

6) MRSA のバイオフィルムマトリクスタンパク質の網羅的解析と時空間的動態

¹東京慈恵会医科大学・医学部・細菌学²産業技術総合研究所・バイオメディカル研究部門・構造生理研究グループ○杉本 真也¹、奥田 賢一¹、佐藤 主税²、水之江 義充¹

主要な院内感染菌である黄色ブドウ球菌は、医療器具表面等にバイオフィルム（多糖性ポリマー、DNA、タンパク質を構成成分とするマトリクスに覆われた膜状の菌塊）を形成する。バイオフィルムを形成した細菌は抗生物質や宿主免疫系に高い抵抗性を示すため、難治性の感染症を引き起こす。我々は、黄色ブドウ球菌バイオフィルム感染症の予防法・治療法の開発を見据え、①バイオフィルムマトリクス成分の網羅的解析、②バイオフィルム形成メカニズムの解明、③バイオフィルム形成阻害薬の開発など、学際的研究を展開している。本研究では、いまだ十分に理解されていない黄色ブドウ球菌のバイオフィルムマトリクスタンパク質を単離・同定し、バイオフィルム形成過程における役割や動態の変化を明らかにすることを目的とした。

まず、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）菌臨床分離株の中から、タンパク質を主成分とするバイオフィルムマトリクスを産生する株を選抜した。高濃度の塩処理により、マトリクスを抽出し、そこに含まれるタンパク質を nano LC-MS/MS により同定した。その結果、133 個のタンパク質を同定でき、その中にはバイオフィルム関連タンパク質や宿主細胞接着因子のみならず、多数の細胞質タンパク質が含まれていた。同定されたタンパク質のうち存在量の多かった分泌タンパク質 Eap (extracellular adherence protein) と生命維持に重要な細胞質分子シャペロン (DnaK, ClpB) に着目し、バイオフィルム形成との関連性を調べた。その結果、いずれも黄色ブドウ球菌のバイオフィルム形成を促進する機能を有することを見出した。さらに、間接蛍光抗体法により、Eap、DnaK、ClpB の局在を解析したところ、いずれも MRSA 表層の広範囲に分布することがわかった。これらの知見は、細胞質タンパク質の一部が細胞外に排出され、バイオフィルム形成に寄与することを示している。本講演では、大気圧走査電子顕微鏡 (ASEM) を用いた MRSA バイオフィルムの構造観察と上記のタンパク質の局在解析の結果についても紹介したい。