

9 細菌によるバイオフィーム形成阻害・分解因子に関する研究

今井岳志

1 目的

B. subtilis の野生株が個体培地上に形成するコロニーは通常、疎水性表面を持ったバイオフィームを含んでいる。これまでの研究から、切断型ヘモグロビン YjbI (trHbO) をコードする遺伝子 *yjbI* を破壊した場合に、バイオフィームを構成する因子の一つである TasA が不可逆に重合し、バイオフィーム形成に異常が生じることを見出した。

trHbO は *Bacillus* 属以外にもグラム陽性細菌や植物を中心に幅広く分布しているが、その生理的な役割は不明で、ヘムが持つ種々の分子との結合能から、これら分子の運搬・貯蔵あるいは何らかの酸化還元反応に携わっている可能性が推測されていた¹⁾。我々は、*yjbI* 破壊株でみられた TasA のアグリゲーションが、酸化重合反応によるものではないかと考え、trHbO の機能解明を試みた。

2 実験方法

2.1 過酸化タンパク質および反応液の調製

タンパク質の不可逆なアグリゲーション形成の原因の一つとして、タンパク質のアミノ酸残基が過酸化した、過酸化タンパク質の形成が知られている。そこで、ウシ血清アルブミン (BSA) をフェントン反応あるいは AAPH によって過酸化し、過酸化 BSA (BSA-OOH) を作製した。この BSA-OOH を精製した YjbI とインキュベーションし、アグリゲーション形成への影響を SDS-PAGE および銀染色にて確認した。

2.2 酸化剤耐性への影響評価

yjbI などの遺伝子破壊株を AAPH 存在下で培養し、酸化剤への影響を評価した。また、AAPH と同様にタンパク質を過酸化することが報告されている次亜塩素酸を用いて、破壊株における最小殺菌濃度を算出した。

3 結果と考察

3.1 YjbI によるアグリゲーションの抑制

不安定な BSA-OOH は次第に失われ、連鎖反応を介して経時的にラジカル重合やマイケル付加反応を蓄積し、多量体を形成する。しかし、YjbI を添加することで、これらの反応が抑制されることを見出した (図 1)。

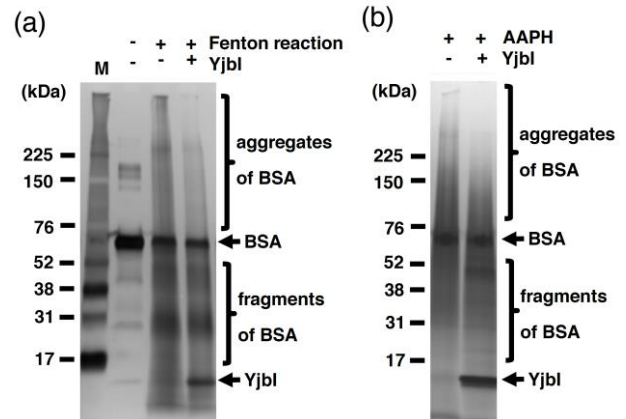


図 1 フェントン反応(a)および AAPH(b)処理後の BSA 酸化重合と YjbI による抑制

3.2 酸化剤耐性への影響

yjbI 破壊株では、AAPH による生育抑制が、野生株と比較してより顕著にみられた。また、*yjbI* 破壊株では次亜塩素酸の感受性が著しく上昇しており (表 1)、野生株と比較して約 100 倍差がみられた。

表 1 次亜塩素酸の最小殺菌濃度試験結果

| HClO (mM) | 62.5 | 31.3 | 15.6 | 5.00 | 2.50 | 1.25 | 0.625 | 0.313 | 0.156 |
|--------------------------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|
| WT | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>yjbI</i> ⁻ | - | - | - | - | - | - | - | + | + |

(+) visible growth, (-) no visible growth

4 結論

YjbI が過酸化タンパク質を還元することで酸化重合を抑制するという、ユニークな働きを持つことが示された。また、この働きにより TasA などの膜タンパク質の酸化変性を防ぎ、バイオフィームの恒常性維持に寄与している可能性が示唆された。これらの成果や省略した関連データの詳細は論文として、現在プレプリントサーバーにて公開している²⁾。

参考文献

- 1) H. Ouellet, K. Rangelova, M. Labarre, J. Witteberg, B. Wittenberg, R. Magliozzo and M. Guertin, *J. Biol. Chem.*, **282**, 10(2007)
- 2) <https://doi.org/10.1101/2021.05.28.446166>
(問合せ先 今井岳志)