九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Biochemical characterizations of a RelE/ParE superfamily toxin in Vibrio parahaemolyticus

张, 晶

https://doi.org/10.15017/1866256

出版情報：九州大学, 2017, 博士（システム生命科学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：

KYUSHU UNIVERSITY

（様式６－２）

氏　　名	張　晶
論　文　名	Biochemical characterizations of a RelE/ParE superfamily toxin in *Vibrio parahaemolyticus*（腸炎ビブリオ由来RelE/ParEスーパーファミリートキシンの生化学的解析）
論文調査委員	主　査　　九州大学　　教授　　角田 佳充 副　査　　九州大学　　准教授　　片倉 喜範 副　査　　九州大学　　准教授　　田代 康介

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

本論文では、腸炎ビブリオゲノムが含むスーパーインテグロン（SI）内に見出されたトキシン／アンチトキシン（TA）システム・*vp1842/vp1843* の生化学的性質を明らかにするとともに、その生理機能について考察している。

トキシン・Vp1843 はそのアミノ酸配列の類似性より、タンパク質合成阻害活性や DNA ジャイレース阻害活性を持つ RelE/ParE スーパーファミリートキシンに分類されている。まず、Vp1843 の生理活性を検討したところ、RelE/ParE スーパーファミリートキシンとは異なり、DNA の一本鎖を切断する DNA エンドヌクレアーゼ活性を持つことを見出している。続いて、その酵素化学的性質を検討した結果、Vp1843 は２価金属イオン依存的で、$Mn^{2+} > Mg^{2+} > Ca^{2+}$の順に強い活性を示し、その活性は基質特異性を示さず、10℃～55℃の広い温度範囲で活性を示すこと、また、Vp1843 の Lys37 と Pro45 が DNA エンドヌクレアーゼ活性に重要であることを示している。

次に、TA システム・*vp1842/vp1843* の腸炎ビブリオの特徴である“生きているが培養できない”（VBNC）状態移行への関与について検討している。相同組換え法を用いて、腸炎ビブリオゲノムから *vp1842/vp1843* を欠失した変異株（Δ*vp1842/vp1843*）を作製し、低温および低塩濃度（10℃、1.85% NaCl）条件下で VBNC への移行を検討している。その結果、変異株は野生株と同様に約 10 日間で VBNC へ移行したことから、*vp1842/vp1843* は VBNC への誘導には関与していないことを示唆している。続いて、*vp1842/vp1843* の生理的機能について情報を得るため、*vp1843* を大腸菌内で発現させ、その表現型を蛍光顕微鏡とフローサイトメトリーにより検討している。その結果、*vp1843* が発現されると、大腸菌の増殖が著しく阻害され、その形態がフィラメント状に変化するとともに、ゲノム DNA が断片化されることを見出している。この結果と Vp1843 の活性を考慮して、大腸菌内で発現した Vp1843 はゲノム DNA を切断することにより、結果として細胞死をもたらしたと推定している。

以上の結果と *vp1842/vp1843* が機能未知遺伝子を多く含む薬剤耐性可動因子の祖先と推定されている SI に位置している。このことより、腸炎ビブリオ TA システム・*vp1842/vp1843* は、通常のゲノム上の TA システムとは異なり、プラズミド上の TA システムと同様に、SI に欠失や傷害が生じた際にトキシン Vp1843 が活性化され、腸炎ビブリオに細胞死を誘導することにより、SI の安定維持に関与していると考察している。

以上の結果は、腸炎ビブリオ由来トキシン・Vp1843 の酵素化学的性質を明らかにするとともに、SI に位置している TA システム・*vp1842/vp1843* の生理的機能について考察したもので、酵素化学および細胞生物学の分野において価値ある業績であると認められる。

よって、本研究者は博士（システム生命科学）の学位を受ける資格があるものと認める。