
ストレス環境下における損傷菌の発生メカニズムの解明と検出法

東北大学農学研究科動物微生物学分野・教授 磯貝 恵美子

■ 目的

多くの細菌は化学的や物理的な様々な環境ストレスにより、生きてはいるが培養できない状態である VNC (Viable but Non-Culturable) に移行することが知られている。VNC について明らかになっている情報は少なく、VNC 状態の未知な部分を明らかにしていくことは衛生管理上においても重要である。そこで、サルモネラの VNC 状態を判別することができるマーカーを検討することを研究目的とし、その第 1 歩としてサルモネラの外膜タンパク質である PagC に着目した。PagC はマクロファージ内での増殖抑制に関与しているとされるタンパク質であり、エンベロップストレスを解消するための MV (Membrane Vesicle) の主要な構成成分であると報告されている。本研究では、PagC の VNC を判別マーカーとしての有用性を検討した。

■ 方法

使用した菌は、サルモネラ属菌である *Salmonella* Enteritidis (SE) の zSE1 株と *Salmonella* Typhimurium (ST) の st1wt 株を使用し、3mM H₂O₂ を含む TSB 培地で培養することで VNC 状態へ誘導を行った。また、VNC へ誘導した菌が「生菌」であることを確認するため、Viability 染色を行った。移行後、透過型顕微鏡 (TEM) 下で MV 産生が促進されているか調べた。VNC 状態へ移行したサルモネラと正常なサルモネラにおける外膜タンパク質 PagC の発現量の差をウェスタンブロッティングにより比較した。

■ 結果および考察

3mM H₂O₂ とともに培養することにより、約 2 時間でコロニーが形成されなくなり、Viability 染色の結果、ほぼ全ての菌体が「生菌」であることを確認した。よって VNC 状態へ移行したと考えられた。TEM による VNC 菌体観察では菌体の周囲に泡状の小胞が多数存在しており、H₂O₂ 曝露により、MV 形成を促進していることが示唆された。VNC へ移行した直後と正常なサルモネラを比較したところ、SE、ST どちらも PagC の発現には大きな差は見られなかった。しかし ST においては培養 24 時間において顕著に PagC の発現量が増加していた。SE において培養を継続して同様に発現量を比較した結果、VNC 導入 7 日目において VNC 誘導直後と比較して時間依存的に発現量が増加していた。本実験において、H₂O₂ 曝露により VNC 状態へ移行したサルモネラ 2 種は、PagC の発現が増加することが明らかとなり、PagC は VNC 菌を判別するマーカーとして有用であることが示唆された。しかしそれと同時に、同じサルモネラにも関わらずその発現には差があることも明らかとなった。ST においてその有用性はより高いものであると考えられる。

サルモネラの外膜タンパク質である PagC は Mg²⁺ 飢餓や低 pH といった環境中のストレス因子に応答する PhoPQ2 成分制御系によって正に制御されている。PagC はエンベロップストレスを解消するための MV (Membrane Vesicle) の主要な構成成分であると報告されている。サルモネラが VNC 状態へ移行するとき、MV 産生が促進され、外膜タンパク質 PagC の発現量が増加すると考えられた。

■ 結語

サルモネラは VNC 状態へ移行するようなストレスを負荷されたとき、ストレスを緩和するために MV 産生を促進し、外膜タンパク質 PagC の発現量を増加させたと考えられる。PagC は VNC を判別マーカーのひとつとして有用であることが示唆された。