九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Control of viability and biofilm formation of foodborne pathogens by amino acids and peptides

沈, 存寛

https://hdl.handle.net/2324/4784704

出版情報：Kyushu University, 2021, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (2)

氏　　名	沈　存寛
論　文　名	Control of viability and biofilm formation of foodborne pathogens by amino acids and peptides （アミノ酸およびペプチドによる食中毒細菌の生存とバイオフィルム形成の制御）
論文調査委員	主　査　　九州大学　　教授　　宮本敬久 副　査　　九州大学　　准教授　　本城賢一 副　査　　九州大学　　准教授　　善藤威史

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

フードチェーンの全ての段階における食中毒細菌の制御は、食品の安全性確保の上で最も重要な課題である。しかし、細菌は食品原料および製造装置表面においてバイオフィルムを形成して存在していることから、その制御は困難である。本研究は、アミノ酸および食品由来ペプチド類について、食中毒細菌の生存およびバイオフィルム形成に対する影響を明らかにし、その機構解明を行ったものである。

まず、アミノ酸添加合成培地（合成培地）からの単一のアミノ酸除去がサルモネラのバイオフィルム形成に与える影響を調べた結果、合成培地から L-Ala、L-Pro、または L-Trp をそれぞれ除去するとサルモネラのバイオフィルム形成が促進されることを明らかにしている。また、細菌表面の疎水度を評価する Bacterial Adhesion To Hydrocarbons 試験により、合成培地で培養した菌体に比べ、これらのアミノ酸を除去した合成培地で培養したサルモネラ菌体では菌体表面の疎水性が有意に増加することを示している。さらに、L-Ala、または L-Pro を除去した合成培地で培養した菌体では、走化性関連遺伝子の転写量が増加することを示し、これらがバイオフィルム形成促進の一因であると推定している。

次に、市販の卵白加水分解物にバイオフィルム形成阻害活性を見出し、種々のカラムクロマトグラフィーにより活性ペプチドを単離して質量分析によりアミノ酸配列を決定している。このアミノ酸配列をもとにバイオインフォマティクス解析ツール（AxPEP、HeliQuest、PepDraw tool、および PEP-FOLD 3）を駆使して、抗菌活性および抗バイオフィルム活性の向上が期待される、より高い正電荷量および疎水性を有し、α-ヘリックス構造を形成する抗菌ペプチドを設計している。合成したペプチドの抗菌活性測定の結果、2 つのペプチド、KSWKKHVVSGFFLR、および KSWKKHVVSGFFLRLWVHKK はサルモネラに対して高い抗菌活性を有すること、ベロ細胞に対する細胞毒性は非常に低いことを明らかにしている。これらのペプチドで処理したサルモネラ菌体の蛍光染色画像解析の結果、細胞質膜の脱分極と透過性の増加が認められたことから、両ペプチドは膜に損傷を与えることを明らかにしている。

最後に、ポリリジンによるサルモネラのバイオフィルム形成阻害機構解明のため、遺伝子転写に対する影響を DNA マイクロアレイ分析により調べている。その結果、ポリリジン処理菌体において、バイオフィルム形成を促進するアミロイド様菌体外タンパク質の産生、セルロースの産生、クオラムセンシング、および鞭毛の運動性に関連する遺伝子の転写量低下、逆にバイオフィルム形成を阻害するコラン酸の産生に関連する遺伝子の転写量増加を認めている。これらの結果から、ポリ

リジンは、菌体表面への直接的な吸着作用だけでなく、バイオフィルム形成に関連する遺伝子の転写制御によりサルモネラのバイオフィルム形成を抑制する可能性を示している。

以上要するに、本研究は、アミノ酸、および食品由来ペプチド類のサルモネラのバイオフィルム形成に対する影響を明らかにし、より活性の高いペプチドを設計するとともにその作用機構の解明を行ったもので、食品衛生化学、および食品微生物学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有すると認める。