

氏名（本籍）	NGUYEN VU GIANG BAC（ Vietnam ）
学位の種類	博士（環境学）
学位記番号	博 甲 第 9647 号
学位授与年月日	令和 2 年 7 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	Effect of Biosurfactants on Gram-negative Bacterial Biofilm Formation (バイオサーファクタントによるグラム陰性細菌バイオフィーム形成への効果)

主査	筑波大学教授	博士（工学）	野村 暢彦
副査	筑波大学准教授	Ph.D.	Utada Shinichi Andrew
副査	筑波大学准教授	博士（工学）	久能 樹
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	豊福 雅典

## 論 文 の 要 旨

細菌、ウイルスなどの微生物制御は 21 世紀ますます重要になってきている。特に細菌の多剤耐性化の問題は早急に解決すべき世界的課題となっており、人以外の家畜等の動物への抗生物質の制限が進められている。細菌の多剤耐性化は、常在菌として知られている緑膿菌で問題になっている。緑膿菌がバイオフィームを形成すると感染症が難治化するために抗生物質が多様かつ多く用いられることが耐性化を引き起こす原因と考えられている。このように、緑膿菌など細菌が多剤耐性化を引き起こさないための新たな微生物バイオフィーム制御が求められている。

筆者は、微生物が産生するバイオサーファクタントによる緑膿菌バイオフィームの形成制御について研究を進め、そのバイオサーファクタントが緑膿菌バイオフィームの形成を抑制すること、そしてそれがバイオフィーム形成の初期段階の細胞付着を阻害することを明らかにした。

筆者は、ある真菌により細胞外に産生される糖脂質系のバイオサーファクタントであるソフォロリピッド(SL)に着目し、使用した。SL は、環境に放出されても多くの環境常在菌により分解される生分解性を有する環境に低負荷なサーファクタントである。その SL によるグラム陰性細菌のモデル細菌である緑膿菌への効果について種々の解析を進めた。緑膿菌ではバイオフィーム形成の初期段階に細胞運動性が関与することが明らかにされており、そこで筆者は、SL による緑膿菌の運動性とそのバイオフィーム初期段階への影響を解析している。緑膿菌における各運動性に関与するそれぞれの遺伝子を欠損した遺伝子破壊株を用いて、基質への付着能について、定量解析およびイメージング解析を行い、SL が運動性を強く阻害することを明らかにし

た。さらに、SLにより緑膿菌の細胞の生育や細胞死に影響を与えてないことも示している。

筆者は流れなどが存在する環境の中で緑膿菌バイオフィーム形成へのSLの効果を調べるために、マイクロ流体デバイスを用いて解析を行った。そして、非常に緩やかな流れの中でも、SLが存在すると細胞付着さらにバイオフィーム形成が抑制されることを明らかにした。さらに、成熟した緑膿菌バイオフィームへのSLによる除去効果についても他の化学合成界面活性剤と比較しながら研究を進めた。SLによる成熟したバイオフィームの動態変化を共焦点レーザー顕微鏡を用いて詳細に調べ、SLが他の化学合成界面活性剤よりも低濃度で成熟したバイオフィームを除去できることを明らかにした。また、緑膿菌は細胞外に毒素産生することが宿主にとって問題となるため、筆者は、そこにもSLの効果について調べている。そして、SLが濃度依存的に緑膿菌の細胞外毒素を抑制することを見出している。さらに、それらのSLによる緑膿菌への効果についてのメカニズムについても研究を進めた。SLが細胞の増殖抑制また細胞死を引き起こしてないことから、SLが細胞の機能変化に寄与していると仮説を立てて細胞内の情報伝達機構に着目しその遺伝子破壊株を用いてSLとの関係性を調べ、SLの効果が細胞内情報伝達因子を介していることを明らかにした。

## 審 査 の 要 旨

21世は種々の感染症をはじめ微生物制御が重要な課題である。これまで、抗生物質や殺菌剤などが多用された結果、細菌の多剤耐性化が深刻な問題になっている。そのような背景の中、筆者は、微生物由来の生分解性界面活性剤であるソフォロリピッド(SL)に着目し、その効果を検証した結果、SLが緑膿菌への殺菌効果や生育抑制なしに、緑膿菌の毒素産生そしてバイオフィーム形成を抑制することを明らかにしている。また、SLは成熟したバイオフィームの除去についても、マイクロデバイスやイメージング解析技術を用いて効果があることを示している。筆者は、SLの作用機序の解明にも取り組み、SLの抑制機構には細胞内情報伝達因子が関与していることも明らかにしている。

以上のように、微生物由来の生分解性のあるバイオサーファクタントSLが緑膿菌の殺菌や生育抑制を伴わず、バイオフィーム形成や毒素産生阻害などの制御に利用出来ることを発見し、微生物を殺さない制御の糸口を見出したことは、多剤耐性化問題などに寄与することが期待され、新たな微生物制御の発展に大きく貢献することが見込まれ高く評価出来る。環境に残存しない生分解性バイオサーファクタントが微生物制御に利用出来れば環境問題にも貢献出来ることが期待される。

令和2年5月21日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について筆者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、筆者は博士（環境学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。