

氏 名 前田 有紀

学 位 の 種 類 博士 (理学)

学 位 授 与 年 月 日 令和3年3月24日

学 位 論 文 名 大腸菌における DNA 結合タンパク質 YjjJ を介した休眠誘導機構の解明
(Persister formation mechanism mediated with DNA binding protein, YjjJ, in
Escherichia coli)

論文審査委員 主査 教 授 増井 良治

副査 教 授 中村 太郎

副査 准教授 藤田 憲一

副査 准教授 山口 良弘

論文内容の要旨

増殖状態の細菌集団には、非常に低い割合で増殖しない休眠状態の細菌が存在する。休眠状態の細菌は、薬剤などのストレスに強い耐性を示すため医療現場で問題となっている。近年、細菌は自身の生育を調節する toxin-antitoxin (TA) system を有することが明らかとなった。TA system は、自身の生育を抑制する toxin と、これを中和する antitoxin の二つのタンパク質から構成され、ストレス下での生存に重要な役割を果たすと考えられている。大腸菌では、TA system の一つである HipA-HipB TA system が休眠状態への移行に重要である。しかし、*hipAB* の欠損は休眠細菌数に影響しないことから、大腸菌の休眠誘導経路は未だ不明である。本研究では、HipA 以外の休眠誘導タンパク質を探索し、同定されたタンパク質の諸性質を解析することで、大腸菌における休眠誘導機構を解明することを目的とした。

PSI-BLAST を用いて HipA toxin と相同性を持つ YjjJ toxin を同定し、YjjJ が HipB と YjjJ-HipB TA system を構成することを見出した。また、YjjJ は 2 量体を形成し、HipB および HipB-HipA に結合することが示された。YjjJ は N 末端側に DNA 結合ドメインを C 末端側にキナーゼ活性ドメインを有す。これらのドメインと生育阻害活性の関係を調べた結果、YjjJ の毒性には DNA 結合能が重要であることが示された。また、YjjJ が二本鎖 DNA に配列特異的に結合し、コンセンサス配列のモチーフが代謝や細胞分裂に関わる遺伝子のプロモーター部位に存在することを明らかにした。YjjJ による休眠細胞誘導への影響を調べた結果、*yjjJhipA* 欠損株では休眠細胞数が 90% 以上減少した。よって、大腸菌の休眠誘導には *hipA* および *yjjJ* の両 toxin 遺伝子が重要であることが示された。

以上の結果から、通常 HipB によって抑制されている HipA と YjjJ は、ストレス下で HipB の分解により同時に活性化され、HipA によるタンパク質のリン酸化および YjjJ による DNA 結合を介して休眠が誘導されるという新規の "TA system による休眠制御機構" の存在が示唆された。

論文審査結果の要旨

本論文は大腸菌の休眠細胞形成因子として YjjJ を同定し、その性状を解析したものである。本論文では、大腸菌の既知の休眠誘導因子である HipB-HipA toxin antitoxin system において HipA toxin の欠損は休眠に影響しないという事実から、HipA 以外の休眠誘導因子の存在を推測し、探索を行った。その結果、HipA と相同性を持つ YjjJ を同定し、YjjJ が HipB と TA system を構成することを見出した。これは、1つの antitoxin が 2つの toxin とそれぞれ TA system を構成するという新規の制御機構の発見である。さらに、YjjJ は二量体を形成し、HipB および HipB-HipA に結合することを見出した。次に、YjjJ が休眠細胞誘導に与える影響を調べた。その結果、*yjjJhipA* 欠損株では休眠細胞数が 90% 以上減少した。よって、大腸菌の休眠誘導には *hipA* および *yjjJ* の両 toxin 遺伝子が重要であることを明らかにした。そこで、休眠誘導には YjjJ による生育阻害が重要と考え、YjjJ の N 末端に存在する DNA 結合ドメインに着目して、研究を進めた。その結果、生育阻害には DNA 結合能が重要であること、さらに YjjJ が配列特異的に二本鎖 DNA に結合することを見出した。また、DNA 結合のコンセンサス配列モチーフが代謝や細胞分裂に関わる遺伝子のプロモーター部に存在することから、YjjJ の DNA 結合による遺伝子の転写抑制を介して休眠が誘導される可能性を指摘した。

以上のように、本論文では、モデル生物の 1 つである大腸菌の休眠メカニズムの解明を試み、新規休眠因子 YjjJ を同定した。本研究で得られた成果は、生体分子機能学の分野において寄与するところが大きく、博士（理学）の学位を授与するに値すると審査した。