

Title	Two modes of host recognition by bacteriophage T4
Author(s)	鷺崎, 彩夏
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/59515
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

氏 名 (鷲崎彩夏)	
論文題名	Two modes of host recognition by bacteriophage T4 (T4ファージの2つの吸着モード)
<p>論文内容の要旨</p> <p>細菌に感染するウイルスであるバクテリオファージは、薬剤耐性病原菌による細菌感染症に対する治療薬として注目を集めている。しかしながら、ファージは宿主特異性が高いため、治療薬として使うには宿主特異性をコントロールする理論と技術が求められている。吸着の過程はファージの宿主特異性を決定する重要な要因の一つである。私は分子生物学のモデル生物として半世紀以上研究されてきたT4ファージを用いて吸着メカニズムの解析を行い宿主特異性決定機構について理解を深めると共に、宿主域改変を試みた。</p> <p>T4は大腸菌K-12株とB株のみを宿主として増殖する。T4はK-12株に吸着する際、細胞表層に存在するLPSとOmpCの両方をレセプターとして使う。LPSはリポ多糖で、脂質であるLipidAと多糖であるinner core (IC)、outer core (OC)からなる。OmpCは外膜の膜貫通タンパク質である。一方、B株への吸着ではLPSのみをレセプターとして使う。このことはT4にはOmpC依存的な吸着と非依存的な吸着の2種のモードがあることを示唆している。しかし、それぞれのモードについて詳細な解析は行われていない。私はそれぞれの吸着モードに必要なLPSの糖鎖構造について解析した。その結果、OmpC依存的な吸着モードではOCの糖鎖配列に特異性を持たずOmpCと相互作用すること、LPSはco-factorとして働くことが示唆された。一方、OmpC非依存的な吸着モードではOCの糖鎖配列に高い特異性を示し、OCにglucoseのみが側鎖無しで存在する場合のみ、LPSを直接認識して吸着することが明らかになった。さらに、OmpC依存的な吸着が出来ないT4変異体Nik (No <u>i</u>nfection to <u>K</u>-12 strain)、及びOmpC非依存的な吸着が出来ないT4変異体Nib (No <u>i</u>nfection to <u>B</u> strain)の単離と解析からそれぞれの吸着モードに関わるT4のアミノ酸を同定した。先行研究からT4は吸着の時、long tail fiberのhead domainでレセプターと結合すると予想されていたが、本研究より、OmpC依存的な吸着モードではhead domainの側面を使ってOmpCと結合し、OmpC非依存的な吸着モードではhead domainの底面を使ってLPSと相互作用することが明らかになった。</p> <p>T4の宿主改変への試みとして、T4が吸着できない大腸菌で増殖可能な変異体Arl-Rを単離した。Arl-Rは野生型T4が親和性を持たないLPSにも結合することによってOmpC非依存的に吸着できた。さらにArl-Rの変異箇所はT4のlong tail fiberのhead domainの底面と側面の境界からさらに底面側により長く伸びるアミノ酸への置換を伴っていた。このことから、head domain底面への変異導入によりT4の宿主域は改変可能であることが示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (鷲崎 彩夏)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 西田 宏記
	副 査	教授 升方 久夫
	副 査	教授 柿本 辰男
	副 査	特任教授 金澤 浩
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>原核生物に感染するウイルスであるファージは限られた細菌株でのみ増殖が可能である。これを宿主特異性と呼ぶ。宿主特異性を決める最大要因はファージの構成タンパクが細胞表層にあるリセプター分子を認識することによって始まる吸着の過程である。リセプター分子の認識は可逆的な弱い相互作用によって支配されているため、生化学的な解析が困難であり、その実態は半世紀に渡って不明であった。一方、多剤耐性病原菌の出現により、感染症に対する抗生物質の有効性は消失しつつある。この問題に対処するため、ファージを感染症対策に用いるファージ療法が注目され始めた。しかし、汎用性の高い抗生物質に比べ、高い宿主特異性を示すファージを治療に用いるには宿主特異性を自由にコントロールする知識と技術が必要となる。申請者は大腸菌に感染する T4 ファージを用いて、ファージ療法の実用化へ道を開くための基礎であるファージによる宿主リセプター分子の認識機構の解明に取り組んだ。T4 ファージは長い尾部繊維の先端部 (DT) で宿主リセプター分子を認識するが、先行研究からリセプター分子として外膜チャネルタンパクである OmpC とリボ多糖 (LPS) の両方を必要とする OmpC 依存吸着と、LPS のみを必要とする OmpC 非依存吸着の 2 つの吸着モードが示唆されていた。申請者は、LPS の糖鎖合成に関わる酵素を欠失した種々の大腸菌変異体を用いた解析および精製した LPS と T4 ファージの相互作用から、OmpC 依存吸着では DT が認識するのは OmpC であり、OmpC 非依存吸着では DT が認識するのは LPS であることを明らかにした。さらに、2 つのモードの片方を失った T4 ファージ変異体の分離に成功し、これら変異体の解析から OmpC を認識する場合は DT の head domain の周辺部で OmpC の細胞外ループと相互作用すること、LPS を認識する場合は DT の head domain の先端部で LPS の末端に存在するグルコースと相互作用することを強く示唆する結果を得た。また、野生型 T4 ファージが認識できない LPS を認識して吸着できるようになった T4 ファージ変異体の分離にも成功したが、この変異体の DT head domain 構造変化は上述の可能性を支持するものであった。これらの結果から、ファージによる宿主リセプター分子認識の機構が明瞭になったと共にファージ療法の実現化のため宿主特異性をコントロールする方策についての手がかりが得られた。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>		