

海洋深層水中より見出された色素産生細菌の 培養条件の検討及び同定

物質・環境システム工学科

環境生物工学講座

1010047 高島 正治

研究目的

室戸海洋深層水から単離した色素産生細菌

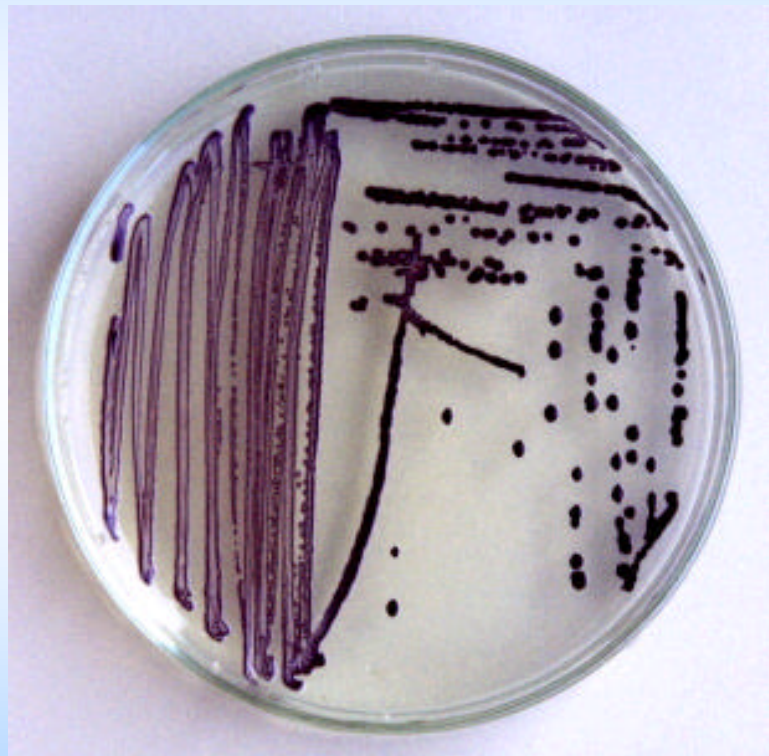
青紫色 520P1株

赤色 :1020R株

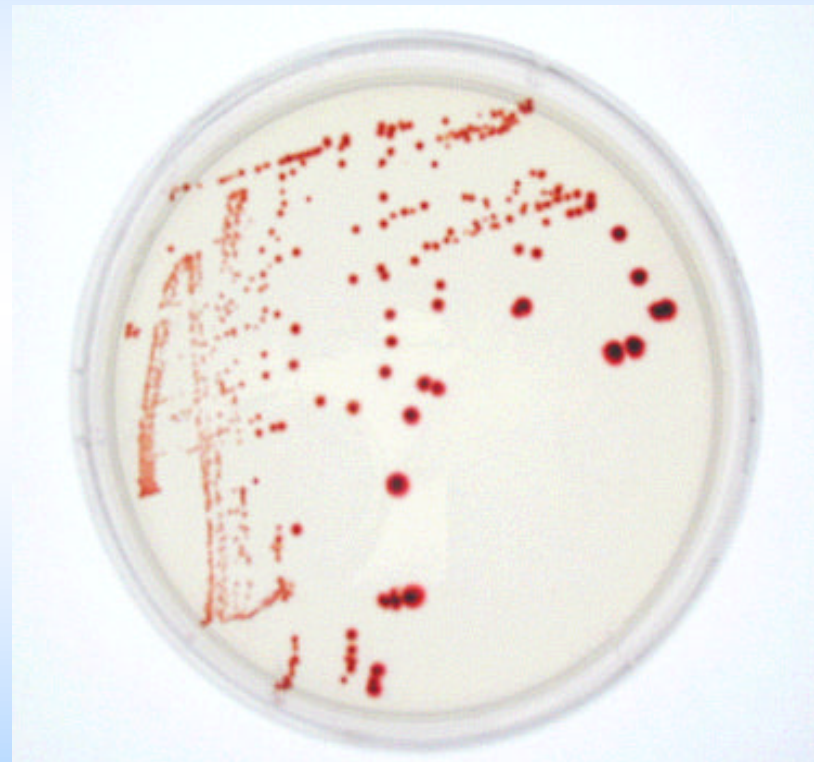
有用性の検討

実験室レベルにおける培養の条件を検討し
さらに赤色色素産生菌1020Rの同定を行う

平板培地上に見られる色素産生菌のコロニー



520P1株



1020R株

研究内容

* 培養条件の検討

- ・菌の増殖と色素産生について調べる
最適な培地の選択
培養温度の確定

* 赤色色素産生細菌1020Rの同定

- ・生化学的同定
- ・16S rRNAの遺伝子塩基配列に基づく同定

培養条件の検討

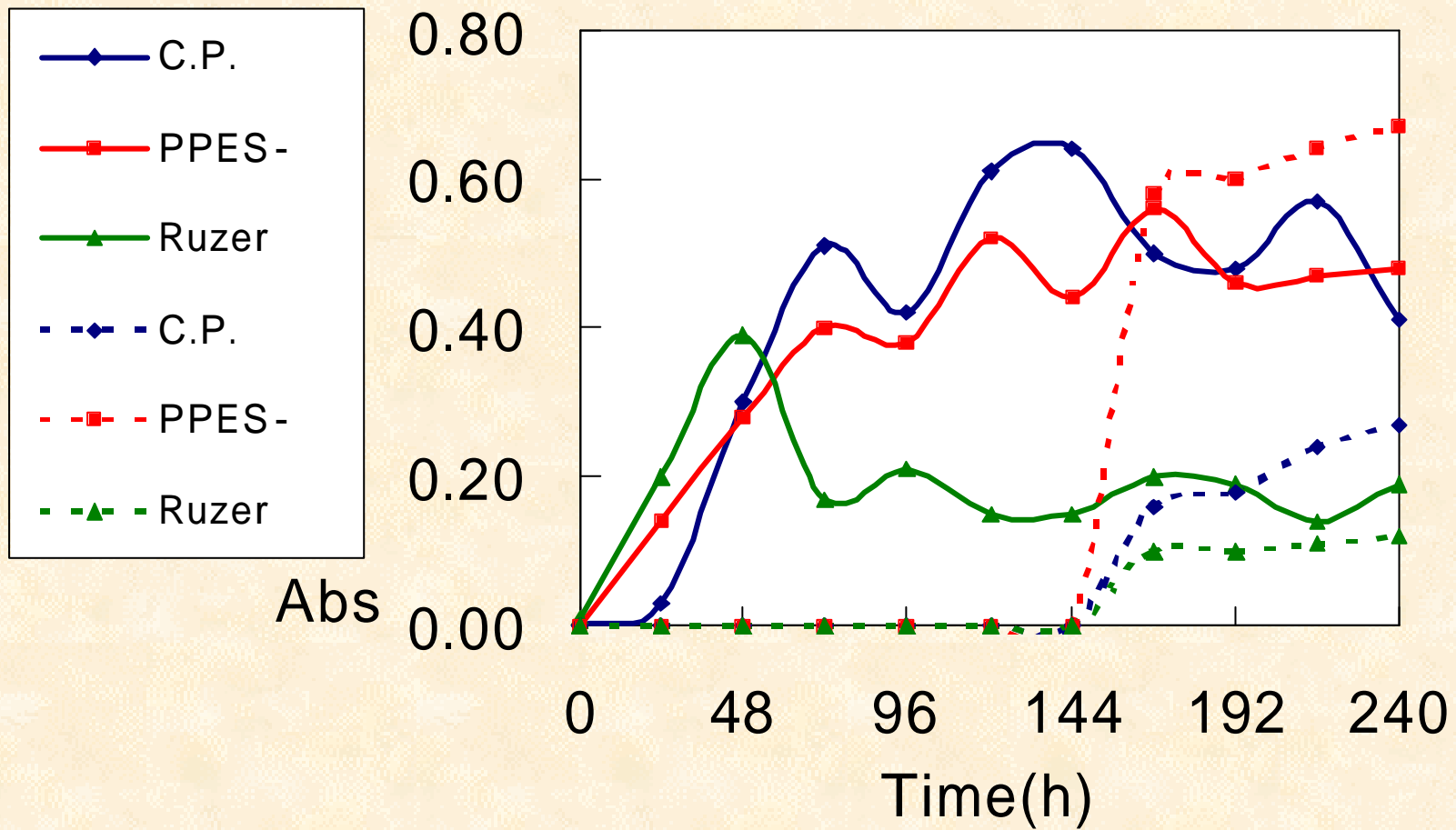
* **培地の選択** 8種類の培地を作製

* **培養温度の検討** 5 ~ 40 に設定

・菌体増殖 培養培地の濁度
・色素産生 粗製色素の吸光度

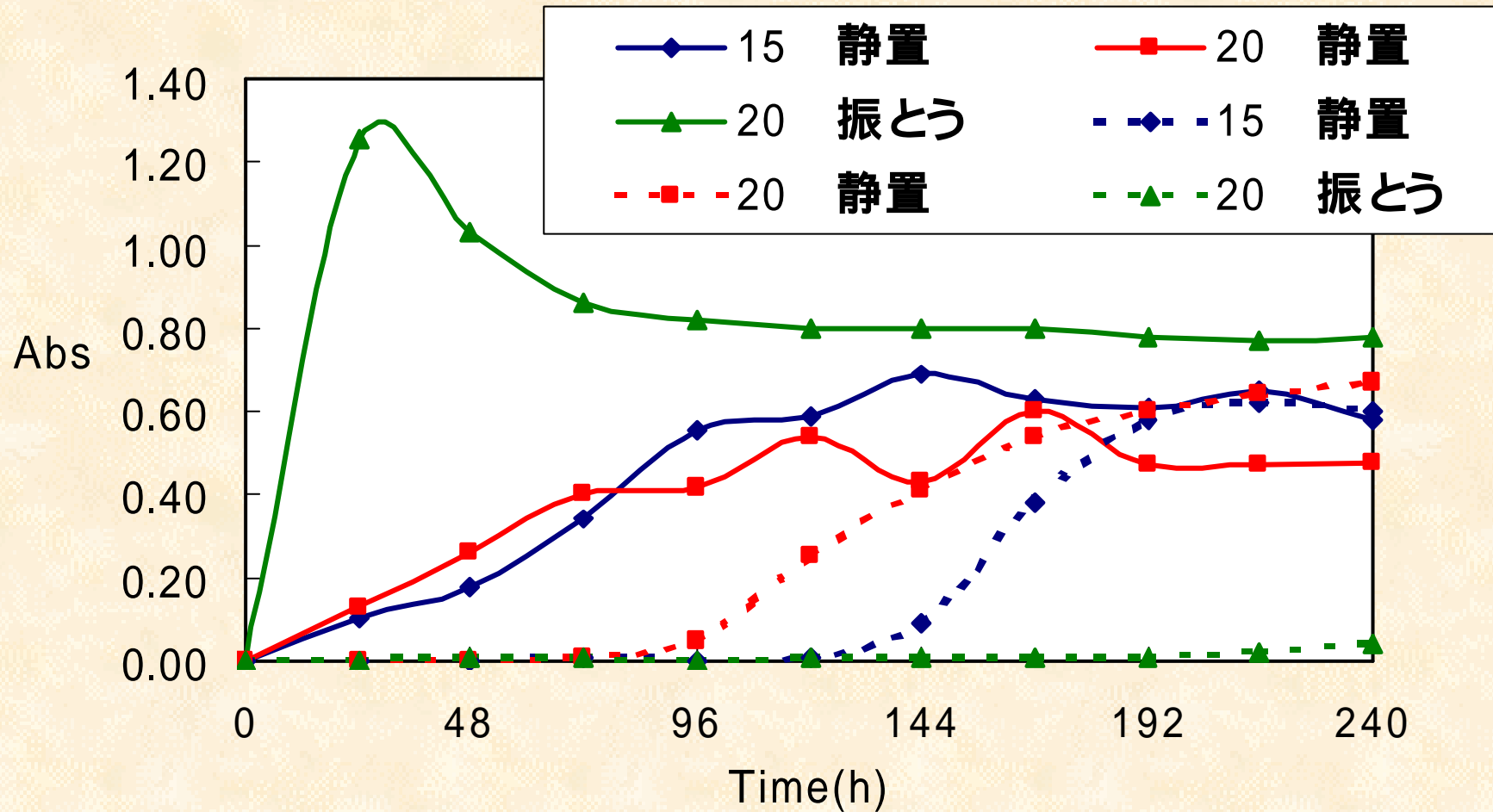
520P1 培養結果

520P1 培地別濁度と色素産生



520P1 培養結果

520P1 の温度別濁度変化と色素産生

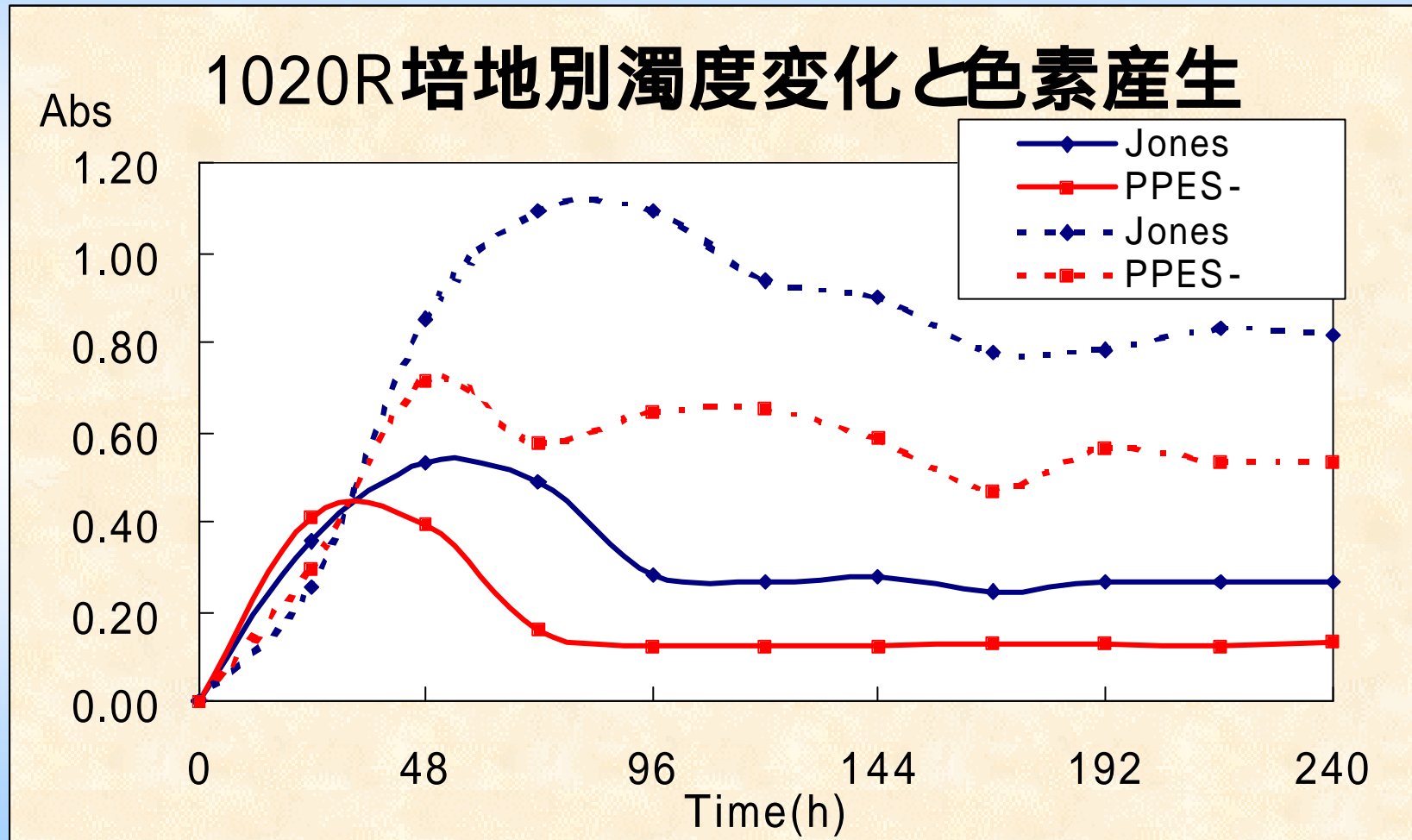


520P1 培養条件の検討結果

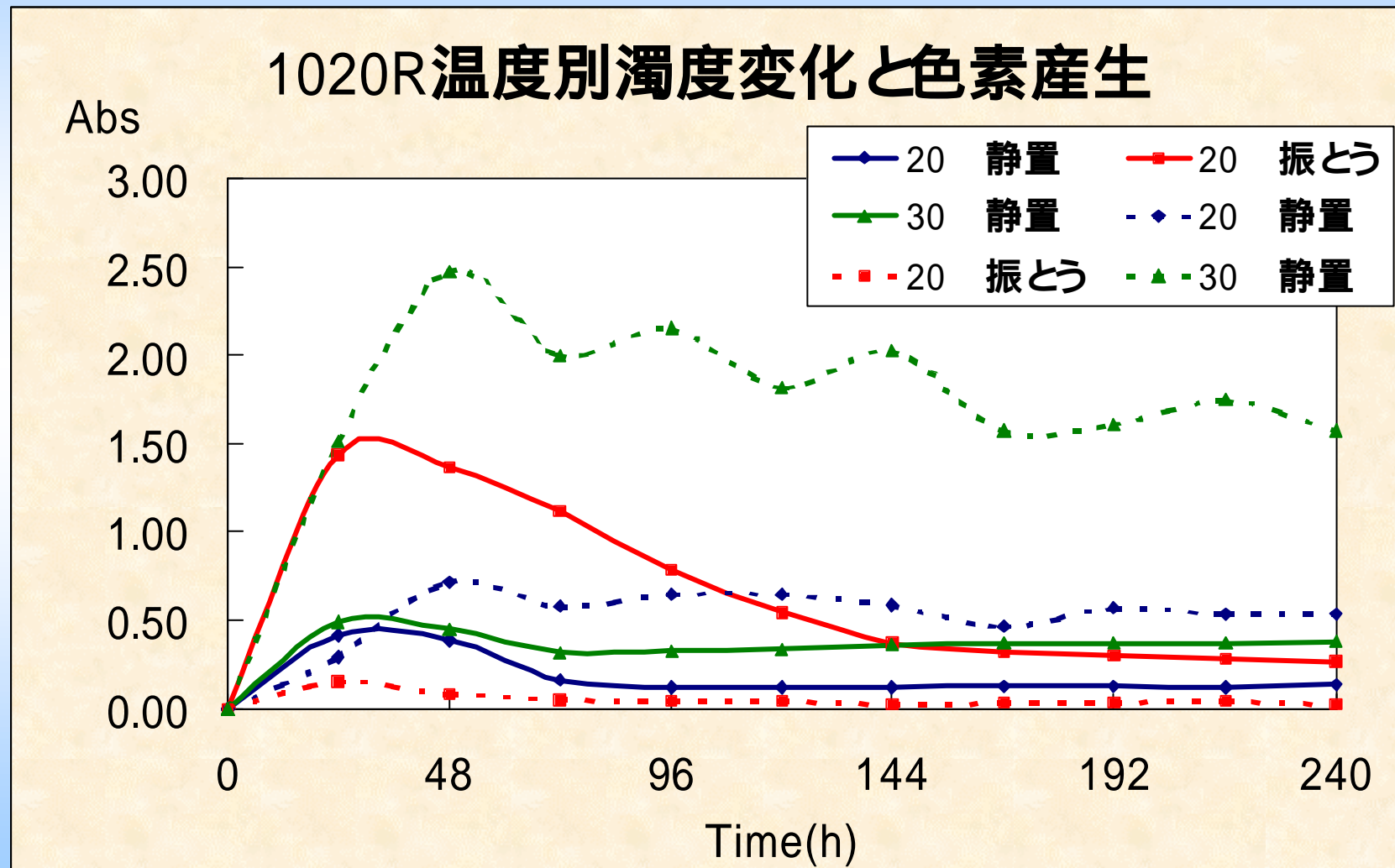
520P1の最適培養条件

目的	培養温度()	培養方法	培地
菌体増殖	15 ~ 20	振とう	PPES-
色素産生	15 ~ 20	静置	PPES-

1020R培養結果



1020培養結果



1020R培養条件の検討結果

1020R最適培養条件

目的	培養温度()	培養方法	培地
菌体増殖	30 ~ 35	振とう	Jones
色素産生	30 ~ 35	静置	Jones

色素の検討

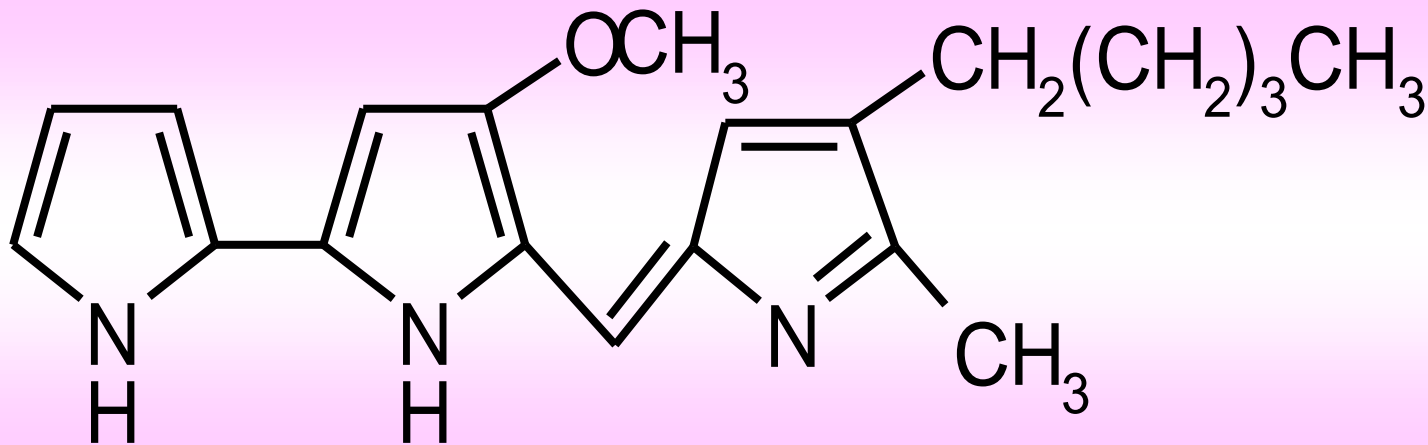
1020R株抽出色素の
可視・紫外吸収スペクトルを測定

文献よりルウエーのフィヨルドで採取された
Pseudoalteromonas denitrificans という種が
産生する *prodigiosin* と非常に似ている

東大から *P.denitrificans* 株を分株
培養・色素抽出し、スペクトルを測定・比較

~ prodigiosin ~

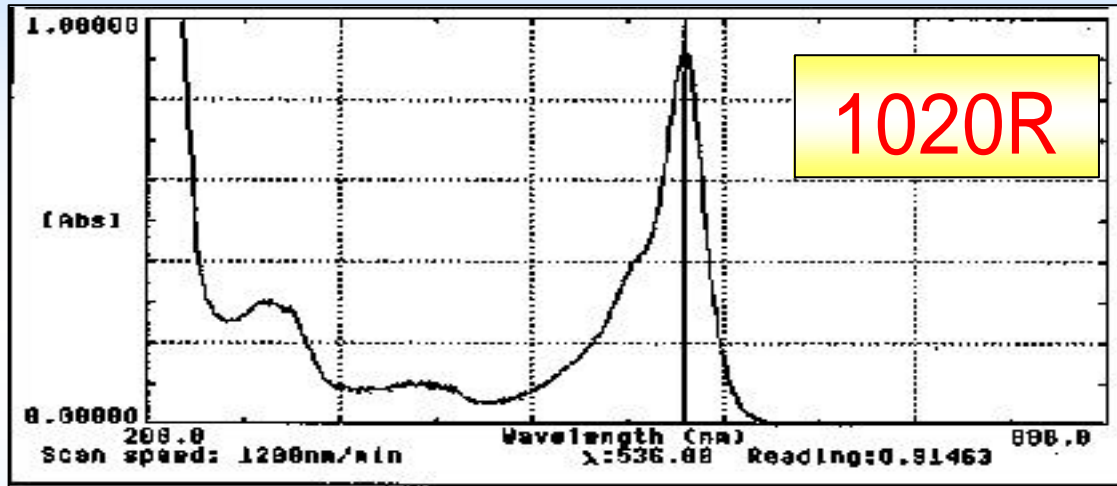
- **prodigiosin** は抗菌、抗マラリア、免疫抑制活性などを示し、特に免疫抑制剤への利用が期待されている物質である。



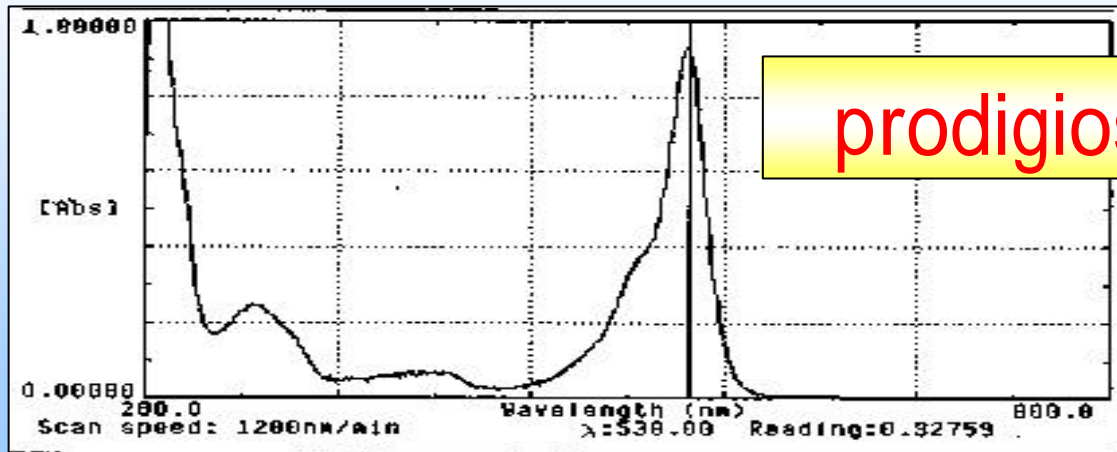
Prodigiosinの構造

スペクトル比較結果

～ 1020R産生色素とprodigiosinの吸収スペクトル～

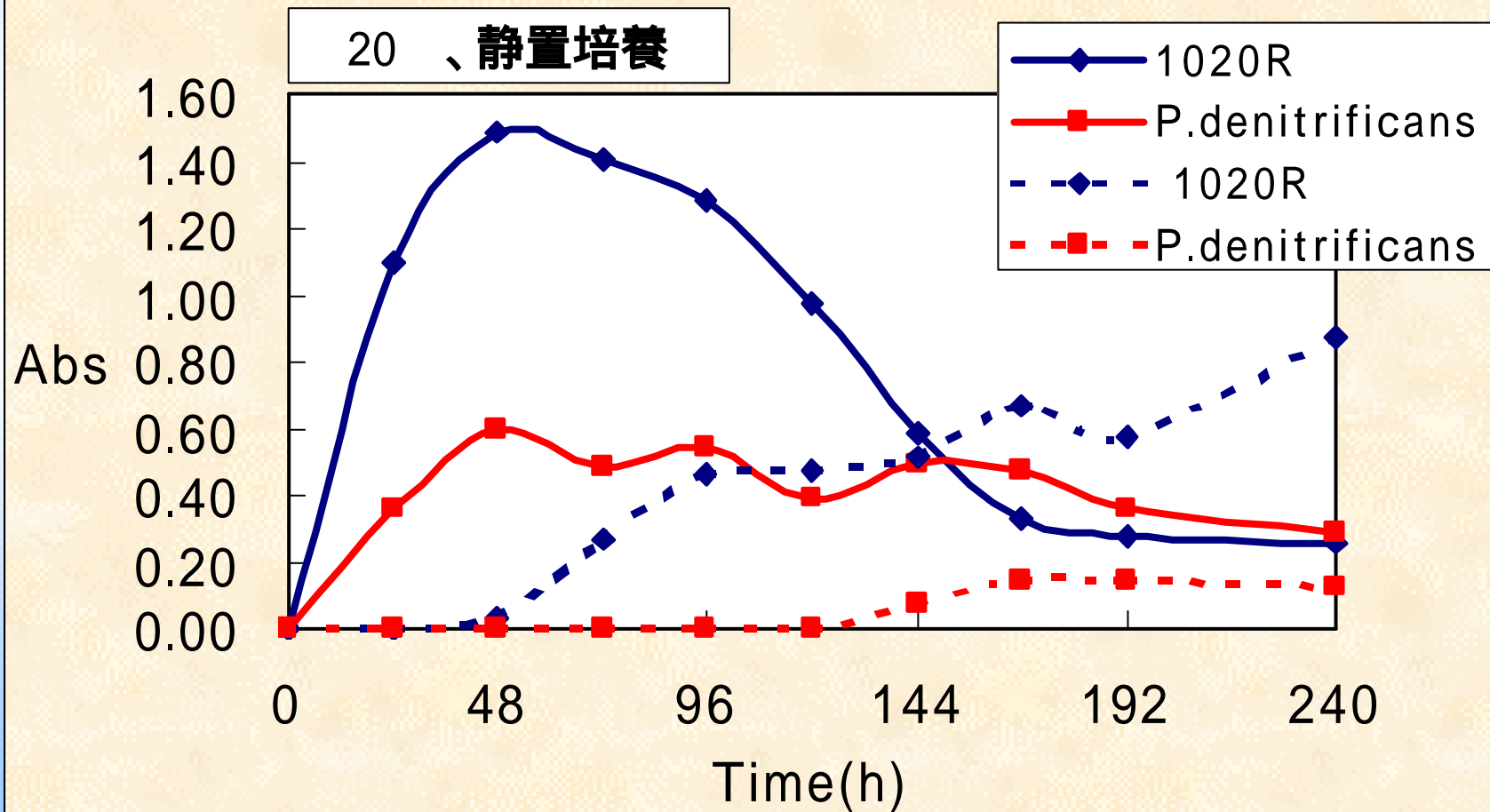


両者は非常によく似た紫外・可視吸収スペクトル(200nm～800nm)を示した。



比較培養結果

1020R と P.denitrificans



比較培養結果

	培養溫度()						
	4	15	20	25	30	37	40
1020R	-	+	+	+	+	+	+
P.denitrificans	+	+	+	-	-	-	-

色素検討の結果

色素の吸収スペクトルが非常によく似ている

同じ色素の可能性？

両者を培養

1020Rと *P.denitrificans* は異なる種

1020Rを優れた色素産生菌として有効利用できる可能性

色素の構造決定、1020Rの同定が必要

1020Rの同定

* 生化学的同定

- 1) グラム染色法を用いた菌体細胞膜の構造による分類
- 2) OF試験による(糖分解形式による)分類
- 3) 運動性の有無による分類

* 16S rRNAの遺伝子の塩基配列に基づく同定

菌体よりDNAの抽出

目的箇所(16S rRNA遺伝子)をPCRで増幅

Dye terminator法によりDNAの塩基配列を決定

データバンクで他種の塩基配列と比較

1020Rの同定の現状

- 現在のところ16S rRNA遺伝子の塩基配列を決定するまでには至っていない。

まとめ

- 1020Rはこれまでの培養環境の変更が必要
- 1020Rは優れたprodigiosin産生菌の可能性
- 1020Rの同定及び産生色素の構造決定が必要