

[別紙2]

## 審査の結果の要旨

氏名 石井 雅樹

本研究は、黄色ブドウ球菌の糖尿病宿主に対する新規病原性因子 DdvA に着目し、その因子が触媒する GlcNAc-mal 脱アセチル化酵素反応を介した病原性発揮機構を遺伝学的・生化学的に明らかにしたものである。

黄色ブドウ球菌は糖尿病を罹患した患者に対し、足部潰瘍・心内膜炎・敗血症などの重篤な症状を引き起こす事が知られている。黄色ブドウ球菌の糖尿病宿主に対する病原性発揮機構の理解は感染症の病態を理解し、その予防法及び治療法を開発するために必要である。

当研究室において、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探索系が確立している。また、カイコを用いた糖尿病モデルとして、高血糖カイコモデルを確立している。これら2つのモデルを融合させた、糖尿病状態の宿主に対する黄色ブドウ球菌の病原性因子探索系を用いて、糖尿病宿主に対する新規病原性因子 DdvA、IsdA、GdpS が得られている。申請者は、これらのうち機能未知の DdvA に着目し、研究することで、糖尿病宿主に対する黄色ブドウ球菌の新規病原性発揮機構を明らかにできると考えた。

黄色ブドウ球菌の DdvA のアミノ酸配列は枯草菌の N-acetylglucosamine malate (GlcNAc-mal) deacetylase と 49%の相同性を示す。DdvA が黄色ブドウ球菌の GlcNAc-mal deacetylase であろうと考え、黄色ブドウ球菌 *ddvA* 遺伝子をクローニングし、大腸菌を用いてリコンビナント DdvA を作製し GlcNAc-mal deacetylase 活性を検討した。その結果、黄色ブドウ球菌の *ddvA* 遺伝子破壊株の細胞破碎液で見られなかった GlcNAc-mal deacetylase 活性が、DdvA タンパク質を *ddvA* 遺伝子破壊株の細胞破碎液に添加することで見られた。野生型の DdvA タンパク質を *ddvA* 遺伝子破壊株に発現させると糖尿病モデルカイコに対する病原性の低下の相補が見られた。一方、GlcNAc-mal deacetylase の活性部位である13番目のヒスチジンをアラニンに置換した変異型 DdvA タンパク質を発現させた場合には、病原性の

低下が相補されなかった。これらのことは、DdvA タンパク質が GlcnAc-mal deacetylase として糖尿病宿主に対する病原性に寄与していることを示唆する。

次に申請者は DdvA タンパク質の GlcnAc-mal deacetylase 活性が *ddvA* 遺伝子破壊株の細胞破碎液の添加依存に見られる事に着目し、*ddvA* 遺伝子破壊株の細胞破碎液中に含まれる DdvA タンパク質の相互作用因子の探索および、その因子の GlcnAc-mal deacetylase 活性への寄与を検討した。結果、DdvA タンパク質の相互作用因子として機能未知タンパク質 Dbp を同定した。*dbp* 遺伝子は *ddvA* 遺伝子と同じオペロンに存在することから、DdvA タンパク質と協調的に機能している事が示唆された。また、Dbp タンパク質と DdvA タンパク質の混合液には GlcNAc-mal deacetylase 活性が見られた。さらに申請者は、*dbp* 遺伝子の欠損株が糖尿病モデルカイコに対する病原性が低下している事を示した。これらのことは、Dbp タンパク質が GlcnAc-mal deacetylase 活性に寄与し、糖尿病宿主に対する病原性に寄与することを示唆する。

本研究は黄色ブドウ球菌の糖尿病宿主に対する新規病原性発揮機構を明らかにしたものであり、黄色ブドウ球菌の糖尿病宿主に対する新規予防法および治療法の確立に寄与するものである。以上のことから、本研究は薬学及び分子生物学に対し大きく貢献するものである。

よって本論文は博士（薬学）の学位請求論文として合格と認められる。