耐性化サルモネラの制御に有効な鶏卵成分分解物の検索

九州大学大学院農学研究院生命機能科学部門 · 教授 宮本 敬久

■ 目的

サルモネラは環境ストレス耐性が高く、様々な環境ストレス下で損傷するが完全には死滅せず、 損傷を回復して人や動物に健康被害を引き起こす。さらに細菌細胞集団の中にはトキシン-アンチ トキシンシステムを発現して極端に代謝能の低下した集団が存在し、種々のストレスに暴露された 後でも耐性化生残菌(一般に persister と呼ばれる)として生き残ることが示されている。さらに食 品中に生残するサルモネラの多剤耐性化やバイオフィルム形成も大きな問題である。本研究では、 Salmonella Typhimurium において、persister 集団を死滅に導く Lon や ClpP ならびにアンチトキシン の発現を誘導する物質を卵の成分やその酵素分解物を含む天然由来物質から見いだすことを目的とす る。

■ 方法

試験物質で S. Typhimurium を 1 時間処理し、処理菌体から RNA を調製し、逆転写して得られた cDNA を用いて Lon や ClpP の菌体内プロテアーゼをコードする遺伝子転写量をリアルタイム qPCR により調べ、菌体内プロテアーゼの産生を促進すると期待される成分の同定を行う。

また、試験物質存在下で、72h 培養してバイオフィルム形成を調べ、バイオフィルム形成阻害する成分の同定を行う。

■結果および考察

試験した物質の中で、グリシン、スレオニン、ファニルアラニン、トリプトファン、プロリン、グルタミン、リジン、0.01%卵白ペプタイド EP-1、0.1%EGCg および0.1%EGCg-EP-1 で 1 時間処理した場合、clpP 遺伝子転写量が顕著に増加した。また、グリシン、フェニルアラニン、トリプトファン、プロリン、グルタミン、アスパラギン酸、リジン、0.01%明白ペプタイド EP-1、0.1%EGCg および0.1%EGCg-EP-1 処理により lon 遺伝子転写量が顕著に増加した。S. Typhimurium のバイオフィルム形成に対するアミノ酸の影響を調べた結果、低濃度ではバイオフィルム形成が促進され、高濃度では逆に抑制される傾向であった。10mM のシステイン、ファニルアラニン、アスパラギン、グルタミンおよびリジン、また、トリプトファンの代謝生成物であるインドールは1mM の添加によりバイオフィルム形成が抑制された。0.01%明白ペプチド製剤にもS. Typhimurium のバイオフィルム形成を抑制する効果が認められた。

■ 結 語

0.01%卵白ペプタイド EP-1 については、今後、溶媒抽出、各種クロマトグラフィーなどにより得られた画分について菌体内プロテアーゼ遺伝子発現に対する影響を調べる計画である。また、菌体内プロテアーゼ遺伝子の転写を促進したアミノ酸およびペプチド製剤の分画画分については、抗生物質耐性を示す persister 細胞集団に対する抗生物質との併用効果を調べる予定である。さらに、アミノ酸、ペプチド、EGCg の persister 細胞集団における耐性化を抑制する分子機構の解明を行うことにより、より効果的な耐性菌対策が得られる可能性が期待される。