

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 松本 靖彦

本研究は、黄色ブドウ球菌の病原性調節因子 CvfB の分子機能の解明と毒素産生における役割を明らかにしたものである。

黄色ブドウ球菌は、化膿症、髄膜炎、敗血症などの疾患を引き起こす日和見感染の原因菌である。黄色ブドウ球菌は宿主組織を破壊する様々な毒素を発現することにより、人に対して様々な症状を引き起こすと考えられている。しかし、毒素など病原性因子の発現制御機構は不明な点が多い。申請者が所属する研究室では無脊椎動物であるカイコの黄色ブドウ球菌感染モデルを利用し、新規病原性遺伝子 *cvfB* (conserved virulence factor B) を見い出している。*cvfB* 遺伝子は、A 群連鎖球菌、緑膿菌、リステリア菌などの病原性細菌において保存された遺伝子である。*cvfB* 遺伝子は、黄色ブドウ球菌の病原性毒素として知られる溶血毒素、プロテアーゼ、ヌクレアーゼの産生に寄与する。しかし、CvfB の分子機能は不明である。申請者は、本研究において、遺伝学的、及び生化学的解析により CvfB の機能を明らかにし、黄色ブドウ球菌の毒素産生機構の解明を試みた。

申請者は、*cvfB* 遺伝子が溶血毒素をコードする *hla* 遺伝子の発現に寄与するかを検討した。*cvfB* 遺伝子が、*hla* 遺伝子の発現に寄与すること、及び *hla* 遺伝子の発現を制御することが示されている *agr* 遺伝子の発現に寄与することを見いだした。従って、*cvfB* 遺伝子は、*agr* 遺伝子の発現を介する溶血毒素産生に寄与すると考えられた。さらに、*cvfB*、*agr* 二重欠損株を用いた解析から、*cvfB* 遺伝子が *agr* 遺伝子の発現を介さない経路でも毒素産生、及び病原性に寄与することを見いだした。

申請者は、CvfB の生化学的活性の解明を試みた。CvfB の一次配列上、S1 RNA 結合ドメインと相同性のある領域が二カ所存在することが推定された。そこで

申請者は、CvfB が RNA 結合活性を有するかを、CvfB タンパク質を精製して検討した。その結果、CvfB が RNA 結合活性を有することを見いだした。申請者はさらに、種々の変異型 CvfB を用いて、CvfB タンパク質の RNA 結合活性と溶血毒素産生に構造活性相関が得られるか検討した。RNA 結合活性を持たない変異型 CvfB は、溶血活性を示さなかった。この結果から、黄色ブドウ球菌の毒素産生に CvfB の RNA 結合活性が必要であることが示唆された。

申請者は、CvfB の分子機能を推定する目的で、CvfB と結合する因子の同定を試みた。免疫沈降法、及び GST pull down 法を用いた解析から、CvfB が 30S リボソームタンパク質 S9 と結合することが明らかとなった。申請者はさらに、30S リボソームタンパク質 S9 が 30S リボソーム複合体の構成因子の一つであることに着目して、CvfB が 30S リボソームと複合体を形成するかを検討した。その結果、CvfB が 30S リボソームと複合体を形成することを示唆する知見を得た。

申請者は、次に CvfB と 30S リボソームタンパク質 S9 との結合が溶血毒素産生に関与するか検討した。申請者は、CvfB と 30S リボソームタンパク質 S9 との結合は、それぞれの C 末端領域で結合することを明らかにした。CvfB と結合可能な 30S リボソームタンパク質 S9 の C 末端領域の過剰発現系を用いた解析から、CvfB と 30S リボソームタンパク質 S9 との結合が溶血毒素産生に関与することが示唆された。

以上、本研究は、黄色ブドウ球菌の病原性調節因子 CvfB の遺伝学的、及び生化学的解析をもとに、CvfB が関与する毒素産生機構の解明、及び黄色ブドウ球菌の毒素産生における CvfB の分子機能を明らかにした。

この研究から、申請者は、CvfB が病原性因子をコードする mRNA とリボソームの複合体形成段階における毒素産生の調節という新しい考え方を提案している。病原性の研究において、翻訳調節の重要性については、あまり議論されていない。申請者の病原性因子の翻訳調節の重要性に関する提案は、今後の病原性の研究に新たな視点を加えることとなり、病原性因子の発現調節機構の解明に貢献するところが大きく、博士(薬学)に値すると判断した。