



Title	ポストゲノム解析によるA群レンサ球菌の新規菌体表面タンパク FbaA, Lbp, HtpA の同定および機能検索
Author(s)	國友, 栄治
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46400
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 くにともえいじ 國 友 栄 治

博士の専攻分野の名称 博 士 (学 術)

学 位 記 番 号 第 20237 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 18 年 3 月 24 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項該当

歯学系研究科分子病態口腔科学専攻

学 位 論 文 名 ポストゲノム解析による A 群レンサ球菌の新規菌体表層タンパク FbaA、Lbp、HtpA の同定および機能検索

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 大 嶋 隆

(副査)

教 授 森崎市治郎 助教授 岡橋 暢夫 助教授 川端 重忠

論 文 内 容 の 要 旨

近年、*Streptococcus pyogenes* の全ゲノム配列が決定され、種々の遺伝子検索が可能となった。公開されたゲノム情報から、全遺伝子の約3分の1が機能未知であることが明らかとなった。*S. pyogenes* の調節遺伝子 *mga* に続く領域は、宿主への付着および侵入に関与する遺伝子がクラスターを形成し、その下流には機能未知の遺伝子が3つ並んで存在している。本研究では、これらを *fbaA*、*lbp*、*htpA* と命名し、各遺伝子の機能ならびに *S. pyogenes* の病原性に及ぼす影響について検索した。

in silico 解析から、*fbaA* 遺伝子は 355 アミノ酸残基から成る分子量 37.8 k のタンパクをコードすることが示唆された。FbaA の C 末端領域には、グラム陽性菌に共通の細胞壁アンカー配列である LPXTG (ロイシン-プロリン-任意のアミノ酸-トレオニン-グリシン) モチーフが存在し、*Staphylococcus aureus* のフィブロネクチン (Fn) 結合タンパクと相同性を有していた。また、*fbaA* 遺伝子の mRNA の発現は *mga* 遺伝子によって制御されており、*mga* レギュロンの下流に位置していることが明らかとなった。特異的抗血清を用いたウェスタンブロットおよび免疫蛍光顕微鏡観察の結果から、FbaA ならびに Lbp、HtpA が *S. pyogenes* の菌体表層に局在することが明らかとなった。*fbaA* 遺伝子欠失株 TR-6 は野生株 SSI-9 と比較して、Fn 結合能ならびに上皮細胞への付着率および侵入率が低下したことから、FbaA は付着・侵入因子として機能する *S. pyogenes* の新規菌体表層 Fn 結合タンパクであることが示された。

遺伝子データベースを用いた検索結果から、Lbp は 306 アミノ酸残基から成る分子量 34.1 k のタンパクであり、*Streptococcus agalactiae* 由来のラミニン (Lm) 結合タンパクと相同性を有することが示された。*lbp* 遺伝子欠失株 TR-7 は、SSI-9 株と比較して Lm 結合能および上皮細胞への付着率が低下することが明らかとなった。これらの結果から、Lbp は付着因子として機能する *S. pyogenes* の新規 Lm 結合タンパクであることが示された。

htpA 遺伝子は、アミノ酸 825 残基の分子量 92.5 k のタンパクをコードすることが予測された。HtpA は Fn や Lm との結合能を有しておらず、上皮細胞への付着・侵入における影響も認められなかった。しかしながら、HtpA は FbaA や Lbp と比較してマウスへの強い抗原性を有しており、初回免疫のみでも血清中に特異的 IgG 抗体が強く誘導された。また、rHtpA 接種により特異的抗体が誘導されたマウスでは、PBS 接種マウスと比較して *S. pyogenes* 感染後の生存率が有意に高い値を示した。さらに、卵白アルブミン (OVA) を免疫する際に rHtpA を併用すると、OVA 単独

接種の場合と比較して、OVA に対する体液性免疫応答が増強された。これらの結果から、HtpA は強い抗原性とアジュバント活性を有する感染防御抗原として機能することが示唆された。

ゲノムデータベースを活用したモチーフ検索により、これまでの生化学的手法では同定されなかった新規タンパク質を容易に検索できることが示された。また、*mga* レギュロンに続く機能未知の 3 つのオープンリーディングフレームが、それぞれ *S. pyogenes* 菌体表層に発現する新規 Fn 結合タンパク FbaA、新規 Lm 結合タンパク Lbp、感染防御抗原 HtpA であることを明らかとした。

論文審査の結果の要旨

本研究は、A 群レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) の機能未知の 3 つの遺伝子に関してゲノムデータベースを活用し、それぞれの遺伝子の同定およびそれらがコードするタンパク質の機能を分子生物学的・免疫学的手法により検索したものである。新規に同定した *fbaA* 遺伝子と *lbp* 遺伝子は、それぞれ上皮細胞への付着・侵入に関与する新規フィブロネクチン結合タンパク質および付着に関与する新規ラミニン結合タンパク質をコードすること、また *htpA* 遺伝子は強い抗原性とアジュバント活性を併せ持つ感染防御抗原として機能する表層タンパク質をコードすることを明らかにした。また、今回確立した独自のバイオインフォマティクス実験系は、*in silico* で短期間に新規の病原因子を探索できることを示した。

以上のことから、本研究は新規の研究方法を用いて A 群レンサ球菌の新たな病原因子を同定し、微生物学および感染症学の発展に寄与するものであり、博士（学術）の学位授与に値するものと認める。