

論 文 内 容 要 旨

題 目 *Streptococcus intermedius* バイオフィーム形成に及ぼす細胞外DNA及び  
DNA結合タンパク質の影響  
(Effects of extracellular DNA and DNA-binding protein on the development of  
a *Streptococcus intermedius* biofilm)

著 者 ASIKIN NUR

内容要旨

【背景及び目的】細胞外DNA (eDNA) は興味深いことに種々の細菌バイオフィームの細胞外高分子に存在している。細菌DNAに結合することができる構造的タンパク質である細菌性ヒストン様DNA結合タンパク質 (HLP) は様々な細菌の細胞反応に影響を与えている。最近、我々は *Streptococcus intermedius* のHLPが細胞表面に局在しており、バイオフィーム基質内でeDNAと共存していることを報告した。この研究の目的は *S. intermedius* バイオフィーム形成に与えるeDNA及びHLPの影響を検討することである

【方法】 *S. intermedius* の4株、ATCC27335 (野生株)、Si-HLP制御株および2つの対照株、を用いた (Mol Microbiol, 2008)。eDNAが *S. intermedius* バイオフィームに必須であることを示すために、DNase I (200 U/ml) を細菌培養液に加え、形成されたバイオフィームを0.1%クリスタルバイオレットで染色し、540 nmの吸収を測定した。形成されたバイオフィーム中でのeDNA及びHLPの局在は、無固定標本を2 $\mu$ M DDAP及び抗HLP抗体でそれぞれ染色することにより行った。さらに、*S. intermedius*, *S. mutans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 及びヒト細胞より抽出、精製したDNAを細菌培養液にくわえ、形成されたバイオフィームを前述の方法により測定した。

【結果】DNase I処理によりバイオフィーム形成及び細胞密度は顕著に減少した。バイオフィーム中でのeDNA及びHLPの共存も確認された。eDNA (1 $\mu$ g/ml以下) の *S. intermedius* 培養液への添加はすべての株、野生株HLP制御株及び対照株、においてバイオフィーム形成を促進した。反対に1 $\mu$ g/mlを超える量のDNAの添加はすべての *S. intermedius* 株のバイオフィーム形成を低下させた。

【結論】これらの知見はeDNA及びHLPがバイオフィーム形成及びその強度に重要な役割を持っていることを示している。