

アエロモナスの菌体外毒素産生に及ぼす食塩の影響

○高橋 栄造¹, 根岸 友恵¹, 有元 佐賀恵¹, 岡本 敬の介¹(¹岡山大学)

【目的】アエロモナスは主に池や河川などの淡水中に生息するグラム陰性桿菌で、海水中ではその菌数が減少する。そこで私達はこれまでにアエロモナスの毒素産生と食塩濃度の関係を調べた。その結果、本菌は3%食塩存在下では溶血毒は正常に産生するが、プロテアーゼは正常に産生できない事が分かった。本研究では、プロテアーゼと同様に食塩により産生調節される菌体外蛋白質を明らかにするため、解析を試みた。

【方法】*A. sobria* 288 セリンプロテアーゼ、メタロプロテアーゼ両欠損株を37℃で0.5%および3%食塩を含む普通培地で培養し、培養上清を SDS-PAGE にかけて、蛋白質を分離した。3%食塩下で産生量が低下した蛋白質をハイドロキシアパタイトカラム、ゲルろ過カラムを用いて精製し、N末端アミノ酸配列、分子量を決定した。得られたデータをもとに Blast 検索を行い、蛋白質を推定した。

【結果と考察】本菌の0.5%、3%食塩の培養上清に含まれる蛋白質を比べた結果、ある蛋白質は3%食塩下では産生量が低下した。この蛋白質をカラムを用いて精製し、解析した結果、そのN末端アミノ酸配列はGGDDNであり、分子量は81044.8である事が分かった。これらをもとに Blast 検索を行うと、本蛋白質は lipase-like protein である事が推定された。

本蛋白質のリパーゼ活性を4-ニトロフェノールパルミチン酸エステルを基質に用いて測定すると、本蛋白質はリパーゼ活性を示した。この精製タンパク質を10分煮沸すると活性を示さなかった事から、本タンパク質は易熱性リパーゼである事が分かった。また、培養上清のリパーゼ活性を測定すると、0.5%食塩の培養上清はリパーゼ活性を示すが、3%食塩の培養上清は活性を示さなかった。