

〔別紙2〕

審査の結果の要旨

氏名 安川 淳一朗

申請者は本論文において、黄色ブドウ球菌におけるペプチドグリカン合成におけるメバロン酸合成酵素 MvaA の役割について検討した。黄色ブドウ球菌はヒトにおいて感染症を引き起こす病原性細菌であり、既存の抗生物質に耐性を獲得した株の出現が問題となっている。既存の抗生物質の標的タンパク質とは異なる、黄色ブドウ球菌の増殖に寄与するタンパク質の研究は、耐性を克服する新しい抗生物質の開発に寄与する。温度感受性変異株の単離は細菌の増殖に必要なタンパク質が触媒する反応の生理的意義を理解し、その機能に重要なアミノ酸の同定する上で、極めて有用である。申請者は、黄色ブドウ球菌の温度感受性変異株の温度感受性を抑圧する遺伝子を探索し、*mvaA* 遺伝子の導入によってその温度感受性が抑圧する温度感受性変異株を 3 株得た。

*mvaA* 遺伝子は、黄色ブドウ球菌の HMGCoA レダクターゼをコードする。本酵素は、メバロン酸合成の律速酵素であると考えられる。黄色ブドウ球菌において、メバロン酸から合成されると考えられるイソプレノイドの一種であるイソペンテニルニリン酸 (IPP) は、細胞壁合成に関わるウンデカプレノール、電子伝達に関わるメナキノンやユビキノンを、またカロテノイドの前駆体となる。よって IPP 合成能は細菌の増殖に必要であると推測される。*mvaA* 遺伝子欠損株はメバロン酸添加培地上で増殖できるがメバロン酸非添加培地では増殖できないこと、IPTG 発現制御系を用いて MvaA の発現量を低下させることによって、メバロン酸非添加培地で菌の増殖が悪くなることが報告されている。しかし、黄色ブドウ球菌の MvaA タンパク質がその増殖に寄与する詳細な分子メカニズムは不明である。

申請者は、*mvaA* 遺伝子の 1 アミノ酸置換変異によって黄色ブドウ球菌が温度感受性となることを示した。具体的には、申請者は、これらの株が黄色ブドウ球菌の *mvaA* 遺伝子の導入によりその温度感受性が抑圧されること、*mvaA* 遺伝子中に一アミノ酸置換 (M77I、A335V、C366Y) を導く変異を有すること、一アミノ酸置換を導く変異と温度感受性との間に、ファージトランスダクション法において同時移入性があることを示した。これまでに、遺伝学的解析が盛んに行われている大腸菌や枯草菌が *mvaA* 遺伝子と相同の遺伝子を有していないこともあり、いずれの細菌種においても、*mvaA* 遺伝子の温度感受性変異株が分離された例はなかった。本研究は、初めて細菌の *mvaA* 遺伝子の温度感受性変異株を分離し、細菌の増殖における MvaA タンパク質の重要性を明らかにする道を開く生物材料を得た点で評価される。

次に申請者は、M77I 変異を有する *mvaA* 遺伝子変異株の温度感受性が、培地に HMG-CoA レダクターゼの生成物であるメバロン酸や、ペプチドグリカンの前駆体であるファルネシルニリン酸を添加することにより抑

圧されることを示した。*mvaA* 遺伝子によるペプチドグリカンの前駆体の供給が、黄色ブドウ球菌の増殖に寄与することを示唆する初めての成果である。

さらに申請者は、この *mvaA* 遺伝子変異株の、非許容温度における放射標識された N-アセチルグルコサミンの取り込みでみたペプチドグリカン合成速度は、野生株と比べて低下していることを示した。また、塩やスクロースの添加による高浸透圧条件により、この *mvaA* 遺伝子変異株の温度感受性が抑圧されることを示した。*mvaA* 遺伝子がペプチドグリカン合成に寄与することを実験的に証明したのは本研究が初めてである。*mvaA* 遺伝子がペプチドグリカン合成への寄与によって、黄色ブドウ球菌の増殖に必要であることを示唆する知見である。

さらに申請者は、変異型のリコンビナント MvaA タンパク質を精製し、変異型 MvaA タンパク質の HMG-CoA レダクターゼ活性が低下していることを生化学的に明らかにした。このとき M77I 変異型 MvaA タンパク質と、基質である HMG-CoA および NADPH との親和性は野生型と同程度であることを示した。この結果は、MvaA タンパク質の 77 番目のメチオニンがイソロイシンへと置換することによって、基質との相互作用に影響を与えず酵素活性が低下していることを示唆している。このようなアミノ酸を同定することができたのは、一アミノ酸の置換を導く変異の温度感受性変異株の利点を生かしたことにある。

以上、申請者は、*mvaA* 遺伝子ならびに *mvaA* 遺伝子がコードする HMG-CoA レダクターゼがペプチドグリカンの基質の供給を介して黄色ブドウ球菌の増殖に寄与することを、遺伝学的および生化学的に明らかにした。細菌特異的であり、かつ増殖に必要な構造物であるペプチドグリカンの合成を阻害する化合物は、細菌感染症に対する治療に有用である。しかしながら既存のペプチドグリカン合成阻害剤に対しては耐性菌が出現し問題となっている。本研究の成果により、MvaA タンパク質が、ペプチドグリカン合成の阻害をその作用メカニズムとする、既存の抗菌化合物に耐性を獲得した細菌にも有効な作用標的タンパク質として提案される。本研究によって、申請者は、細菌の HMG-CoA レダクターゼのペプチドグリカン合成への寄与を明らかにし、病原性細菌に対する治療薬の開発に寄与すると期待される重要な知見を示した。よって申請者は、博士（薬学）の学位を受けるに十分な資格を有すると判定した。