

サルモネラの加熱損傷からの回復における分岐鎖アミノ酸の機能

九州大学大学院農学研究院・教授 宮本 敬久

■ 目 的

食品加工において加熱処理は最も基本的な殺菌方法である。しかし細菌の周囲に保護物質などがあると加熱処理後、細菌が死滅せず回復可能な損傷状態に陥る可能性がある。損傷状態にある細菌は細胞の構造や代謝機能に障害があるが、栄養豊富な環境では損傷から回復して生育することがある。したがって食品の細菌検査において、損傷菌の回復が不十分な場合には生菌数を過小評価することになる。これら検出されなかった損傷菌は食品の貯蔵や流通過程で回復、増殖し、腐敗や食中毒の原因となる可能性がある。これまでに細菌の加熱損傷からの回復の機構を解明するため、*Salmonella* Typhimurium について加熱損傷回復時の遺伝子発現について DNA マイクロアレイを用いて調べた結果、回復中に転写量が増加する遺伝子を見出した。本研究ではこれら遺伝子の転写量の変化を real-time RT-PCR により検証し、分岐鎖アミノ酸の回復促進効果について検討した。

■ 方 法

S. Typhimurium の野生株の加熱損傷からの回復中に転写量の増加した遺伝子を増幅するためのプライマーセットを作成し、加熱損傷からの回復時における転写量を real-time RT-PCR により測定した。

分岐鎖アミノ酸輸送系遺伝子の転写量が損傷回復時に増加したことから、分岐鎖アミノ酸を添加した培地で損傷菌を培養し、回復に対する効果を調べた。

■ 結果および考察

まず、*S. Typhimurium* 野生株で加熱損傷回復時に転写量が2倍以上増加した遺伝子の転写量を real-time RT-PCR により測定した結果、シグマ因子遺伝子(*rpoE*, *rpoH*, *rseA*, *rseB*, *rseC*)、ファージショックタンパク質(Psp)反応関連遺伝子群(*pspA*, *pspB*, *pspC*, *pspD*, *pspE*, *pspF*, *pspG*)、分岐鎖アミノ酸(BCAA)輸送関連遺伝子群(*livF*, *livG*, *livH*, *livJ*, *livK*, *livM*)、各種金属イオンの恒常性に関わる遺伝子(*cutC*, *mntH*, *znuA*, *znuB*, *znuC*)、細胞外皮合成(*smpA*)、病原性{*Salmonella* Pathogenicity Island 2の遺伝子(*ssaG*, *sasH*, *sseB*)}、ArcBシグナル伝達(*sixA*)、インテグラーゼ様タンパク質(*stm2636*)、推定タンパク質(*cdaR*, *stm0212*)の試験した全ての遺伝子において回復中に転写量に有意な増加が認められた。さらに、*S. Typhimurium* 野生株を 55℃、15 分間加熱処理した後、回復培養液中に 1mM、10mM、50mM 分岐鎖アミノ酸等量混合物を添加して回復培養を行ない、回復中の DHL 寒天上のコロニー数を比較した結果、回復3時間目において 10mM 分岐鎖アミノ酸添加により有意な増加(回復の促進)が確認された。

■ 結 語

Salmonella Typhimurium の加熱損傷からの回復において 10mM 分岐鎖アミノ酸混合物の添加により有意な加熱損傷回復の促進効果が確認された。今後さらに、Psp 反応の損傷回復における役割、各種金属イオンの回復促進効果についても検討することでさらに効果的な損傷サルモネラの回復促進法が構築できると期待される。