

ナノ構造が発現する殺菌メカニズムの解明 ～オートリシスの影響について～

Elucidation of bactericidal mechanism expressed on nanostructures

～Autolysis works as a second trigger～

関大院, 三村爽馬, 清水智弘, 新宮原正三, 岩木宏明, 伊藤健

Kansai Univ., °Soma Mimura, Tomohiro Shimizu, Shoso Shingubara, Hiroaki Iwaki, Takeshi Ito

E-mail: k493995@kansai-u.ac.jp

1. はじめに

セミやトンボの翅、ヤモリのスパチュラなど自然界に存在するナノレベルの突起物が殺菌性を示すことが知られている。私達は、この作用を人工的に再現し、メカニズムの解明を目指している^{1,2)}。殺菌メカニズムは、ナノ構造と細菌の物理的相互作用によるものと推測されているが詳細なメカニズムは解明されていない。これまでに、ナノレベルの突起物が細胞膜の変形を起こすことがシミュレーションや詳細な観察から明らかになっているが^{3,4)}、私達のグループではこの変形を1次トリガーとし、生体内の反応によりオートリシス(膜溶解)が進行するのではないかと推測し、その推論を実験により確かめた。

2. 実験方法・結果

コロイダルリソグラフィとメタルアシストケミカルエッチングを用いてセミの翅にあるナノピラーを模倣したSiナノピラー構造を作製した(Fig.1)。大腸菌のオートリシスに関与する酵素(lytic transglycosylase)である MltA, MltB, Slt70 を欠損した大腸菌株(それぞれ $\Delta mltA$, $\Delta mltB$, $\Delta slt70$ と示す)及び野生株(WT)を膜損傷試験(Live/Dead assay)に供した。この方法は、膜に損傷が無い場合には膜透過性のある DNA 染色試薬(SYTO9)が DNA を染色することで細菌が緑の蛍光を発し、損傷がある場合には DNA が赤色の染色試薬である PI と結合するため赤の蛍光を発することを利用し、蛍光顕微鏡下で赤または緑の蛍光を発している菌数の比を経時的に評価した。実験結果を Fig.2 に示す。縦軸は生菌率を示しており、値が高いほど緑色の菌、つまり膜損傷が無い菌が多いことを示す。ナノ構造が無い場合には生菌率は 95%程度であり、膜損傷はほとんど見られなかった。一方、WT と $\Delta mltA$ は 60 分までに急激に低下し、120 分では 20%を切った。 $\Delta mltB$ は $\Delta mltA$ ほどではないが、120 分で 40%以下となった。これら 3 つの菌種は膜損傷が生じていると言える。一方、 $\Delta slt70$ は 120 分では 90%程度を維持しており膜損傷が生じにくいと言える。以上の結果から、ナノ構造が発現する殺菌性は、物理的な作用だけではなく Slt70 が引き起こす生化学的反応が関与していると考えられる。

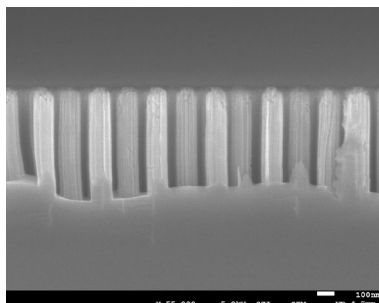


Fig.1 作製したナノピラーの断面

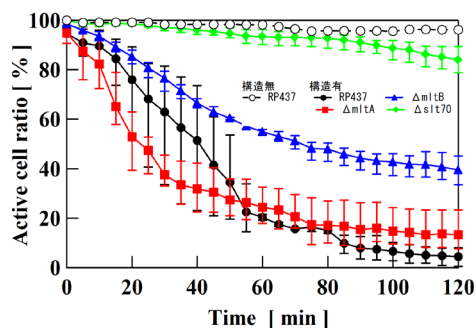


Fig.2 Live/Dead 法による生菌率の経時変化

【謝辞】本研究は科研費(21H01773)の一部として実施された。

【参考文献】1)神代ら第 80 回応用物理学会秋季学術講演会,2)小田ら第 82 回応用物理学会秋季学術講演会,3) Bandara et al. *ACS Appl. Mater. Int.* (2017), 4) Li, *Phys. Chem. Chem. Phys.*(2016).