



Effects of low-shear modeled microgravity on a microbial community filtered through a 0.2- μm filter and its potential application in screening for novel microorganisms

模擬微小重力培養が孔径 0.2- μm のフィルターで濾過した微生物叢に及ぼす影響の解析と新規微生物スクリーニングへの応用

(JBB, Vol. 114, No. 1, 73–79, 2012)

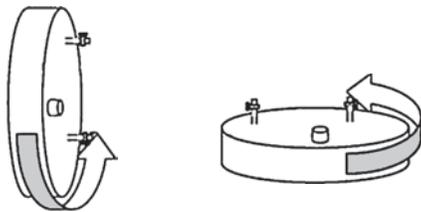
青柳 秀紀*・黒田 晶葉

約100年前にLouis PasteurやRobert Kochらにより確立された微生物培養法により、これまで数多くの有用微生物が自然界から単離、獲得、利用され、微生物関連産業は大きく発展した。しかしながら、近年、従来の培養法により単離培養できる微生物は自然界に存在する微生物の1%以下であることが示唆され、新たな培養法の開発が求められている。自然界には未利用な未培養微生物資源が数多く(99%)残されており、今後、その活用は、微生物関連産業界にとっても重要な課題の一つである。この現状を踏まえ我々は、新たな培養法として模擬微小重力(Low-shear modeled microgravity: LSMM)培養に注目した。LSMM状態を簡便に再現できるHigh-Aspect-ratio Rotating wall Vessel bioreactor (HARV)はNASA (USA) で開発された¹⁾。HARVは、円形のVessel (培養器)を水平軸で回転させることで重力を分散させ、細胞を培養液に浮遊させることでLSMM培養が、Vesselを垂直軸で回転させることで通常重力(NG)培養ができる(図1)。HARVは培地成分などの物質の優れた拡散と低せん断力環境を特徴としており、宇宙空間における微生物の表現型や増殖の変化や、せん断力が微生物に与える影響評価のモデルとして使用されている¹⁾。また、再生医療分野でも注目され、骨や腎臓の培養が行われている^{2,3)}。これまで、LSMM培養が微生物の生理活性にさまざまな影響を及ぼすことが報告されているが¹⁾、(a) LSMM培養に対する微生物の感受性の違い、(b) LSMM培養が単一の微生物ではなく、微生物叢にどの

ような影響を与えるのか?、(c) LSMM培養の新規微生物スクリーニングへの活用、などに関する研究は国内外で皆無であった。

実際に、種々の環境サンプルを用い、HARVを用いてLSMM培養を行ったところ、培養に伴いVesselのガス交換が生じ、Vessel内の水分が蒸発し、気泡が発生し、12 h以上のLSMM培養は困難であった。そこで、適切な湿度制御により、Vessel内の培養液蒸発と気泡発生を防ぎ、長期間のLSMM培養を実現した。モデルとして、筑波大学構内の池の水を孔径0.2- μm のfilterで濾過したサンプル(UltramicrobacteriaやViable but not culturable状態の微生物を含む)を用い、LSMM培養した結果、NG培養と比較して微生物叢の増殖や基質消費が顕著に促進されるとともに、最終菌体濃度も増大し、LSMM培養に特異的な現象が見られた。また、LSMM培養に対する微生物の応答性に違いが認められ、①LSMM培養で特異的に増殖(あるいは増殖促進)する微生物、②LSMM培養で増殖が抑制(あるいは阻害)される微生物、③LSMM培養の影響を受けにくい微生物、の存在が示唆された。特異的に増殖した微生物の中にはこれまで未培養のものがあったが、意外なことに、一部はコロニー化することができた。この現象のメカニズムについては、現在検討中である。LSMM培養を行った後、寒天平板培地を用いて培養を行い、得られた微生物叢の遺伝子解析を行った結果、複数の未培養微生物が培養できることが示され、LSMM培養により、従来のNG培養とは異なる微生物が獲得できる可能性が得られた。

今後、LSMM培養を有効活用することで、新規有用微生物を獲得し、微生物関連産業の活性化に貢献することが期待される。



模擬微小重力(LSMM)培養

通常重力(NG)培養

図1. LSMM培養とNG培養のVesselの回転方向の概念図

- 1) Rosenzweig, J. A. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **85**, 885 (2010).
- 2) Qiu, Q. *et al.*: *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Animal.*, **37**, 157 (2001).
- 3) Botchwey, E. A. *et al.*: *J. Biomed. Mater. Res.*, **55**, 242 (2001).

* 著者紹介 筑波大学生命環境系(教授) E-mail: aoyagi.hideki.ge@u.tsukuba.ac.jp