

Clostridium perfringens の フィブロネクチン結合タンパク質 FbpD の機能

森本晃平*¹ 片山誠一*² 櫃本泰雄*² 松永望*^{2§}

I. 研究の概要

【背景】

Clostridium perfringens は、ガス壊疽や食中毒を引き起こす偏性嫌気性グラム陽性有芽胞菌である。*C. perfringens* はヒトの血漿中、細胞表層および結合組織内に存在する細胞外マトリックスタンパク質の一つである Fibronectin (Fn) と結合することが知られている。我々は以前、*C. perfringens* の菌体表層に存在する Fn 結合タンパク質である FbpD を分離・同定した。FbpD は、N 末端領域に cell wall-binding repeats と C 末端領域に Bacteriophage 由来の peptidoglycan hydrolase (PGH) をもつことがモチーフ検索によって予測された。そこで、本研究では、実際に FbpD が PGH としての機能を有するかどうかについて調べた。

【方法】

FbpD の PGH 活性を調べるために以下の実験を行った。1) 組換え体 FbpD (rFbpD) および菌体成分(野生株、 Δ fbpD 株、 Δ fbpD/pfbpD 株、または Δ fbpD/pJIR418 株)における *C. perfringens* 加熱死菌含有ゲルを用いた Zymography、2) rFbpD における *Bacillus subtilis* および *Micrococcus luteus* の加熱死菌含有ゲルを用いた Zymography、3) rFbpD において *C. perfringens* を基質とした濁度

低下法、を行った。

また、rFbpD の細胞壁への結合能については、4) *C. perfringens* 菌体および peptidoglycan を担体とした pull-down assay を用いて調べた。

最後に、5) Gram 染色を行い、野生株および Δ fbpD 株の形態を観察した。

【結果と考察】

1) rFbpD および野生株と Δ fbpD/pfbpD 株の菌体成分において溶菌活性バンドが検出された。2) rFbpD は *B. subtilis* および *M. luteus* に対して溶菌活性バンドは検出できなかった。1) および 2) から、FbpD の活性は *C. perfringens* に特異的であると考えられた。3) rFbpD はコントロールと比べて有意な濁度の低下は認められなかった。このことから、rFbpD は未処理 *C. perfringens* 菌体を溶菌できなかったと考えられた。これらのことより、FbpD は PGH としての活性を有するものの、その活性は部分的であることが示唆された。

4) 菌体および peptidoglycan、ともに沈査にのみバンドが検出された。このことから、rFbpD は peptidoglycan へ結合するものと考えられた。5) 野生株に比べて Δ fbpD 株は、有意な菌体の伸長が認められた。このことから FbpD は菌体の形状に影響を及ぼすと考えられた。

以上のことから、FbpD は *C. perfringens* におけ

*¹ 岡山理科大学大学院理学研究科臨床生命科学専攻

*² 岡山理科大学理学部臨床生命科学科 § matsunaga@ous.ac.jp

る新たな PGH である可能性が示唆された。

II. 受賞の感想

この度は、第 16 回日本臨床検査学教育学会学術大会において、研究発表の機会をいただいたことを大変嬉しく思います。また、優秀発表賞に選出いただいたことを誠に光栄に思っております。このような素晴らしい賞をいただいたのも、私の指導教員である岡山理科大学理学部臨床生命科学科分子病態解析学研究室 松永望先生をはじめ、岡山理科大学理学部臨床生命科学科の先生方の手厚い指導・教育のおかげであると存じております。私にとって本学会は、他の大学の学生発表を拝聴することで、研究意欲が高まり、自身の知見を

広げられた大変有意義な時間でありました。この場をお借りして、本研究および学会発表の機会を与えてくださった皆様に厚く御礼申し上げます。

III. 将来への抱負

私は来年度から、大学病院で臨床検査技師として勤務します。大学および大学院で得た経験を励みとし、大学病院という高度かつ先端的な医療現場でも力を発揮できる臨床検査技師になれるよう努力していく所存です。また大学病院では、一般的な病院とは異なり、研究活動に携わる時間をいただくことが可能であるため、一人の研究者として臨床検査学の発展に貢献していきたいと考えています。