The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Regulation of Escherichia coli Biofilm Development through Modified Expression of Cell Surface Appendages
Author(s)	Nguyen, Minh Hong
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/50549
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

Form 3

Abstract of Thesis

Name (NGUYEN HONG MINH)	
Title	Regulation of *Escherichia coli* Biofilm Development through Modified Expression of Cell Surface Appendages **(細胞表層構成物の発現修飾による大腸菌バイオフィルム形成過程の制御)**

Abstract of Thesis

The impacts of biofilms can be desirable or disastrous depending on the location of biofilm attachment and their microbial community structures. For example, biofilms have the ability to degrade toxic compounds in groundwater and soil. However, biofilms can also cause the dysfunction of implantable prosthetic devices. To understand the biofilm formation process, in this thesis, *Escherichia coli* was used as a model cell type. In relation to biological parameters, the major factors contributing to each stage of biofilm development were clarified. In Chapter 1, the effect of sigma factor S (*rpoS*) deficiency on cell motility of *E. coli* BW25113 strain is demonstrated. In a minor population of *rpoS*-deficient cells, the up-regulation of genes involved in the formation and rotation of flagella led to an increased rate of cell motility. In a minor population of *rpoS*-deficient cells, the up-regulation of genes involved in the formation and rotation of flagella led to an increased rate of cell motility. Chapter 2 highlights the factors required for cell colonization. The presence of both curli and flagella on the cell surface was essential for *E. coli* cell colonization on a solid surface at 37℃. Major curlin subunit gene (*csgA*) was introduced into *rpoS*-deficient cells for enriching curli on the cell surface. Curli and flagella on transformed cells led to the formation of the stable microcolonies on a solid surface. At low temperature (25℃), the formation of abundant flagella on the surface of *rpoS* and *yggE*-deficient cells was identified as a dominant factor facilitating colonization. The role of flagella and curli in stabilizing colonized cells on a solid surface at 25℃ is discussed in Chapter 3. Under a liquid flow condition, the *rpoS*-deficient cells poor in curli failed to form stable cellular multi-layers. Only *yggE*-deficient cells, which produced abundant flagella and curli on their cell surface, formed multi-layer cell clusters on a solid surface under a flow condition. In the final chapter, a fused protein of a carbohydrate-binding module 3 (CBM3) and green fluorescence protein (GFP) was constructed. GFP-CBM3 fused protein was used as a novel probe for the detection of exopolysaccharide (EPSh) produced by *E. coli* cells in biofilm. The GFP-CBM3 probe confirmed that bacterial cellulose synthase B (*bcsB*) overexpression promoted flocculation and biofilm development in *E. coli* cells associated with the increased EPSh production.
The results of this thesis present important fundamentals to regulate the respective stages of *E. coli* biofilm development.

様式7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（NGUYEN HONG MINH）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主 査　教 授	田谷　正仁
	副 査　教 授	岡野　泰則
	副 査　教 授	馬越　大

論文審査の結果の要旨

本研究では，大腸菌の細胞表層構成物の合成に関連する遺伝子の欠損や導入手法を駆使し，バイオフィルム形成過程における支配要因の影響を明らかにした．

まず，バイオフィルム形成の初期付着において重要である運動性に着目し，大腸菌の*rpoS*遺伝子欠損が運動性に及ぼす効果を検討した．*rpoS*欠損はべん毛の形成や回転運動に関連した遺伝子の活性化を誘引し，非常に高い運動性を示すヘテロな細胞集団を形成することを明らかにした．続いて，*rpoS*欠損株に線毛合成のキー遺伝子である*csgA*を導入し，大腸菌の初期付着とコロニー形成において，べん毛と線毛の両方が重要であることを示した．しかし，大腸菌の最適生育温度である37℃から自然環境温度に近い25℃に変化させると，べん毛の過剰発現のみでも高いコロニー形成能を示すことが確認された．そこで，25℃において，液流れによる外的な力を負荷した条件の下でコロニー形成を試験したところ，べん毛と線毛の両方を発現した株のみが多層に重なったコロニーを固体表面上で形成することが明らかとなった．これらの結果より，付着細胞とそれらから生まれた娘細胞同士が絡まり合い，より強固に付着したコロニーを形成する上で線毛が重要な因子であると結論した．最後に,バイオフィルムの成熟を評価する独自のツールとして，糖鎖結合タンパク質であるCBM3と蛍光タンパク質であるGFPの融合タンパク質(GFP-CBM)を構築し，バイオフィルムの成熟度合いの評価指標であるエキソ多糖類（EPS）を検出することに成功した．さらに，EPSの一種であるセルロースの生合成関連遺伝子と考えられる*bcsB*遺伝子の過剰発現が，大腸菌の凝集体形成や成熟段階におけるバイオフィルム形成量を促進することを見出し，GFP-CBMがこれらの現象を評価するツールとして有効であることを実証した．

以上，本論文は微生物によるバイオフィルム形成の制御に関する新たな知見を与えるものであり，博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認める．