

論文審査結果の要旨

氏 名：坂本 明彦

学位の種類：博士 (薬科学)

学位論文名：大腸菌の細胞生存率維持に果たすポリアミンの役割

審査委員 (主査)：柏木 敬子

(副査)：増澤 俊幸

(副査)：榊淵 泰宏

(副査)：福井 貴史

本論文は、生物界に広く存在する細胞増殖因子であるポリアミン (プトレスシン、スペルミジン、スペルミン) の大腸菌における生存率維持に果たす役割解明を目的とした論文である。

ポリアミンは細胞内に mM オーダーで存在し、核酸、中でも RNA と相互作用し、主として蛋白質合成を促進することにより、細胞増殖因子として機能する。ポリアミンは RNA に結合し、構造を特異的に変化させることで特定蛋白質合成を翻訳レベルで促進する。ポリアミンにより翻訳レベルで合成促進をうける蛋白質をコードする遺伝子群は“ポリアミンモジュロン”と命名され、大腸菌で 12 種が同定されている。そのうち 8 種が転写因子であることから、ポリアミンが多く遺伝子発現を調節し、細胞増殖を促進していることが明らかとなった。また、ポリアミン非存在下では定常期の細胞生存率が著しく低下することが見出され、ポリアミンは生存率維持にも大きく寄与することが明らかとなった。定常期に働くポリアミンモジュロンとして、70S リボソームを 100S ダイマーにして保存し、生存率を上げる ribosome modulation factor (RMF) 遺伝子が同定されている。そこで本研究では、定常期において生存率維持に果たすポリアミンの役割を明らかにするため、大腸菌ポリアミン生合成欠損株 MA261 を用い、1) 定常期における新規ポリアミンモジュロンの同定及びその生理的意義の解明、2) ポリアミンによるバイオフィーム形成能及び細胞生存率上昇機序の解明を試みた。

その結果、1) ポリアミン存在下では、定常期において環境応答に重要な緊縮応答因子グアノシン 4 リン酸 (ppGpp) が増加することを見出した。ppGpp 合成調節酵素である SpoT、及び、ppGpp と RNA ポリメラーゼとの相互作用に必要な RNA ポリメラーゼωサブユニットである RpoZ の合成が、ポリアミンにより翻訳レベルで促進され、これらの蛋白質をコードする *spoT* と *rpoZ* をポリアミンモジュロンと同定した。これらの蛋白質を過剰発現するプラスミドを導入したところ、ポリアミン非存在下でも生存率の回復が認められ、これら蛋白質が、生存率維持に働くことが明らかとなった。

2) 細菌は飢餓ストレスにさらされたとき、多糖などで囲まれた細菌の集合体 (バイオフィーム) を形成し、生存率を上昇させるが、このバイオフィーム形成能がポリアミンにより上昇することを見出した。バイオフィーム形成にかかわる転写因子である二成分情報伝達系のレスポンスレギュレーター UvrY 及び CpxR がポリアミンにより、翻訳レベルで合成促進され、これらをコードする遺伝子をポリアミンモジュロンと同定した。また、ribosome recycling factor (RRF) についても検討した結果、RRF もポリアミンにより翻訳レベルで発現促進されることが明らかとなった。UvrY 及び CpxR 過剰発現により、細胞生存率とバイオフィーム形成能が上昇し、RRF 過剰発現により、細胞生存率の上昇が認められた。生存率上昇にはバイオフィーム形成だけでなく、蛋白質合成の質と量の調節が重要であることが示唆された。

本論文は、生化学・病態生化学の礎となる新知見を見出しており、医療・産業応用にも繋がる価値ある博士論文である。

本学教員や学生ばかりでなく、一般にも公開された公聴会を経て、審査委員による口頭試問を行い、坂本明彦君に博士 (薬科学) を授与することが決定された。