

Form 7

(For Official Use Only)		(For Official Use Only)	
報告番号		① ② 修 第 23 号 乙	
Dissertation Abstract			
Name	(Last) PHAN	(First) QUANG	(Middle) NGOC
Title	DNA-binding protein HU coordinates pathogenicity in <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (DNA 結合タンパク質 HU は、腸炎ビブリオの病原性を制御する因子である)		
<p>HU protein is one of the most abundant nucleoid-associated proteins in bacterial cell. The HU protein regulates many genes expression involved in growth, motility, metabolism, and virulence. However, it is unclear that a role of the HU protein on pathogenicity of <i>Vibrio parahaemolyticus</i>. Pathogenicity of <i>V. parahaemolyticus</i> is related to character of its rapid growth. Moreover, a type III secretion system 1 (T3SS1) contributed to its cytotoxicity. The T3SS1 genes is controlled by a positive regulator, ExsA, and a negative regulator, ExsD. In the present study, we investigated that distinct function of HU proteins, namely HU-2 (vp2911) and HUβ (vp0920), on the pathogenicity of <i>V. parahaemolyticus</i>. Here, we demonstrated that a double HUs mutant strain (<i>Δvp0920Δvp2911</i>; ΔHUs), but not each single mutants showed a reduced growth rate compared with the wild-type (WT). In addition, expression levels of T3SS1 related genes, including <i>ExsA</i>, <i>ExsD</i>, <i>vp1680</i> (cytotoxic effector), and <i>vp1671</i> (T3SS1 apparatus), were reduced in the ΔHUs compared to the WT. As a result, cytotoxicity to HeLa cells was decreased in the ΔHUs. We also revealed that additional deletion of <i>ExsD</i> with the ΔHUs restored in expression levels of the T3SS1 related gene and a cytotoxicity but not in a growth rate. These results indicated that the HU protein indirectly regulates expression levels of T3SS1 genes and cytotoxicity in growth rate independent manner.</p>			

論文審査の結果の要旨	
報告番号	甲栄第 23 / 号 氏名 PHAN NGOC QUANG
審査委員	主査 酒井 徹 教授 副査 三宅 洋一郎 教授 副査 原田 永勝 講師
題目	DNA-binding protein HU coordinates pathogenicity in <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (DNA 結合タンパク質 HU は、腸炎ビブリオの病原性を制御する因子である)
著者	Ngoc Quang Phan, Takashi Uebanso, Takaaki Shimohata, Mutsumi Nakahashi, Kazuaki Mawatari and Akira Takahashi
	2015年9月発行. Journal of Bacteriology 第197巻第18号 2958~2964 ページに発表済
要旨	<p>様々な菌において DNA 結合タンパク質 HU は、増殖、分裂、運動、代謝などに関与する遺伝子の発現を制御することが報告されている。特に細胞増殖速度や病原因子の発現制御に関与することが報告され、結果として病原性に影響を与えることが推測されている。一般に細菌の病原性は、個々の細菌が持つ病原因子の作用と細菌数の2つが主要な制御因子であると考えられているが、HU が細菌の病原性に影響を及ぼす具体的機序は明確ではない。そこで本研究は、HU が腸炎ビブリオの細胞毒性を制御する機構について検討したものである。</p> <p>本研究では食中毒原因菌であり増殖速度の速い腸炎ビブリオを指標菌として用いた。腸炎ビブリオの病原性は、大きく腸管毒性作用と細胞毒性作用に分けることができる。より作用機構が明確である細胞毒性に焦点を当て、HU の影響を検討した。</p> <p>腸炎ビブリオは、HU-2 (vp2911) と HUβ (vp0920) の2つの HU を持っている。HU-2 と HUβ それぞれの単独欠損株は、野生株と比較して細胞増殖や病原性に変化がなかった。しかし、両遺伝子を欠損した株 (Δ HUs) では、細胞増殖速度が低下し HeLa 細胞に対する細胞毒性も低下した。</p> <p>腸炎ビブリオの細胞毒性作用はIII型分泌機構 1 (T3SS1) の機能に依存しており、T3SS1 の発現は正に制御する ExsA と負に制御する ExsD により調節されていることが報告されている。Δ HUs では、T3SS1 の遺伝子発現が低値を示した。この Δ HUs においてさらに ExsD を欠損させると、T3SS1 の遺伝子発現が増加し、細胞増殖速度は回復しなかったが細胞毒性は回復した。このことから、Δ HUs で認められた細胞毒性の低下は、主に T3SS1 遺伝子発現の減少により生じていると考えられた。</p>

またΔ HUs では、ExsA と ExsD の発現が共に低下した。この状態でさらに ExsD を欠損させることにより T3SS1 発現を変化させることができたことから、ExsA と ExsD による T3SS1 発現制御機構と HUs による T3SS1 発現制御機構は、一部お互いに独立したものであると推測された。

以上の研究は、食中毒原因細菌の病原性制御機構の一端を明らかにしたものであり、細菌性食中毒を効果的かつ安全に制御する方法の確立に繋がると考えられ、博士(栄養学)の学位授与に値するものと判定した。