

生体における微粒子の機能と制御  
2019 年度採択研究者

2020 年度 年次報告書
------------------

田代 陽介

静岡大学 学術院工学領域  
講師

細菌集合体における膜小胞分泌の分子機構解明

## § 1. 研究成果の概要

病原細菌はバイオフィルム(微生物とその分泌物から構成される構造体)を形成して上皮細胞に固着することが知られている。細菌が単独で生息する浮遊状態とは異なり、バイオフィルムは個々の細胞の表現型が多様な細菌集合体であり、まるで多細胞生物のような機能を有している。膜小胞はバイオフィルム状態で多量に形成されることが知られているが、膜小胞の形成機構やその宿主細胞への病原性はこれまで扱いやすい浮遊細菌の膜小胞が研究対象となっていた。本研究では、細菌の宿主感染状態であるバイオフィルムにおける膜小胞形成誘発の分子機構解明を目的とした。

緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 株の浮遊状態とバイオフィルム状態で形成される膜小胞の形状観察ならびにサイズの解析を行ったところ、顕著な変化は見られなかった。一方、膜小胞のプロテオーム解析を実施したところ、両培養条件で放出される膜小胞のタンパク質組成に大きな差異が見られた。そのため、バイオフィルム特有の膜小胞形成誘発メカニズムの存在が示唆された。また、バイオフィルム由来の膜小胞には DNA 含有量が著しく低く、バイオフィルム細菌の凍結割断レプリカでは外膜の撓みが確認されたことから、細胞溶菌ではなく外膜の湾曲により膜小胞形成が行われていることが示唆された。

バイオフィルム特有の膜小胞形成機構を解明するために PAO1 株を親株としたトランスポゾン変異株ライブラリーを構築し、膜小胞形成株に関与する因子の探索を行った。その結果、バイオフィルム形成に関与する因子や代謝に関わる因子が膜小胞形成に関与することが明らかとなった。さらに各因子が膜小胞形成に与えるメカニズムを解析したところ、酸化ストレスの膜小胞形成誘発への関与が示唆された。