知られている。FleQ は class II 以降の発現を増大させ、その後 Class II の発現が多くなりすぎると、その中に位置する FleN が FleQ の働きを抑制することが明らかとなっている。よって *fleN* 変異株では FleQ の制御がないために多くのべん毛が極に構築される。今回 *fleN* 変異株におけるべん毛数を解析し、またその構築様式の解析を行った。野生株では分裂の際に、べん毛の無い極にのみ 1 本の新しいべん毛が構築される。しかし *fleN* 変異株では 1～4 本構築され、すでにべん毛が構築されている極にも、さらに新しいべん毛が構築されることが明らかとなった。この 1 細胞あたりのべん毛数を測定し分布を調べると、増殖初期 (OD=0.6) で 3 本、対数増殖期 (OD=1.0) で 5 本、定常期 (OD=1.5) で 7 本となり、各時期でべん毛構築数の分布にピークが現れ、増殖に伴いピークが多いほうへ移ることが判明した。また、すでにべん毛がある極 Old pole (OP) と、新たに構築される極 New pole (NP) を区別し、1 分裂で、何本のべん毛が構築されるか比較すると、OP では平均 1.2 本、NP では平均 3.2 本となった。これらの結果から、べん毛構築モデルを作成し、極単毛細菌のべん毛が 1 本に保たれている機構を考察する。

S. Shibata, S. Aizawa : Analysis of *fleN* flagellar number mutant of *Pseudomonas aeruginosa*

2P139

Monoterpene Volatiles の *Salmonella typhimurium* に対する抗菌作用と病原性タンパク質分泌への影響

○水崎 秀明^{1,2}、山崎 祐未子³、秋光 和也³、相沢 慎一²、嶋田 勝彦¹ (¹ 名古屋市大、²JST, CREST、³香川大・農)

Monoterpene とは、炭素を 10 個もつ化合物の総称で多くの植物の葉・花・実より得られる香料、精油の成分である。自然界では花粉媒介者の誘引や植物間相互作用、天敵からの防御などに使われている。また、実用的なものとして食品や美容、製薬産業などで広く利用されている。Monoterpene の揮発性物質は真菌の成長阻害を引き起こすことが知られているが、細菌ではどのような影響を起こすのかはまだよくわかっていない。そこで私たちは病原性細菌である *Salmonella typhimurium* を用いて細菌の成長に対する Monoterpene 作用を調べた。*S.typhimurium* は食中毒の原因となる細菌で、TypeIII に分類されるタンパク質の輸送器官から病原性タンパク質を分泌することが知られているが、Monoterpene でそのタンパク質の分泌を阻害する傾向が見られた。そこで、Limonene や Citral といった柑橘系の植物に多く含まれる 11 種類の Monoterpene について詳細な解析を行った。その結果、どの Monoterpene でも 2%以上の濃度では *S.typhimurium* に対する成長阻害が見られた。一方で、培地に添加する Monoterpene の濃度を 0.2%以下にすると、成長阻害はしないが TypeIII 輸送系のタンパク質分泌だけを特異的に阻害することがわかった。さらに、TypeIII 輸送系の mRNA 発現を RT-PCR 法で調べたところ、Monoterpene によって病原性タンパク質をコードする遺伝子の発現が転写レベルで抑えられていることが明らかになった。

H.Mizusaki, Y.Yamasaki, K.Akimitu, S.Aizawa and K.Shimada : Effects of Monoterpene Volatiles on TypeIII protein secretion of *Salmonella typhimurium*

2P138

Saprospira grandis の滑走運動装置

○石川 直洋、相沢 慎一 (JST, CREST)

S.grandis は Eubacteria に属する海洋性の滑走細菌である。菌体は鎖状に繋がったらせん状の形体をとりべん毛や線毛を持たない。しかし、固体表面や菌同士の接触により付着してなめらかに滑るように動く。この運動様式は他のバクテリアや微小なゴミなどを菌体表面に補足すること (ixotrophy) とも深く関係している。真水では滑走運動は全く行わず、ixotrophy も行わない。この ixotrophy は *Mycoplasma* や *Myxococcus* には見られない特徴で、付着した物質は *S.grandis* の菌体表面を滑るようになめらかに移動して一ヶ所に集まり大きな塊を作る。暗視野顕微鏡での観察では、培養後 OD₆₀₀=0.6 以下ではガラスなど基質へ付着しないが、細胞同士が接触して互いに滑る動きが観察できた。OD₆₀₀=0.8 付近でガラスに付着し活発な滑走運動がみられる。OD₆₀₀=1.2 以上から滑走運動の際足跡として膜がガラス表面に残される。液体培養時にも、この膜は菌体表面から放出され、楕円形の袋状又は帯状で浮遊してくることがわかった。この膜を電子顕微鏡で観察してみると、幾本かのフィラメントが一方方向に並んでおり、界面活性剤処理によって個々のフィラメントに分かれることがわかった。オスモショック法により菌体表面を観察すると、螺旋状に取り巻く同フィラメントが確認された。これらの結果から、対数増殖初期において運動能はあるが、付着は見られない。後期以降になると基質への付着が増加する。菌体表面を取り巻くフィラメントが *S.grandis* が滑走するための運動装置であるとの作業仮説を立ててその性質を調べている。

N.Ishikawa, S.Aizawa : Structural analysis of motility organelle responsible for gliding motility of *Saprospira grandis*

2P140

高分子添加に伴う細菌べん毛の推進効率変化と流体力異方性モデル

○西島羽 恵美¹、曲山 幸生²、工藤 成史¹ (¹ 桐蔭横浜大・工、² 食総研)

バクテリアは、らせん形のべん毛が回転して発生する推進力により水中を泳ぎ回っている。水中でのバクテリアの遊泳に関しては、遊泳速度 (*v*) とべん毛回転数 (*f*) の関係が計測されている。遊泳速度とべん毛回転数は、ほぼ比例していて、その比 *v/f* は温度を変えて粘度を変化させても一定だった。この結果は流体力学のストークス近似に基づく理論に適合している。私たちは高分子を含む水溶液中での遊泳に関して、PVP などの高分子を加えたときの単毛性細菌の遊泳速度とべん毛回転数の関係をレーザー暗視野顕微鏡を用いて計測してきた。今回は、線状高分子のメチルセルロース、球状高分子のフィコールを添加して遊泳速度とべん毛回転数を計測した結果を示す。どちらの高分子を添加した場合も、遊泳速度はピークをもつことなく減少した。しかし、線状高分子のメチルセルロースを加えたとき、低粘度側で遊泳速度が減少の程度が小さかった。べん毛回転数は高分子の種類によらず粘度を上げると同程度に減少していた。その結果、遊泳速度とべん毛回転数の比 *v-f* ratio (推進効率に対応) は、メチルセルロースで粘度を変化させたとき上昇していたが、フィコールの場合はほぼ一定だという違いが現れた。繊維の接線方向と法線方向の実効的粘度に違いがあるというモデル (Magariyama & Kudo, 2002) に基づき解析した結果と実験結果を比較すると、粘性溶液中でのバクテリアの推進効率変化が、ほぼ説明できる。線状高分子のメチルセルロースは、接線方向の粘度に比べて法線方向の粘度が大きくなるため、粘度が上昇したとき *v-f* ratio も上がったと考えられる。球状高分子であるフィコールの場合は実効的粘度に差がほとんどないため、粘度が上昇しても *v-f* ratio がほぼ一定だったと考えられる。

M. Nishitoba, Y. Magariyama and S. Kudo : Changes in propulsion efficiency of bacteria in polymer solution and anisotropic viscous drug model