

腸内細菌 *Lactobacillus gasseri* JCM1131^T における推定カルジオリピンシンターゼ遺伝子の欠失がコール酸適応現象に与える影響

食品安全・機能性開発学講座 胃腸内圏微生物学分野
戸部はるひ

【背景と目的】近年、プロバイオティクスによる整腸作用などの保健効果が注目されており、乳酸菌やビフィズス菌が利用されている。これらがプロバイオティクスとして機能するためには、胃酸・胆汁酸などの生体内環境ストレスを回避し、腸管内まで生きてまま届くことが求められる。当研究室では、腸内乳酸菌である *Lactobacillus gasseri* JCM1131^T において、胆汁酸の主成分であるコール酸 (CA) に対する適応現象を発見した。これは菌体を非致死濃度の CA で短時間処理する、という低レベルの CA ストレスを与えることで、致死濃度の CA ストレスに対して耐性を獲得する現象である。CA 適応処理の前後で、全脂質組成では変化が観察されなかったが、リン脂質組成では phosphatidylglycerol (PG) の減少とともに cardiolipin (CL) の増加が観察された。この結果から、「PG から CL への合成反応を促進させ、細胞膜脂質組成を変化させること」が CA 適応応答機構の一つとして考えられた。そこで本研究では、PG から CL を合成する酵素であるカルジオリピンシンターゼ (CLS) に着目し、本菌株に二つ存在する推定カルジオリピンシンターゼ遺伝子 (*cls*) を共に欠失させた二重欠失が CA 適応現象に与える影響を調べることを目的とした。

【方法】1/2MRS 培地を用いて対数増殖期まで生育させた *cls* 二重欠失株を 4 mM の CA を含む培地で 30 分間培養し、CA 適応処理を行った。コントロールとしては、CA を含まない培地で 30 分間の培養を行った菌体を用いた。その後致死濃度である 15 mM の CA を含む培地で菌体を処理し、コロニーカウントにより生残率の経時変化を測定した。菌体から全脂質を抽出し、Sep-pak カラムで中性脂質・糖脂質・リン脂質の 3 つの脂質に分離し、GC により各画分の組成解析を行った。さらに、得られたリン脂質画分について、TLC および GC により組成の解析を行った。

【結果】*cls* を両方欠失したため CA 適応現象が起こらないという予想に反し、*cls* 二重欠失株においても CA 適応処理により生残率が上昇し、CA 適応現象がおこることが明らかになった。リン脂質組成の解析から、CA 適応処理の有無に関わらず CL はほぼ消失することが明らかになり、CL が CA 適応に必須でないことが示された。また、*cls* 二重欠失株では野生株に比べて、糖脂質の割合が減少し、リン脂質の割合が増加すること、リン脂質のほぼ全てが PG になること、などが明らかになり、CL 欠失により全脂質組成が大きく変化した。*cls* 二重欠失株では CA 適応処理により、糖脂質の割合が減少し、リン脂質の割合が増加することも明らかになった。

【考察及び結論】

- ① *cls* 二重欠失株では、CL が消失したため、ほぼ PG からなる細胞膜のリン脂質の割合を増大させることで、CA 適応現象がおこることが示された。
- ② *cls* 二重欠失株と野生株の全脂質組成の大きな変化から、CL は細胞膜の全脂質組成の決定に重要な役割を持つことが示唆された。