

## 休眠からの目覚め～細菌胞子の発芽～

尾花 望

細菌がつくりだす内生胞子は熱、紫外線および薬剤に対する高い耐久性を有しており、100°Cの高温や95%エタノール処理を与えても生存することができる。このため、胞子を完全に除去することは難しく、胞子を完全に殺すためには湿熱で110～120°Cを20分間、もしくは乾熱で150～160°Cを3時間程度の処理を要する<sup>1)</sup>。細菌の内生胞子の混入は加工食品において劣化および食中毒の危険を生じる一方で、上述のような過度の加熱は食品の風味を損なう可能性が高く、より簡便に胞子を除去、殺す手法が必要とされている。

内生胞子を作り出す細菌群の多くは*Bacillus*属および*Clostridium*属の細菌群であり、それぞれの属にはセレウス菌 (*Bacillus cereus*) やウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*)、デフィシル菌 (*Clostridium difficile*) およびボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) など食中毒の原因となりうる細菌種が存在している。これらの細菌は周囲の環境中の栄養源である炭素源や窒素源およびリン酸の枯渇が起こり生育困難になると内生胞子を形成し始め、成熟した内生胞子は休眠状態となり、上述のような高い耐性能を有する。細菌胞子の最内部層であるcoreは高度に脱水されており(25–50%)、ジピコリン酸(DPA)を多く含む(乾燥重量で25%)、さらにcore内のDNAはsmall acid solubleタンパク質と相互作用することにより保護されている。これらの特徴は胞子の耐性能の獲得に大きく貢献している<sup>2)</sup>。さらに胞子は多層構造を有しており、細胞の内側から、DNAを含むcore、内膜、germ cell wall、ペプチドグリカンコルテックス、外膜およびコートタンパク質で形成されている。このような多層構造は胞子の形成に必須であり、胞子のcoreの防御機構の一端を担っている。

一方、胞子は細菌が生育するのに適した環境下に置かれると、胞子構造を破壊して発芽(germination)し、通常の栄養細胞として再度生育を始める(outgrowth)。一般的に発芽は胞子がつもGerAファミリータイプのレセプターが発芽誘起物質を感知することによって始まり、それに続いて起こる一連の生化学的・形態学的変化から成る。発芽誘起物質はアミノ酸、糖質、ヌクレオチドおよび無機イオンなどバラエティに富んでいるが、病原細菌のようなある種においては特異的な栄養素を発芽誘起物質として必要とする。多くの場合、これらの栄養素は胞子から発芽した細菌が生育に好む環境下に多く含有されているものである。たとえば、デフィシル菌の胞子はグリシンと胆汁酸塩であるタウロコール酸塩によってのみ発芽することが明らかとなっているが、タウロコール酸塩はデフィシル菌が広く在住するヒトや動

物の小腸に多く存在していることが知られている。さらに、腸管毒素を有するウェルシュ菌の食中毒単離株はKClおよびリン酸ナトリウムに応答した発芽が起こる一方で、腸管毒素をもたないウェルシュ菌非食中毒単離株は発芽が起こらない。KClおよびリン酸ナトリウムは肉加工工程において元来存在しており、食中毒性のウェルシュ菌胞子はこれらの物質でも発芽が誘起されるように適応したと考えられる<sup>3)</sup>。

栄養素以外の因子でも発芽誘起を引き起こされることが知られており、Ca-DPAやドデシルアミン、超高压およびリゾチームによる発芽誘起がこれまでに報告されている。このうち、超高压による処理は食品中に含まれる芽胞の発芽を促したのち、滅菌する方法として検討が進められている。さらに、活発に分裂をする細胞が放出する細胞壁のペプチドグリカンの分解産物であるムロペプチドによっても発芽が誘導されることが明らかとなっている<sup>4)</sup>。ムロペプチドに反応した発芽には真核生物様のセリン/スレオニンキナーゼPrkCが必要であり、PrkCは*Bacillus*および*Clostridium*属に広く保存されていることから、PrkCに依存した発芽は胞子形成する微生物に共通した発芽様式である可能性が高い。Ca-DPAやムロペプチドによる発芽誘起は、周囲の他の細胞が発芽したことに応答して自己の発芽を促すようにプログラムされているものだと考えられる。

胞子形成および発芽の分子機構の解析は枯草菌をはじめとする*Bacillus*属でよく行われていたが、近年、ゲノム情報の充実とともに*Clostridium*属菌における発芽機構の解析が進められている。その結果、*Bacillus*属と*Clostridium*属の間には発芽誘起やペプチドグリカンコルテックス分解機構等で類似点も多い一方で、明確な違いが存在することが明らかとなってきた<sup>5)</sup>。これらの情報を基にして、個々の細菌の発芽レセプター、発芽誘起物質および発芽メカニズムを詳しく同定していくことが今後の課題である。細菌の胞子は高い耐久性をもつが、発芽を防ぐことができれば細菌としての毒性を示すことはなく、逆に発芽を促すことができれば速やかに駆除することができる。つまり、発芽をコントロールすることによって、食品の風味を損ねることなく効率よく細菌胞子を除去することができるようになるかもしれない。

- 1) 一色賢司: 食品衛生学 第3版, 東京化学同人 (2010).
- 2) Setlow, P.: *J. Appl. Microbiol.*, **101**, 514 (2006).
- 3) Paredes-Sabja, D. et al.: *J. Bacteriol.*, **190**, 85 (2008).
- 4) Shah, I. M. et al.: *Cell*, **135**(3), 486 (2008).
- 5) Paredes-Sabja, D. et al.: *Trends in Microbiol.*, **19**, 85 (2011).