

氏名	SYED ZAFAR SULTAN
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第3269号
学位授与の日付	平成18年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科生体機能科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Presence of <i>Vibrio harveyi</i> -like quorum-sensing system in <i>Vibrio mimicus</i> : LuxO controls protease activity (ビブリオ・ミミカスが備えるビブリオ・ハーベイ様のクォーラム・センシング系)
論文審査委員	教授 三好伸一 教授 土屋友房 教授 岡本敬の介

学位論文内容の要旨

Vibrio mimicus is a potential enteric pathogen, which is sometimes reported to cause diarrhea. The *V. mimicus* isolates were examined for the possession of quorum-sensing regulation system with a view to study the possible role of quorum-sensing in controlling expression of the virulence factor of the species.

Presence of a quorum-sensing signal similar to autoinducer-2 (AI-2) of *V. harveyi* was detected by an autoinducer bioassay method. Subsequently presence of genes encoding three important proteins, known as LuxS, LuxO and LuxR, of the AI-2 based quorum-sensing network were detected by PCR and sequencing.

In order to study the role of AI-2 autoinducer, the *luxS* gene that encodes for LuxS, the AI-2 autoinducer synthase, was inactivated by insertion mutation. The mutation resulted in the reduction of the autoinducer activity but the activity could not be eliminated completely. This result indicated for the possible presence of additional signaling system.

As the possible presence of more than one signaling system had appeared, the central response regulator protein LuxO were targeted for interrupting the quorum-sensing system to understand the role of the system. The *luxO* gene that encodes for the LuxO protein was then inactivated and their effects on the expression of protease and hemolysin activity were studied. The *luxO* mutant was found to produce significantly higher level of protease. Therefore the detected quorum-sensing system of *V. mimicus* was found to control the protease activity of the species. But the system seemed to have no control over the hemolysin activity of the species.

Altogether, it is evident from the research that *V. mimicus* possesses functional quorum-sensing system that might take part in the regulation of expression of several virulence factors of the species.

論文審査結果の要旨

Vibrio mimicus は水様性下痢を主症状とする急性胃腸炎の起因菌であり、わが国では食中毒原因菌に指定されている。この細菌は種々の毒素を産生するが、その中でも下痢毒活性を有する溶血毒素、ならびに細菌細胞の付着や脱離に関与する金属プロテアーゼが重要であると考えられている。本論文では、これらの毒素の産生が調節される仕組みについて、細菌密度と関連付けて研究を行っている。まず類縁の細菌が保有する遺伝子の塩基配列に基づいたPCRによって、*V. mimicus* が LuxSOR の三つの因子から構成される菌密度依存性の遺伝子発現調節系 (QS 系) を備えていることが示された。次に QS 系を構成する因子の機能について検討したところ、LuxS は期待されたとおり、QS 系による遺伝子発現調節のトリガーとなるシグナル分子 (AI) を合成する酵素であることが明らかとなった。しかし、LuxS の遺伝子を破壊した変異株においても十分量の AI が産生されたため、他のシグナル分子の存在が強く示唆された。一方、QS 系における中心的調節蛋白質としての機能が予想された LuxO は、はたして金属プロテアーゼの産生を抑制した。しかしながら溶血毒素の産生は、この調節蛋白質の支配を受けていなかった。

以上のように、本論文は *V. mimicus* に備わっている毒素の産生調節機構について、数多くの新規知見を提供している。これらの知見は *V. mimicus* の病原能力の人為的な制御を可能とするものであり、ひいては本菌胃腸炎に対する適切な対策手段の確立へと繋がるものである。したがって、学位論文に相応しいものであると判定した。