

P26-13

Lactobacillus plantarumにおけるバイオフィーム形成に関与する表層タンパク質の解析

○小山 二花¹、柿原 健佑¹、尾花 望²、久保田 浩美³、清川 達則¹、河嶋 伊都子¹、八城 勢造³、湯井 幸治³、野村 暢彦^{1,2}

¹筑波大院・生命環境、²筑波大・生命環境、³花王・安全性科学研

乳酸菌は、有益菌として知られている一方、食品危害菌としても認知されている。危害菌としての乳酸菌は主に原料や食品中で、バイオフィーム(BF)形態をとり、様々なストレスに対しての耐性能を獲得していると考えられる。そこで乳酸菌BFの新たな制御法を見据えて、乳酸菌BFに影響を与える因子の探索、そのメカニズムの解明を目的とした。本研究では*Lactobacillus*属における菌体表層タンパク質に着目し、BF形成及びBF構造との関係性を解析した。先行研究より、*L. plantarum* の表層タンパク質は高pHで処理すると、遊離することが明らかとなっている。そこでpH処理を用いて、BFの表層タンパク質を除去し、共焦点レーザー顕微鏡でBFの構造を解析した結果、BF構造が破壊された。質量分析法を用いて*L. plantarum* の表層タンパク質を解析したところ、主要タンパク質としてglyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH)を同定した。そこで、抗GAPDH抗体を作成し、表層に存在するGAPDHとBFとの関連を解析した。抗GAPDH抗体を培養液中に添加し、培養した結果、菌の増殖が抑制されており、BF中に含まれる菌体量が減少していた。また、抗GAPDH抗体添加した際のBFの構造を共焦点レーザー顕微鏡によって解析した結果、BF培養初期においてBFの厚み及びBF中の菌密度が低下した。以上の結果より*L. plantarum* において、抗GAPDH抗体の添加はBF形成を抑制すると考えられ、主要な表層タンパク質であるGAPDHはBF形成に関与していることが示唆された。

P26-14

Lactobacillus plantarumにおけるコロニー形態の多様性とバイオフィーム形成の関連

○河嶋 伊都子¹、柿原 健佑¹、尾花 望¹、久保田 浩美²、清川 達則¹、小山 二花¹、八城 勢造²、湯井 幸治²、野村 暢彦¹

¹筑波大院・生命環境、²花王・安全性科学研

実環境中の微生物の多くはバイオフィーム (BF) を形成して生息している。BF形成により微生物が抗生物質や酸に対する高い抵抗性を獲得することや、実験室株よりも環境単離株のBF形成能が高いことが報告されている。一方、BF形成菌の一つである乳酸菌は食品製造に利用される有用菌、及び危害菌として知られ、その基礎的知見や制御法の発見が求められている。しかし、本菌の環境分離株におけるBF形成やその性質の知見は極めて少ない。そこで本研究では*Lactobacillus plantarum* の環境分離株におけるコロニー形態の多様性に着目し、BFの構造及び性質との関連を解析した。環境単離株は実験室株とは異なり、黄と赤の2種のコロニーを形成し、一方のコロニーを単離培養すると他方の色のコロニーが再び出現することが明らかとなった。黄コロニーの菌体は基質への付着量が多く、均一で密なBFを形成した一方で、赤コロニーの菌体では付着量は少なく非常に疎なBFを形成した。また後者は前者と比べ、多量の細胞外マトリクスを保有した厚い構造をしておりDNaseIやProteinase Kの影響を受けにくかった。さらに、複数の環境単離株を用いた解析の結果、各々の株間では2種のコロニーの出現率も大きく異なり、その出現比率に応じてBF構造にも差異が見られた。以上の結果より*L. plantarum* のコロニー形態とBF形態及びその性状には関連性があることが示唆された。本研究によって、実環境中の*L. plantarum* はコロニー形態に多様性を有し、それに伴ってBF形態を制御することで環境応答している可能性が示された。