

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 久間 達彦

本研究は、これまでに生理的意義のよくわかっていなかった **rRNA** の化学修飾を担う酵素が細菌の病原性に寄与することを見だし、この酵素が病原性に寄与するメカニズムの解析を通じて **rRNA** の化学修飾の生理的意義の解明を行ったものである。

rRNA はメチル化などの化学修飾を受けることが知られている。このメチル化は **rRNA** 上の特定の塩基において見いだされる。**rRNA** のメチル化が見いだされる塩基は、**rRNA** の機能において重要な位置に集中している。また、**rRNA** のメチル化は生物種間で高度に保存されていることから、**rRNA** のメチル化はリボソームの機能において重要な役割を果たすと考えられてきた。**rRNA** のメチル化を触媒する酵素をコードする遺伝子は主に大腸菌や枯草菌を用いた研究を通して同定されてきた。**rRNA** メチル化酵素をコードする遺伝子は細菌の増殖に必要ではないことから、欠損が可能である。**rRNA** メチル化酵素を破壊した細菌においては増殖が親株と同程度であることや、リボソームの機能が低下、あるいは上昇することなどが明らかとなっている。しかしながら **rRNA** メチル化酵素の欠損株において明瞭な表現型の異常を見いだしたという報告例は乏しく、**rRNA** メチル化の生理的意義についてはよくわかっていなかった。

細菌の病原性発揮においては宿主環境中のストレスに対して抵抗性を示すとともに、適切に遺伝子発現を調節することが必要である。従って病原性細菌学の研究を通してストレス耐性や遺伝子発現調節の理解という分子生物学における研究課題に取り組むことができる。申請者は考えた。そこで、生物種間で保存されながらもその機能について未だ良く理解されていない遺伝子の中から細菌の病原性に寄与するものを探索した。細菌の新規病原性遺伝子を探索する系として申請者は当研究室で確立したカイコ感染モデルを用いた。そしてカイコ感染モデルを用いた病原性遺伝子の探索の結果、申請者は、**rRNA** のメチル化を担う酵素である **RsmH**, **RsmI** をコードする遺伝子の破壊が、黄色ブドウ球菌のカイコに対する病原性の低下を導くことを見いだした。さらに **RsmH**, **RsmI** をコードする遺伝子は黄色ブドウ球菌の **rRNA** の 1412 番目のシチジンのジメチル化に必要であることが **LC-MS** を用いた解析により明らかとなった。また、**RsmH**, **RsmI** をコードする遺伝子は黄色ブドウ球菌において、カイコのみならず哺乳動物に対

する病原性にも寄与していたことから、**rRNA** メチル化酵素が黄色ブドウ球菌の病原性に寄与することが示唆された。

続いて申請者は **rRNA** メチル化酵素が病原性に寄与するメカニズムの解析を行った。申請者は大腸菌において **RsmH**, **RsmI** の欠損が翻訳の忠実性の低下、上昇いずれも含む変化を導くこと、酸化ストレスが翻訳忠実性の低下を導くこと、並びに宿主の生体防御において酸化ストレスが働くことに着目した。そして申請者は黄色ブドウ球菌の **RsmH**, **RsmI** が酸化ストレス存在下における増殖、並びに翻訳忠実性の維持に寄与することを見いだした。さらに、酸化ストレス除去剤の投与により、**RsmH**, **RsmI** 破壊によるカイコに対する殺傷能力の低下が回復した。以上の結果は **RsmH**, **RsmI** が酸化ストレス耐性の向上により、黄色ブドウ球菌の病原性に寄与することを示唆する。

さらに申請者は、**rRNA** メチル化酵素が酸化ストレス耐性を付与するメカニズムの解析を試みた。酸化ストレスの存在下において **RNA** が異常な酸化を受けるという知見に基づき、申請者は **rRNA** のメチル化が **rRNA** の酸化の抑制を介して酸化ストレス耐性を付与すると考えた。**rRNA** のメチル化部位の近傍が酸化ストレス存在下において酸化修飾を受ける程度を測定した結果、メチル化を失った **rRNA** において、メチル化を受けた **rRNA** と比べ、メチル化部位近傍が酸化を受ける程度が上昇していた。さらに、**rRNA** を過剰発現により供給すると、メチル化酵素を破壊した株の酸化ストレス感受性が回復した。以上の結果は、**RsmH**, **RsmI** が **rRNA** を酸化から保護することにより酸化ストレス耐性に寄与することを示唆している。

本研究は、これまでに生理的意義のよくわかっていなかった **rRNA** のメチル化酵素が、酸化ストレス耐性の付与という生理的意義を担うことを解明したものである。酸化ストレスは生物一般に生じるストレスである。従って **rRNA** メチル化の酸化ストレス耐性への寄与は **rRNA** メチル化の生物種間での高度な保存性を説明すると考えられる。さらに、酸化ストレスが様々な疾患に関わること、並びに **rRNA** のメチル化はヒトにおいても保存されていることから、ヒトの疾患との関連を含めた脊椎動物における **rRNA** メチル化の生理的意義の解明が今後期待できる。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（薬科学）の学位に値すると判断した。