疎水性環境に暴露されることで誘導される微生物の熱耐性

生物資源科学部　応用生物科学科　准教授　岩淵　範之

目的・背景

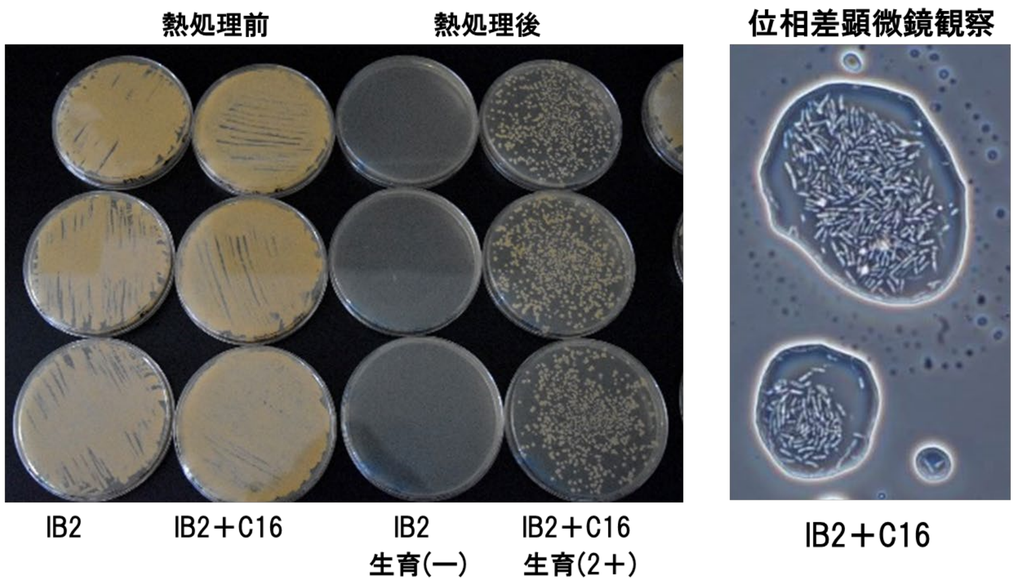
われわれは*Rhodococcus*属細菌を用いた炭化水素の分解方法に関する研究を行っており、これまでに、超音波処理技術を使ってo/wエマルジョンを使った炭化水素分解を促進させる方法などを開発した(特許第4877900号、特許第5532474号、特許第5747371号、特許第6695612号、特許第7088510号)。

培地/アルカン二相培養において培養された*Rhodococcus*属細菌の細胞は、通常、アルカン相に存在するが、本研究では、この細胞を100℃、10分分間加熱処理をしても生きていることを見出した。一方でアルカンを添加しない条件で培養した細胞をこの条件で加熱処理したところ、死滅した。このことは、細胞がアルカン相内に存在することで、秘めていた同属細菌の熱耐性が誘導されたものと考えられた。

一般に、*Methanopyrus*属などの古細菌や*Thermus* 属などの真性細菌は熱耐性を有することが知られており、超好熱菌として取り扱われている。一方で、*Bacillus*属などの芽胞を有する場合も高い熱耐性を有することが知られている。しかしながら、*Rhodococcus*属が熱耐性を有することや芽胞を形成することなどは知られていないため、本熱耐性はアルカン相に存在したことよる細胞の生理学的な変化に起因すると考えられた。また、本熱耐性は、様々な応用が考えられることから、今後のより詳細な解析が必要である。

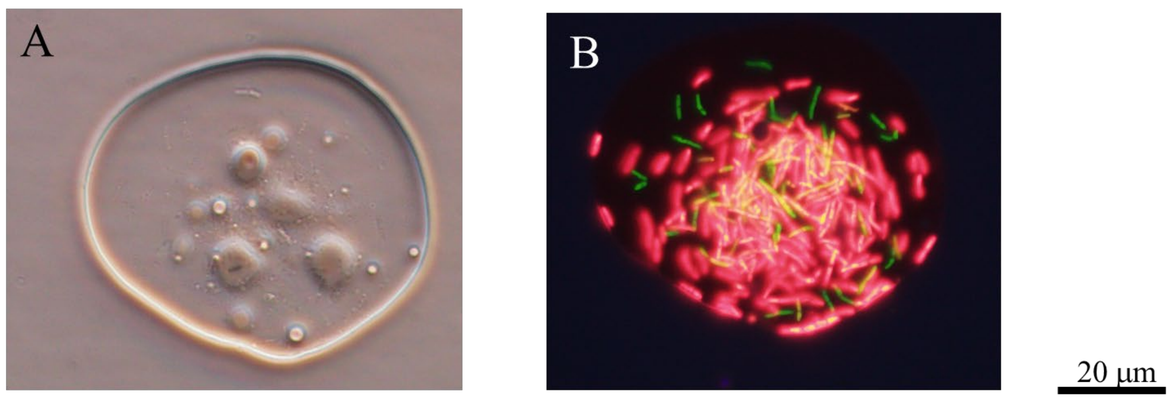
原理・方法・結果・まとめ

各種*Rhodococcus*属細菌の熱耐性試験の評価



IB2培地で定常期まで培養し、100℃で10分間加熱処理を行った後、ループで画線植菌をして、その生育を確認した。生育レベルは、3+から一までの4段階で評価し、同時に位相差顕微鏡で細胞の局在性も確認した。

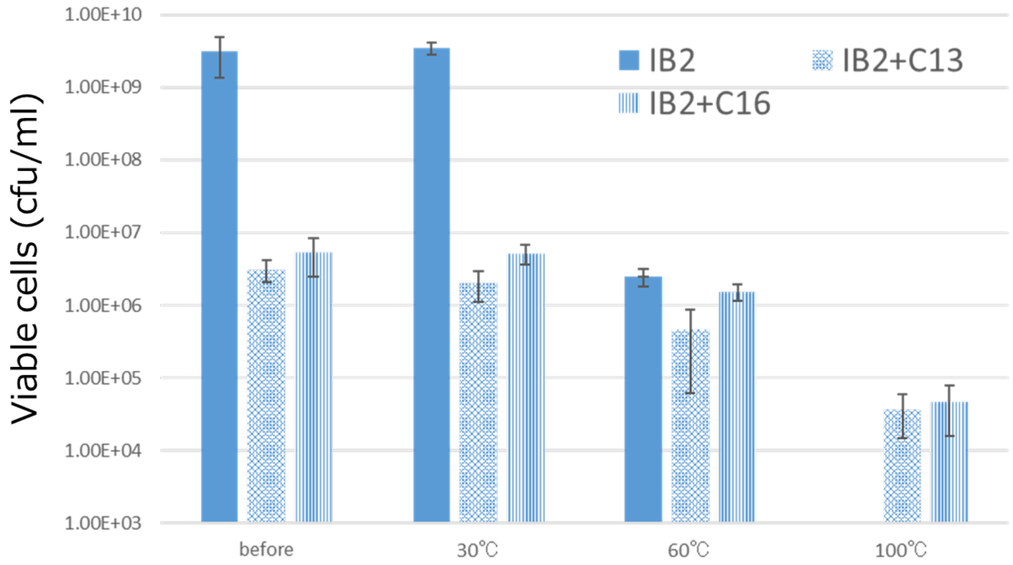
熱処理後の細胞の顕微鏡観察



IB2培地にC16を含む二相培養系で培養されたPR4株の細胞の熱処理(95℃、10 min)後の顕微鏡観察

A：位相差顕微観察 （油滴中に細菌が生存）
B：LIVE/DEAD染色後の蛍光顕微鏡観察
（緑：生細胞、赤：死細胞、黄色：両細胞が重なった場合）

各種温度に対する検討



IB2培地およびそれにC13、C16を含む二相培養系で培養されたPR4株の生菌数に対する加熱温度の影響

Before：熱処理前／30℃：30℃で10分間加熱処理
60℃：60℃で10分間加熱処理／100℃：100℃で10分間加熱処理

他の株、食用油に関する検討

		C13	C16	サラダ油	コーン油	オリーブ油	米油	紅花油	綿実油	ゴマ油
Rhodococcus erythropolis	ATCC47072	++	++	++	++	++	++	++	++	
Rhodococcus erythropolis	NBRC100887（PR4株）	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Rhodococcus globerulus	ATCC15076	++	++	++	++	++	++	++	++	
Rhodococcus opacus	ATCC170391	++	++	++	++	++	++	++	++	
Rhodococcus rhodochrous	ATCC12674	++	++	++	++	++	++	++	++	
Rhodococcus rhodochrous	S-1	++	++	++	++	++	++	++	++	
Rhodococcus rhodochrous	R-2	++	++	++	++	++	++	++	++	

判定基準：
ー：菌の生育が確認不可能
＋：菌の生育が確認可能
＋＋：菌の生育が良好

Rhodococcus 属細菌のPR4株以外の株でもアルカン、食用油存在下で、耐熱性が向上することを確認した。以上のことから、本熱耐性は*Rhodococcus* 属細菌に共通した性質であると考えられた。

自主創造 日本大学 NIHON UNIVERSITY
日本大学産官学連携知財センター（NUBIC）
〒102-8275　東京都千代田区九段南4-8-24　日本大学会館
Tel: 03-5275-8139　Fax: 03-5275-8328　E-mail: nubic@nihon-u.ac.jp　http://www.nubic.jp
Nubic