

氏名	山本 章治
授与した学位	博士
専攻分野の名称	理学
学位授与番号	博甲第3173号
学位授与の日付	平成18年 3月24日
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Molecular mechanism of FljA-mediated repression of the phase-1 flagellin gene in flagellar phase variation of <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium (サルモネラ鞭毛相変異における1相フラジェリン遺伝子のFljAによる抑制機構)
論文審査委員	教授 杓掛 和弘 教授 鎌田 堯 助教授 中越 英樹

学位論文内容の要旨

サルモネラ鞭毛相変異において、FljA蛋白質は1相フラジェリン遺伝子 *fliC* の発現を抑制する。本研究は、FljAによる *fliC* 発現の抑制機構を明らかにすることを目的として行われた。*in vivo* においてFljAは *fliC* 転写にはほとんど影響を与えず、 *fliC* mRNA の分解を促進することが明らかになった。一方 *in vitro* においては、FljAは *fliC* mRNA に特異的に結合するとともに *fliC* の翻訳を抑制したが、 *fliC* mRNA の安定性には影響を与えなかった。このことは、FljAは *fliC* mRNA に結合することで翻訳リプレッサーとして機能するが、 *fliC* mRNA に対する分解活性はもたないことを示している。細菌における主要な mRNA 分解酵素である RNase E の欠損株では、FljAが存在しても *fliC* mRNA の分解促進が見られなかったことから、RNase E がFljAによる *fliC* mRNA の分解に関与しているものと考えられる。FljAによる *fliC* mRNA の翻訳抑制と分解促進の関連性を明らかにするため、人為的に翻訳を阻害した *fliC* mRNA の安定性を解析したところ、この mRNA はFljAが存在しない場合でも著しく不安定であることが示された。この結果は、 *fliC* mRNA は翻訳が阻害されると分解が促進されることを示しており、FljAによる *fliC* mRNA の分解促進は翻訳抑制により引き起こされているものと考えられる。FljAと既知の蛋白質モチーフの間で相同性検索を行った結果、FljAはSm/Sm様RNA結合蛋白質スーパーファミリーに属することが予測された。このことは、FljAが *fliC* 発現の転写後制御因子であることを強く支持するものである。以上の結果を総合し、サルモネラの2相菌においては、FljAは *fliC* mRNA に結合してリボゾームの結合を阻害し、その結果RNase Eによる *fliC* mRNA の分解を促進するというモデルを提案する。

論文審査結果の要旨

サルモネラの鞭毛相変異は、*fliC*と*fljB*の2つの遺伝子の交互発現に起因している。この交互発現の機構は、Hセグメントの逆位による*fljB*発現のon/off制御と、*fljB*遺伝子とオペロンを構成している*fljA*遺伝子の産物による*fliC*遺伝子の発現抑制の二重の制御系である。Hセグメントの逆位の機構は既に詳しく説明されているが、FljAによる制御は、従来より古典的なリプレッサーによる転写抑制であると信じられてきたため、その機構はほとんど解析されてこなかった。本論文は、FljAによる*fliC*遺伝子発現の制御機構を分子レベルで詳細に解析したものである。

まず、*in vivo*における解析から、FljAは*fliC*転写にはほとんど影響を与えないが、*fliC* mRNAの安定性に大きな影響を及ぼすことを明らかにした。この結果は、従来から信じられていたFljAによる*fliC*制御の様式が誤りであることを示している。さらに、FljA存在下での*fliC* mRNAの分解には、RNase Eが関与していることを明らかにした。次に*in vitro*の解析により、FljAは*fliC* mRNAに特異的に結合し、その翻訳を阻害することを明らかにした。したがって、FljAは*fliC*遺伝子の翻訳リプレッサーとして機能していると考えられる。以上の*in vivo*と*in vitro*の結果を結びつける目的で、人為的に翻訳を阻害した*fliC*遺伝子を構築してそのmRNAの安定性を解析することにより、*fliC* mRNAは翻訳が阻害されると速やかに分解されることを明らかにした。以上の結果に基づいて、FljAによる*fliC*抑制は、FljAの*fliC* mRNAへの結合による翻訳阻害と、それによって誘導されるRNase Eによる分解であると結論している。

以上のように、本論文は遺伝子発現制御機構に新知見を与えるものであり、学術上の貢献が顕著であると評価され、博士の学位に値すると結論された。