

ビフィズス菌のラクトフェリン結合性タンパク質に関する研究

田島恵梨香

共生基盤学専攻 食品安全・機能性開発学講座

【背景と目的】 ミルクに含まれる鉄結合性の糖タンパク質であるラクトフェリンは、健康への寄与が近年顕著に認められてきており、その中の一つに整腸作用がある。これまでの研究で、ラクトフェリンには腸内有用菌であるビフィズス菌の増殖を促進する効果があること、ビフィズス菌表面にラクトフェリンが結合する部位があること等が分かってきた。このようなラクトフェリンのプレバイオティクスの作用の一端を解明することを目標として、ビフィズス菌の膜タンパク質のラクトフェリン結合性タンパク質を分離同定するために本研究を行った。

【方法・結果及び考察】 実験には *B. longum* ATCC 15708、*B. longum* BB536 および *B. breve* S46 の 3 種のビフィズス菌を用いた。まずそれぞれの菌体を超音波破碎法によって破碎し、遠心分離操作によって膜タンパク質画分を得た。膜タンパク質画分について SDS-PAGE 分析を行い、膜転写後にラクトフェリンと反応させ、結合したラクトフェリンを抗ラクトフェリン抗体およびペルオキシダーゼ標識抗体を用いて検出するファーウエスタンブロットティングを行った。その結果、3 種の全てのビフィズス菌にラクトフェリン結合性タンパク質が存在していることが確かめられた。そこで、ラクトフェリン固定化カラムによるアフィニティークロマトグラフィーを行った。カラムに吸着した成分は、塩濃度を高めることによって溶出させ、SDS-PAGE 分析およびファーウエスタンブロットティングでラクトフェリン結合性タンパク質を確認した。*B. breve* S46 の約 50kDa のラクトフェリン結合性タンパク質についてアミノ酸配列分析を行ったところ、読まれた配列から本成分はグリセルアルデヒド 3 リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) と高い相同性を示した。GAPDH は様々な微生物の表層においてその存在が確認されているタンパク質であり、様々な物質と結合することが報告されている。ビフィズス菌においても、膜タンパク質上の GAPDH がラクトフェリンの受容体として何らかの作用をはたしている可能性が本研究によって示唆された。