

氏名	和田 健男
授与した学位	博士
専攻分野の名称	理学
学位授与番号	博甲第4563号
学位授与の日付	平成24年 3月23日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Nutritional control of the flagellar regulon in <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium and <i>Escherichia coli</i> (サルモネラと大腸菌における鞭毛レギュロンの栄養制御に関する研究)
論文審査委員	教授 沓掛和弘      教授 鎌田堯      教授 高橋卓

### 学位論文内容の要旨

サルモネラや大腸菌の運動器官である鞭毛の形態形成と機能発現には、50個以上の遺伝子の機能が必要である。これらの鞭毛遺伝子は染色体上で少なくとも15個の転写単位（オペロン）を構成しており、これらのオペロンはさらに鞭毛レギュロンとして統合された転写制御を受けている。鞭毛レギュロンは、3つ階層性（クラス1, 2, 3）からなる転写カスケードである。クラス1には *flhDC* オペロンのみが属し、その産物である FlhD<sub>4</sub>C<sub>2</sub> 複合体はクラス2オペロン群の転写アクティベーターとして機能している。

サルモネラと大腸菌は共通性の高い鞭毛遺伝子系をもつが、栄養条件に対する鞭毛形成能の応答は両者で正反対である。すなわち、低栄養下での鞭毛形成は、大腸菌では促進されるのに対して、サルモネラでは阻害される。大腸菌でのこの応答は、クラス1オペロンの転写促進を介している。サルモネラもクラス1オペロンに対するこの転写制御は保持しているが、大腸菌とは異なり、サルモネラのクラス2オペロン群の発現は低栄養下で著しく阻害される。本研究は、両菌における栄養条件に対するクラス2オペロン群の発現応答の違いを、分子レベルで解明することを目的として行われた。

まず、サルモネラにおける低栄養下での鞭毛形成阻害には、非鞭毛蛋白質 YdiV が関与していることを見いだした。低栄養下では *ydiV* 遺伝子の翻訳が促進され、YdiV 蛋白質が細胞内に蓄積することを明らかにした。さらに、YdiV 蛋白質は FlhD 蛋白質に結合し、FlhD<sub>4</sub>C<sub>2</sub> 複合体のアクティベーター活性を阻害するアンチ FlhD<sub>4</sub>C<sub>2</sub> 因子であることを示した。

サルモネラの鞭毛蛋白質 FliZ は、クラス2オペロンの正の調節因子であると考えられてきた。本研究では、*fliZ* 欠損によるクラス2オペロンの発現低下は低栄養下において顕著であり、この発現低下は *ydiV* 欠損によって解除されることを明らかにした。また、*ydiV* 遺伝子の転写は *fliZ* 欠損によって上昇することを示した。さらに、FliZ 蛋白質が *ydiV* 遺伝子の転写に関わるプロモーター付近に結合し、その転写を阻害するリプレッサーであることを明らかにした。以上の結果から、FliZ 蛋白質は YdiV 蛋白質の発現制御を介してクラス2オペロンの調節をしているものと結論した。*fliZ* 遺伝子はクラス2オペロンに属することから、FliZ 蛋白質と YdiV 蛋白質は互いを負に制御するフィードバックループを形成しており、この制御ループが栄養条件に応答して鞭毛の高発現状態と低発現状態とを切り替えるスイッチとして働いているものと考えられる。

一方、大腸菌の *ydiV* 遺伝子は、機能的なアンチ FlhD<sub>4</sub>C<sub>2</sub> 因子をコードしているが、その翻訳が非常に低いことを明らかにした。この YdiV 蛋白質の発現の違いが、低栄養条件に対する鞭毛形成の応答が大腸菌とサルモネラで異なる原因となっているものと考えられる。

## 論文審査結果の要旨

細菌は生育環境の影響を強く受けるので、非常に広範な環境条件に適応して生存するための遺伝子発現調節機構を発達させている。その1つとして、栄養条件に応答した遺伝子発現の包括制御系が知られている。本論文では、サルモネラと大腸菌の鞭毛遺伝子発現調節ネットワーク（鞭毛レギュロン）をモデル系として用い、その栄養制御の機構を解析した成果をまとめたものである。

第1章では、サルモネラの鞭毛レギュロンの発現が低栄養条件下で阻害される機構を解析した。その結果、低栄養条件下で鞭毛レギュロンの発現を抑制する因子として非鞭毛蛋白質である YdiV を同定し、それが鞭毛レギュロンのマスターレギュレーターに結合してアンチアクティベーターとして機能することを明らかにした。また、*ydiV* 遺伝子の翻訳が低栄養条件下で促進されることが鞭毛レギュロンの栄養応答の原因となっていることを明らかにした。第2章では、サルモネラの *ydiV* 遺伝子の転写調節機構を解析した。その結果、鞭毛調節蛋白質として同定されていた FliZ が、*ydiV* 遺伝子のリプレッサーとして機能していることが明らかになった。このことは、YdiV と FliZ の制御ループが栄養条件に応答して細胞の鞭毛形成活性を決定するスイッチとなっていることを示している。第3章では、大腸菌の *ydiV* 遺伝子の発現と機能について解析した。大腸菌はサルモネラと共通性の高い鞭毛レギュロンをもつが、その発現はサルモネラの場合とは異なり、低栄養条件下で阻害されることはない。その原因は、大腸菌の *ydiV* 遺伝子が機能的なアンチアクティベーターをコードしているにも関わらず、その翻訳が低栄養条件下でも促進されないためであることが明らかになった。この違いは、大腸菌とサルモネラの宿主への寄生様式の違いに対応しているものと考えられる。

以上の研究成果は、遺伝子発現の栄養応答に関する新規な機構の発見であり、分子遺伝学分野の発展に寄与し、学術上の貢献が非常に大きいと高く評価される。論文発表会での質疑応答も的確で、申請者の高い学識が認められた。したがって、審査員一同は、本論文が博士（理学）の学位論文に十分に値するものであると判断した。