

本研究は腸管出血性大腸菌0157:H7 Sakai株において、病原性遺伝子群LEE (locus of enterocyte effacement)の発現制御に重要であると考えられている転写制御因子Pchの発現制御機構を明らかにするため、*pch*の転写制御因子の同定を行い、下記の結果を得ている。

1. *pchA*の発現制御因子のスクリーニングにより、LysR型転写因子に属するLrhAを同定した。LrhAは*pchA*と*pchB*の転写を正に制御し、*pchC*の転写は制御しないことを示した。通常の培養条件下で、ゲノムの*lrhA*を欠失させると*pchA*の転写が大きく低下することでLEEの発現が顕著に低下するのに対し、LrhAの構成的発現下では*pchB*の転写が大きく上昇しLEEの発現が強く誘導されることを示した。
2. *pchA* および *pchB* の転写調節領域を *lacZ* 構造遺伝子上流に導入したレポータープラスミドを用いた欠失解析により、LrhA による *pchA*, *B* の制御には *pchA* の転写開始点上流-417 から-392、*pchB* の転写開始点上流-389 から-374 が必要であることを示した。
3. DNase I プロテクションアッセイにより、LrhA は *pchA*, *B*, *C* のいずれにおいても転写調節上流域の保存された同一の2箇所 (-385から-361および-313から-280)に結合することが示された。そこは LysR 型転写因子のコンセンサス配列である T-N<sub>11</sub>-A を含んだ逆向き相補配列と重なる部分であった。一方、転写調節下流域の-91 から+10 の *pchA*, *B*, *C* 間で保存性の低い領域への結合部位は3者間で異なっていた。
4. *pchA*, *B*, *C* の転写調節領域の-200 を境とした上流域と下流域間のキメラのレポーターアッセイにより、-200 より下流域の *pchA*, *B*, *C* それぞれの配列が LrhA による制御の特性を規定していることを明らかにした。すなわち-200 より上流は *pchA*, *B*, *C* のいずれであっても、-200 より下流域の配列が *pchA* であれば、ゲノムの *lrhA* を欠失した場合に顕著に転写が減少し、*pchB* であれば LrhA を構成的に発現させた場合に顕著に転写が上昇するが、*pchC* の場合には、LrhA による制御を受けないことを示した。
5. *pchA* と *pchC* の転写調節領域下流域の LrhA 結合領域の中で異なる 9 塩基のうち、-58 のアデニンが LrhA による *pch* の制御に重要であることを示した。

以上、本論文は腸管出血性大腸菌 0157 の病原性遺伝子群 LEE の発現を誘導する EHEC 0157 に特異的に存在する Pch が、大腸菌 K-12 株と共通した LrhA に制御されることを明らかにしたもので、LrhA の新規の転写制御機構および LEE の発現制御の全体像の解明に貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。