

P-147

ポスター発表

細胞と細胞外膜小胞における相互作用の解析

○田代 陽介、市川 創作、中島 敏明、内山 裕夫、野村 暢彦

筑波大院生命環境

Key words : membrane vesicles, zeta potential, quorum sensing, *Pseudomonas aeruginosa*

【目的】多くのグラム陰性菌は外膜で構成された直径 20~200 nm の細胞外ベシクル(Membrane vesicles: MV)を分泌することが知られている。環境常在菌である緑膿菌の MV には細胞溶解作用がある他、自身が生産する Quorum sensing (QS)物質の一つである *Pseudomonas*quinolone signal (PQS)のキャリアーとしての機能を有することから、微生物間の捕食-被食関係や同種間のシグナル伝達に重要な役割がある。しかし、MV と細胞の相互作用に関する詳細なメカニズムはわかっていない。本研究では蛍光ラベルした MV を用いることにより細胞に融合する機構を解析した。【方法】純粋液体培養した緑膿菌の培養上清をフィルター滅菌した後、超遠心により粗 MV を回収した。その後 Optiprep による密度勾配遠心を行い、MV を精製した。Fluorescein-4-isothiocyanate(FITC)ラベルした MV を細胞と反応させ、細胞における蛍光強度を測定することで MV の細胞融合率を測定した。【結果】定常期に生産される MV は、対数増殖期に生産される MV に比べ PQS 含量が多く、表層も負電荷を帯びていた。さらに、細胞への融合能が高いことが示された。【考察】PQS は隣接したりポ多糖同士の静電的反発力を強めることにより MV 生産を誘発すると考えられている。負荷電に帯電した MV は、カチオンが多量に存在する細胞表層に静電的作用により吸着し細胞に融合しているのかもしれない。

tashiroy@sakura.cc.tsukuba.ac.jp

P-148

ポスター発表

一酸化窒素が緑膿菌の微生物間コミュニケーションに与える影響

○豊福 雅典、中島 敏明、内山 裕夫、野村 暢彦

筑波大院生命環境

Key words : Cell-to-cell communication

一酸化窒素は動・植物においてシグナルとして働き、様々な生理作用をもたらすことが知られている。細菌においても近年に入り、一酸化窒素合成酵素が発見されるなど一酸化窒素の役割が注目を浴びているが、一酸化窒素が細菌に及ぼす影響は不明な点が多い。そこで、本研究では緑膿菌をモデルに一酸化窒素が細胞に及ぼす影響を調べることにした。その結果、色素の一種であるピオシアニンの生産が一酸化窒素によって顕著に抑制されることが示された。このピオシアニンの生産は細胞間コミュニケーションによって調節されていることが明らかとなっているため、次に一酸化窒素が細胞間コミュニケーションに与える影響を解析した。その結果、*Pseudomonas*quinolone signal (PQS)の生産が一酸化窒素によって影響されることが明らかとなった。興味深いことに、合成 PQS を培地に加えた場合、さらに一酸化窒素発生剤を培地に加えると PQS の量が減少することが明らかとなった。同様の現象は植菌していない培地では見られなかった。これらの結果は緑膿菌が一酸化窒素を感知することによって PQS を分解、あるいは他の化合物に変換していることを示しており、微生物間コミュニケーションが他のシグナルによってどのように制御されているのか解明する手がかりとなる。さらには、一酸化窒素を生産する細菌群、あるいは宿主と緑膿菌の相互作用を解明する上で興味深い知見をもたらすことが期待される。

toyofuku@sakura.cc.tsukuba.ac.jp