

## 論 文 内 容 の 要 旨

博士論文題目 Functional analysis of the protein Veg that stimulates biofilm formation in *Bacillus subtilis* (枯草菌のバイオフィルム形成を促進する Veg タンパク質の機能解析)

氏 名 雷 瑛

(論文内容の要旨)

バイオフィルムは、培養液表面や固体上に形成される細菌の集合体であり、細菌が生産する細胞外マトリックスにより細胞が接着されている。枯草菌においては、*epsA-O* オペロンが生産する細胞外多糖及び *tapA-sipW-tasA* オペロン中の *tasA* 遺伝子がコードするアミロイド様タンパク質が、細胞外マトリックスの主要成分である。

本論文では、グラム陽性菌に広く保存されている機能未知タンパク質 Veg が枯草菌のバイオフィルム形成の制御に重要な役割を果たしていることを明らかにした。すなわち、Veg タンパク質は不安定であることを見だし、それを過剰発現させることにより機能を解析することを試みたところ、コロニー形状が変化するという知見が得られた。そのため、個体培地表面上でのバイオフィルム形成、液体培地表面上に形成されるバイオフィルムであるペリクルの形状を評価すると共に、*epsA-O* オペロン及び *tapA-sipW-tasA* オペロン発現の LacZ 解析を行った。その結果、Veg タンパク質の過剰発現はバイオフィルム形成を促進し、逆に *veg* 遺伝子の欠失はバイオフィルム形成を抑制することを明らかにすることができた。

枯草菌におけるバイオフィルム形成は AbrB 及び SinR タンパク質によって制御されており、これらのタンパク質は *epsA-O* 及び *tapA-sipW-tasA* オペロンの発現を抑制する。本論文では Veg タンパク質の過剰発現は *abrB* 欠失株のバイオフィルム形成を回復するが、*sinR* 欠失株の表現系を相補することができず、Veg タンパク質は SinR タンパク質の機能を負に制御することについても明らかにした。さらに、SinR タンパク質のリプレッサー活性は SinI, SlrA, SlrR タンパク質の結合によって抑制されるが、SinR タンパク質過剰発現は、それらの欠失を相補でき、Veg タンパク質は SinR 活性の新たな抑制因子であることを示した。

Veg タンパク質の過剰発現あるいは不活化は SinR タンパク質量を変化させないことから、Veg タンパク質は SinR 活性を制御していると考えられる。しかしながら、Veg と SinR の直接的なタンパク質間相互作用は検出できないことから、Veg タンパク質は SinR タンパク質と相互作用し、その活性を抑制する未知の因子の活性を制御していると考えられる。

## (論文審査結果の要旨)

枯草菌・大腸菌等の細菌研究のモデル細菌は、増殖や遺伝子発現制御の分子機構等の細胞機能の基本的なメカニズムの理解に貢献してきた。加えて、近年、自然環境中での細菌の挙動の背景にある分子メカニズムの研究も盛んになっている。例えば、自然環境中での細菌の生存に大きな役割を果たしているバイオフィーム形成のメカニズムとその制御機構も注目を集めている研究分野である。

申請者は、グラム陽性菌に広く保存されている Veg タンパク質がバイオフィーム形成の新たな制御因子であることを明らかにした。すなわち、Veg タンパク質の過剰発現がバイオフィーム形成を促進し、veg 遺伝子の欠失が抑制することを、コロニー形状の評価及びバイオフィーム形成遺伝子の発現量の解析により明らかにした。そして、既知のバイオフィーム制御系、Abr 系及び SinR 系の内、Veg タンパク質は SinR 活性の制御を介してバイオフィーム形成に関与することを明らかにした。さらに、Veg タンパク質は、SinI, SlrA, SlrR という既知の SinR 制御因子とは独立した新たな制御因子であることを見いだした。そして、Veg タンパク質の発現量は SinR タンパク質量に影響を与えないこと等の知見に基づき、直接的な証明と分子機構の詳細の解明は今後の課題であるが、Veg タンパク質は SinR タンパク質と相互作用し、その活性を抑制する未知の因子の活性を制御していることを提唱した。また、Veg タンパク質は、ファージ遺伝子の発現制御など、バイオフィーム形成過程で SinR 活性の制御以外の機能を果たしていることを示唆する結果も得ている。

このように、本論文は厳密かつ体系的な遺伝学的解析により、Veg タンパク質と既知のバイオフィーム形成制御因子群との関係を明確にしたものであり、細胞増殖制御のロバスト性の理解に意義のある研究であり、基礎生物学の上で重要な結果を得たと評価できる。さらに、バイオフィームは病原細菌の様々な場所での生き残りの主要メカニズムであり、申請者の発見は実用面でも意義のあるものである。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。