

Guanosine 5' -diphosphate 3' -diphosphateと細菌 の細胞分裂

山口, 孝治

<https://hdl.handle.net/2324/1654980>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（医学）, 論文博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

氏 名： 山 口 孝 治

論 文 名：特異な細胞分裂異常を示すサルモネラのメカニズム解析と、Z-ring 形成に Guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate が及ぼす影響

(A study on the elucidation of the mechanisms for aberrant cell division of *Salmonella* and influence of guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate on Z-ring formation)

区 分：乙

論 文 内 容 の 要 旨

1981年吉田らは、*Salmonella Paratyphi A* の臨床分離株である S602 株がアンモニウム塩を含んだ寒天培地上で、分裂が阻害され「フィラメント化」を起こすことを報告した。我々は、この S602 株のフィラメント化のメカニズム解明を目的とし、本研究を行った。まず、フィラメント化した S602 株では、分裂に必須の過程である細胞分裂タンパク FtsZ による分裂部位でのリング形成 (Z-ring 形成) が阻害されていることを明らかにした (図 1)。また、S602 株はフィラメント化しない 3P243 株と比較して、浸透圧ストレスに対して感受性が高く (図 2)、S602 株にはこれらのストレス耐性に重要な σ ファクター S (RpoS) をコードする *rpoS* 遺伝子にナンセンス変異 (C154T) があることを明らかにした。この変異復元株ではアンモニウム塩によるフィラメント化が抑制されたが、3P243 株に S602 株と同様の *rpoS* 変異を起こした株ではフィラメント化が起らなかった (図 3)。よって、S602 株のフィラメント化には *rpoS* 変異以外の原因因子が存在することが明らかとなった。

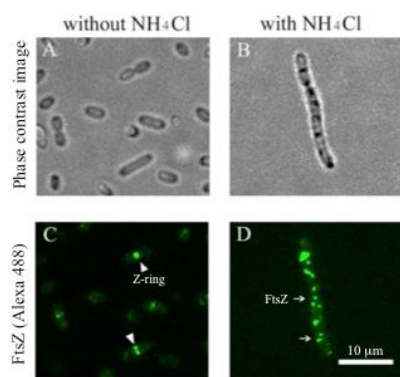


図1. フィラメント化したS602株のZ-ring形成

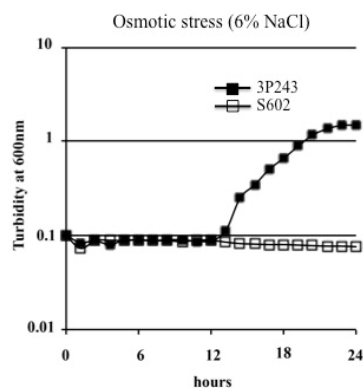


図2. 3P243株とS602株のストレス耐性

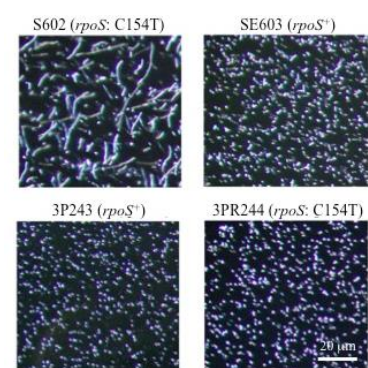


図3. *rpoS* 変異株のフィラメント化

細菌が飢餓ストレスに暴露されると、ストレスに順応するため、リボソーム上で RelA によって ATP と GDP から、guanosine 5'-diphosphate 3'-diphosphate (ppGpp) が合成されることが知られている。実際に S602 株とその関連株の細胞内 ppGpp 濃度を測定したところ、NH₄Cl の添加により S602 株の ppGpp 濃度が低下すること、S602 株は *rpoS* 変異復

帰株よりも ppGpp 濃度が低いことを明らかにした(図 4)。さらに、我々は RelA 過剰合成ベクター(pREL101)や Serine hydroxamate (SHX)添加による細胞内 ppGpp 濃度の上昇が、フィラメント化した S602 株の Z-ring 形成と菌体分裂を促進することを明らかにした(図 5,6)。これらの所見により、S602 株のフィラメント化は、*rpoS* 変異と大量の NH₄Cl による細胞内 ppGpp 量の低下によって起こる Z-ring 形成阻害が原因であることが示唆された。

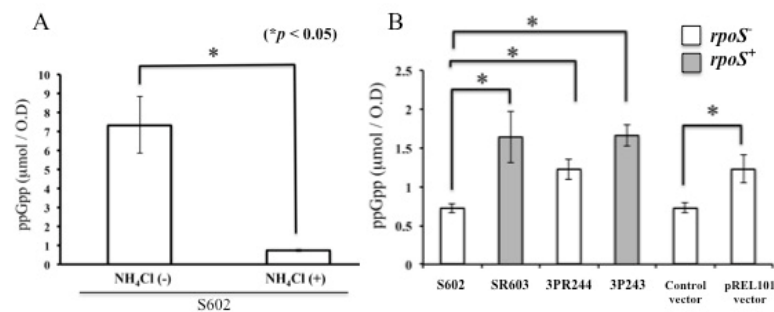


図4. 細胞内ppGpp濃度に対するNH₄Clと*rpoS*変異の影響

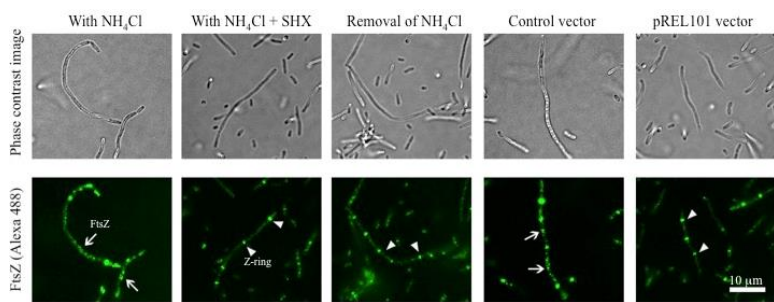


図5. 免疫染色によるフィラメント化したS602株のFtsZ染色

一方で RelA を過剰合成することにより 3P243 株の細胞内 ppGpp 濃度を上昇させた株では、Z-ring 形成阻害による増殖抑制が起こった(図 7)。さらに *in vitro* で FtsZ タンパクを GTP とともにインキュベートした場合、直線状の FtsZ の集合体を形成することが知られているが、ppGpp とともにインキュベートすると、GTP の場合とは明らかに異なるらせん状の集合体が形成された(図 8)。また、GTP との結合能力が低下した変異型 FtsZ(N207C)では、GTP だけではなく、ppGpp による集合体形成も抑制され、さらに ppGpp によるらせん状の FtsZ 集合体は GTP を加えても直線上に変化することなく、らせん型を維持することが明らかとなった(データ非掲載)。これらの結果から、ppGpp は GTP との競合作用により、Z-ring 形成阻害を起こすことが示唆された。

本研究の結果は、正確な細胞分裂には適正な細胞内 ppGpp 濃度が必要であることを示唆するものであり、これまで報告のない、細菌の新たな分裂機序と生存戦略の解明につながるものと考えられる。

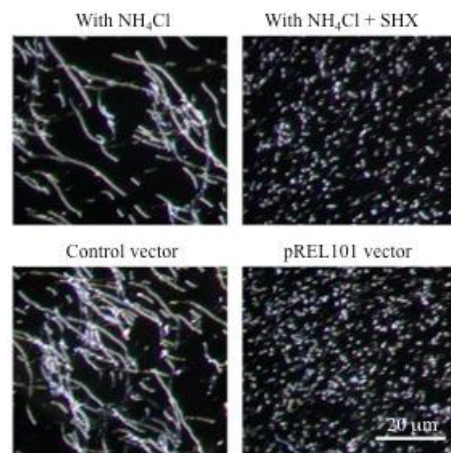


図6. ppGpp合成の促進とフィラメント化との関係

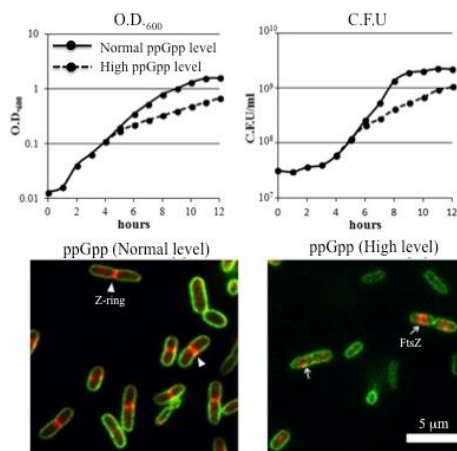


図7. ppGpp過剰合成による増殖阻害とZ-ring形成阻害

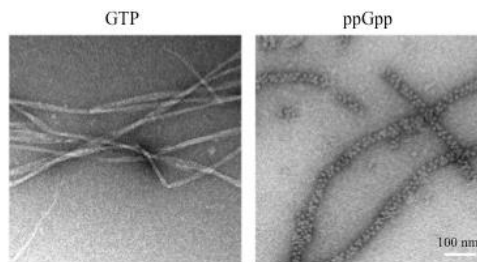


図8. *In vitro*におけるFtsZの集合体形成