



Title	The bvg-repressed gene brtA, encoding biofilm-associated surface adhesin, is expressed during host infection by Bordetella bronchiseptica
Author(s)	西川, 明芳
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55824
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	西川 明芳
論文題名 Title	The <i>bvg</i> -repressed gene <i>brtA</i> , encoding biofilm-associated surface adhesin, is expressed during host infection by <i>Bordetella bronchiseptica</i> (気管支敗血症菌のバイオフィーム関連付着因子BrtAの性状解析)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 ボルデテラ属の病原細菌は、宿主に呼吸器感染症を引き起こす。ボルデテラは生育条件によって病原性を可逆的に変化させることが知られている。この病原性の変化は相変換と呼ばれ、細菌の外環境応答機構である二成分制御系に属するBvgASによって制御される。BvgASが活性化し種々の病原因子を発現する状態をBvg⁺相、BvgASが不活性化し病原因子を発現しない状態をBvg⁻相と呼ぶ。Bvg⁺相では宿主感染に重要な病原因子を発現することから、宿主感染中はBvg⁺相として生育していると考えられている。一方、Bvg⁻相で発現する遺伝子 (Bvg⁻遺伝子) は宿主感染時には発現しておらず、Bvg⁻相のボルデテラは宿主外の環境中での生存に適していると考えられている。申請者の所属する研究室では以前にボルデテラ的一种である気管支敗血症菌が、その自然宿主であるラットの気道に感染している際に発現が上昇する細菌側遺伝子を網羅的に同定する方法 (IVET-IP法) を開発した (Abe <i>et al.</i>, 2015)。IVET-IP法の結果、宿主感染中にはBvg⁺遺伝子の他に、Bvg⁻遺伝子も発現していることを明らかにした。申請者は宿主感染中に発現するBvg⁻遺伝子の中から <i>brtA</i> (<i>Bordetella</i> RTX-family Adhesin) と名付けた遺伝子に着目した。<i>brtA</i> 遺伝子にコードされる分子はその構造から、気管支敗血症菌の新たな病原因子と予想された。そこで、本研究では <i>brtA</i> 遺伝子およびBrtAタンパク質の機能と感染時における役割を調べることを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 BrtA抗体を作製しウェスタンブロッティングを行った。その結果、宿主気道への感染中に発現するBrtAは、<i>in vitro</i> の実験系においてBvg⁺相で発現し、菌体外へ分泌されていることが明らかになった。さらに、ラット気道に感染中の菌を用いて定量的RT-PCRとNlucレポーターアッセイを行い、菌の宿主感染時に <i>brtA</i> の発現が真に上昇していることを確認した。次に近傍の遺伝子によるBrtAの発現および分泌機構の解析を行った。近傍の遺伝子の欠損変異体を用いた解析によって、BrtAは <i>brtA</i> 領域の上流に位置する転写因子によってその発現が制御され、I型分泌装置により菌体外へ分泌されることが見出された。また、BrtA抗体による菌を用いた免疫蛍光染色によって、分泌されたBrtAは菌体表面に局在していることがわかった。次に、BrtAの生理的役割を解析するためにBrtA欠損株を作製した。その欠損株を用いた解析によって、BrtAは気管支敗血症菌のBvg⁻相における非生体材料表面への接着とバイオフィーム形成に必須な分子であることが明らかとなった。さらに、この機能にはBrtAの中央付近に位置するVCBS/Cad-likeリピート配列とC末端側に位置するvon Willebrand's factor Aドメインの両方が重要であることがわかった。BrtAの欠損株は野生株と同等にラットの気道に定着した。 〔総括(Conclusion)〕 ボルデテラ研究において、Bvg⁻遺伝子は生体感染時には発現していないと考えられてきた。しかし、本研究結果により、Bvg⁻遺伝子の中にも宿主感染中にも強く発現する遺伝子が存在することが初めて明らかになった。この結果は、BrtAが宿主感染時にBvgASによらない、菌の感染に関わる未知の遺伝子発現機構が働いていることを強く示唆している。また、<i>in vitro</i> の実験系においてBrtAが非生体材料への接着とバイオフィーム形成に関わることが明らかとなった。宿主感染時においてBrtAが何らかの役割を果たしているのかどうかについてはさらなる解析が必要と考えられる。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 西川 明芳		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 堀口 幸 孝
	副 査	大阪大学教授 松浦 善 治
	副 査	大阪大学教授 飯田 哲 也

論文審査の結果の要旨

宿主に呼吸器感染症を引き起こすボルデテラは生育条件によって病原性を可逆的に変化させることが知られている。この病原性の変化は、二成分制御系に属するBvgASによって制御され、BvgASが活性化している状態をBvg⁺相、BvgASが不活性化している状態をBvg⁻相と呼んでいる。既知の病原因子の発現がBvg⁺相で見られることから、宿主感染中の菌はBvg⁺相として生育していると考えられている。一方、Bvg⁻相の菌は宿主外の環境中での生存に適していると考えられており、Bvg⁻相で発現する遺伝子(Bvg⁻遺伝子)は宿主感染中には発現しないというのが定説であった。本論文では定量的RT-PCRやNlucレポーターアッセイによりBvg⁻遺伝子であるbrtA遺伝子が宿主感染時に発現していることを明らかにした。また、免疫蛍光染色によってBrtAたんぱく質が菌体表面に局在していることを示し、BrtAが菌のカルシウムイオン依存的な非生体材料への接着とバイオフィーム形成に必須であることを明らかにした。Bvg⁻遺伝子の中にも感染時に発現する遺伝子が存在することを世界で初めて示した本論文は、ボルデテラ感染において未知の病原因子発現制御機構が存在する可能性を示しており、学位の授与に値すると思われる。