

〔別紙2〕

審査の結果の要旨

氏名 沼田 俊介

本研究は、細菌間に広く保存された黄色ブドウ球菌の新規病原性因子 CvfA に着目し、RNA 分解制御を介した病原性制御機構について解析したものである。

黄色ブドウ球菌が産生する細胞溶解毒素である溶血毒素は、肺炎、膿瘍形成やバイオフィルム形成などの、黄色ブドウ球菌によって引き起こされる様々な病態の発現に必要である。従って、溶血毒素産生制御機構を明らかにすることは、黄色ブドウ球菌の病原性制御機構を理解する上で重要である。

当教室におけるカイコ感染モデルを用いた黄色ブドウ球菌の病原性因子のスクリーニングによって、新規病原性因子 CvfA が同定されている。また、黄色ブドウ球菌の *cvfA* 遺伝子欠損株においては、溶血毒素産生促進因子 *agr* 遺伝子座の発現が低下し、溶血毒素産生が低下することが明らかにされている。これらのことから申請者は、CvfA の分子機能の解析を通して新規の病原性制御機構を明らかにできると考えた。

CvfA は RNA の末端修飾酵素であり、3'-環状型 RNA を 3'-リン酸型 RNA に変換する活性を持つ。また、RNA の末端構造の違いがその安定性に影響を与えることが知られている。これらのことから申請者は、CvfA が RNA の安定性制御に関与していると考え、黄色ブドウ球菌の RNA 分解酵素をコードする遺伝子中から *cvfA* の抑圧因子の探索を行った。その結果、*cvfA* 遺伝子欠損株における溶血毒素産生低下が、3'-5'-エキソヌクレアーゼをコードする *pnpA* 遺伝子の欠損によって抑圧されることを見出した。また、*pnpA* 欠損による表現型は野生型 *pnpA* 遺伝子の発現によって相補されるが、RNA 分解活性を失った変異型 *pnpA* 遺伝子の発現によっては相補されないことを示した。これは、CvfA と PnpA が RNA の分解制御を介して溶血毒素産生を拮抗的に制御することを示唆する。

次に申請者は、CvfA が 3'-末端ヌクレオチドの構造変換活性を有し、PnpA が 3'-末端から RNA を分解する活性を有することに着目し、CvfA による 3'-末端ヌクレオチドの構造変換が PnpA による 3'-末端からの RNA 分解に影響を及ぼすと考え、これを *in vitro* の系において検証した。その結果、CvfA によって生成される 3'-リン酸型 RNA は、CvfA の基質である 3'-環状型 RNA に比べて PnpA による分解に耐性であることを示した。これは、CvfA による RNA 3'-末端ヌクレオチドの構造変換が RNA の安定性を規定することを示唆する。

さらに申請者は、*cvfA* と *pnpA* の遺伝学的相互作用が、病原性制御因子である *agr* 及び *sae* 遺伝子座の発現制御を介したものであることを示した。

本研究は黄色ブドウ球菌の新規病原性制御機構を明らかにしたものであり、黄色ブドウ球菌感染症に対する新規治療法の確立に寄与するものである。また、本研究によって提示された 3'-末端ヌクレオチドの構造変換を介した RNA 安定性制御という新規概念は、RNA 分解を介した遺伝子発現制御系の全体像の理解に貢献するものである。以上のことから、本研究は薬学及び基礎生物学に対して大きく貢献するものであり、博士(薬学)の学位に値すると判断した。