

## 黄色ブドウ球菌の核様体凝集

小林 葉奈 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 森川 一也 (筑波大学 医学医療系)

## 背景

ブドウ球菌属 *Staphylococcus* はグラム陽性の球菌で、枯草菌やリステリア菌と同様に Bacillales 目に属する(1)。細胞分裂面が直前の分裂面に対して垂直であるのでブドウ状の塊として観察される。ブドウ球菌属細菌の中で黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*、表皮ブドウ球菌 *S. epidermidis*、腐性ブドウ球菌 *S. saprophyticus* などが臨床に特に問題となる。中でも最も臨床的に重要な黄色ブドウ球菌は様々な病原因子を獲得しており多様な感染症の原因となる。約3割の健康なヒトの鼻腔・皮膚や、動物にも常在する日和見感染菌である。黄色ブドウ球菌の「黄色」は Staphyloxanthin などのカロテノイド色素を産生することによる。因みにカロテノイドは本菌がファゴソーム中で曝される酸化ストレスに抵抗するための病原因子の一つである。本菌は10%の食塩存在下でも増殖可能であり、鑑別には7.5%食塩が入ったマンニト食塩培地を用いるのが基本である。また乾燥にも強く乾燥表面で長期間、再増殖能を保持したまま存在することが出来る(2)。乾燥耐性は腸球菌やブドウ球菌が院内環境で手すりや汚物入れなどを介して感染を広げるのに重要な特徴である。

細菌はゲノム DNA を核様体として格納している。そこにはゲノム機能に関わる数百種類の核様体タンパク質が存在する。主要な核様体タンパク質の存在量は環境・増殖期に依存して変化することが知られ、特に Dps ファミリータンパク質(大腸菌 Dps、黄色ブドウ球菌 MrgA) は環境にตอบสนองして増加することで、核様体構造を大きく変化させる。大腸菌 Dps は定常期にかけて増加し、核様体を凝集させることでゲノムを物理的に保護する。一方で、黄色ブドウ球菌 MrgA は酸化ストレス環境で誘導され、核様体を凝集させる(3) (図1)。黄色ブドウ球菌の核様体凝集は大腸菌の場合とは異なり、凝集状態でも遺伝子発現や複製は行われており、ゲノム DNA の物理的な保護にも必要ではない(4)。その役割については現在所属研究室で、遺伝子発現への影響に着目した研究が進められている。

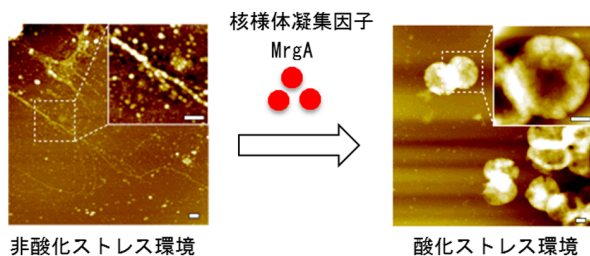


図1 黄色ブドウ球菌の核様体凝集 MrgA タンパク質は核様体タンパク質の中で量的には多いものではないが、酸化ストレスにตอบสนองして発現すると、核様体を凝集させる。図は原子間力顕微鏡像。

黄色ブドウ球菌の対数増殖期、定常期、酸化ストレス下の核様体タンパク質が網羅的に同定されている(5)。同定は、核様体画分に特異的、または量的に他の画分よりも多く存在するものを選択することで行われたもので、核様体に存在することが確からしいもののリストが報告されている (csNAPs: Contaminant subtracted nucleoid associated proteins と呼ばれる)。本菌の核

様体には、凝集、非凝集にかかわらず、リボソームタンパク質などの遺伝子発現機能や、酸化還元酵素などが多く見られるという特徴がある。しかし、機能未知のタンパク質も多く見られる。特に量的に多い機能未知タンパク質の役割を明らかにすることは、核様体凝集のメカニズムやそれによる遺伝子発現への影響などを理解するための一助となることが期待される。そこで本研究では、同定されている核様体タンパク質群のうち、1) 対数増殖期、定常期、酸化ストレス下のいずれの条件でも多く存在するタンパク質 (Smp1: Staphylococcal major nucleoid protein 1 と名付ける予定) の役割について情報を得ること、2) 核様体タンパク質群が近年真核生物で多く報告されている液-液相分離に関与する可能性があるかを *in silico* で予測すること、の2つを目的とした。

## 方法

## 1) Smp1 の酸化ストレス耐性への関与

牛島らの方法に従った(4)。培養した細胞菌を過酸化水素に暴露し、CFU(colony forming unit)を測定して耐性を調べた。

## 2) 核様体タンパク質群に天然変性領域を有するものがあるかの予測

本菌の csNAP リストのそれぞれについて、PSPredictor(<http://www.pkumdl.cn:8000/PSPredictor/>) を用いて予測した。

## 結果

- 1) 菌を過酸化水素水に暴露したときの生存率は、野生株に対して Smp1 欠損株で高かった。一方、Smp1 強制発現株では生存率が下がった。ただし、まだ実験回数が少ないので、実験を繰り返し有意差検定をすることで結果を確認する予定である。
- 2) 高スコアを示した csNAP は 対数増殖期で 2/92 (2.17%)、定常期で 9/141 (6.38%)、酸化ストレス下で 11/113 (9.73%) であった。量的に多い核様体タンパク質のほとんどは天然変性領域を持たないものであることが示唆された。

## 考察

現時点のデータからは Smp1 の有無が酸化ストレス耐性に単純に相関するわけではないことが示唆されている。Smp1 の適度な量が重要となっている可能性がある。Smp1 は酸性タンパク質 (PI=4.33) でコシャペロンとの類似性が低いながらもあることも興味深い。

天然変性領域を持つと予測されたタンパク質群については、更に研究が必要であるが、まずは核様体精製時のコンタミネーションであるかどうかを確認する必要があると考える。

## 参考文献

1. M. Kuroda, et al.: *Lancet*. **357**(9264), 1225 (2001).
2. L. Maudsdotter, et al.: *Microbes Infect.* **17**(6), 456 (2015).
3. K. Morikawa, et al.: *Genes Cells*. **11**(4), 409 (2006).
4. Y. Ushijima, et al.: *Microbiology*, (2016).
5. Y. Ushijima, et al.: *BMC Microbiol.* **17**(1), 207 (2017).