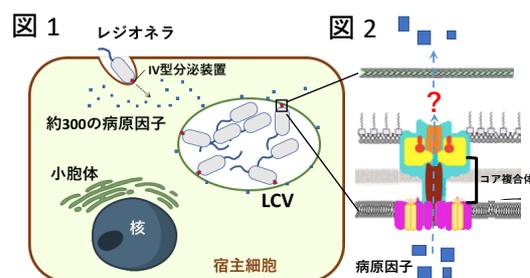


女性研究者支援 研究助成 2018 – 感染症領域 –
研究成果報告書（公表用） <概要>

所 属	岐阜大学大学院医学系研究科・病原体制御学分野
氏 名	北尾 公英
研 究 テーマ	病原因子を輸送中の IV 型分泌装置を可視化する - レジオネラ感染機序の解明

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。（図表、写真などの添付を含む）

【背景・目的】 重篤な肺炎を引き起こすレジオネラは、温泉などにおいて高頻度に分離されるグラム陰性細菌である。本菌は IV 型分泌装置（T4SS）を介して約 300 もの病原因子を宿主細胞に輸送することにより宿主細胞内で液胞（LCV）を構築し感染を確立する（図 1）。T4SS が機能しないレジオネラは宿主細胞内で感染を確立することができないため、T4SS は新規レジオネラ感染症治療薬開発における有力な標的候補である。しかしながら、感染時に T4SS がどのように宿主細胞と接点を持ち、膨大な数のエフェクターを輸送しているのかについては全く分かっていない（図 2）。本研究では、感染条件下において T4SS がどのように病原因子を輸送するのかを「可視化」することにより、稼働状態にある T4SS がどのように機能しているのかを明らかにすることを目的とした。



【研究成果 1】 T4SS を病原因子で詰まらせる実験系の確立

サルモネラ III 型分泌装置やアグロバクテリウムの DNA 接合伝達系は、折りたたみ構造が強固なタンパク質をほどいて輸送することができない。この特徴をレジオネラの T4SS 研究に応用できないかと考え、レジオネラ感染において重要な役割を担っている 4 つの病原因子に折りたたみ構造が強固なタンパク質タグを付与し、これらが T4SS に詰まるかどうかを検討した。その結果、病原因子 C と D はタグを付与しても宿主に輸送される一方で、病原因子 A と B はタグの付与によって宿主に輸送されなくなることが分かった。本結果は病原因子 A と B がタグの付与により T4SS に詰まっている可能性を強く示唆していた。

【研究成果 2】 稼働中の T4SS を可視化

タグを付与した病原因子 B を過剰発現させたレジオネラを宿主細胞に感染させ、病原因子 B の局在を調べた結果、レジオネラの極に集積した病原因子 B を確認した。T4SS はレジオネラの極に局在することが知られていることから、病原因子が詰まっていることが強く示唆された。また、宿主細胞からレジオネラ（LCV）を丸ごと単離し、ネガティブ染色を行い、電子顕微鏡下で観察したところ、これまでに誰も確認したことがないニードル様構造物がレジオネラの極に存在することを確認することができた。

【今後の展望】 今後は病原因子が詰まった T4SS の高解像度イメージの取得を試みる。また、感染条件から T4SS を単離し、超分子構造を構成するタンパク質の同定も試みる予定である。感染条件において確認されたニードル様構造は、これまでに報告のある非感染状態のレジオネラにおいて観察された T4SS の部分構造とは全く異なる。今後、この構造物が T4SS であることを証明できれば、レジオネラ T4SS は感染によって形成が誘導されることを提唱することができる。その科学的インパクトは大きい。

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 国内外を問わない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020年11月	Tomoe Kitao, Kyoichiro Taguchi, Shintaro Seto, Kohei Arasaki, Hiroki Ando, Hiroki Nagai H, Tomoko Kubori 発表演題: <i>Legionella</i> manipulates non-canonical SNARE pairing using a bacterial deubiquitinase (オンライン口頭発表)
2	2020年2月	第93回日本細菌学会総会 (シンポジウム) 北尾公英、永井宏樹、久堀智子 発表演題: 細菌の病原性制御システム (口頭発表)
3	2019年12月	第42回日本分子生物学会年会 (ワークショップ) 北尾 公英 発表演題: 細菌を殺さずに制御する (口頭発表)
4	2019年10月	第56回日本細菌学会中部支部総会 北尾公英、田口馨一郎、瀬戸真太郎、新崎恒平、安藤弘樹、永井宏樹、久堀智子 発表演題: 宿主 SNARE pairing を操作するレジオネラエフェクターの解析 (口頭発表)
	2019年9月	第92回日本生化学会 (シンポジウム) 北尾 公英 発表演題: 細菌を黙らせて治す: 薬剤耐性を生まない細菌感染症治療の試み (口頭発表)
	2019年7月	Gordon Research Conference - Microbial Adhesion and Signal Transduction Tomoe Kitao, Kyoichiro Taguchi, Shintaro Seto, Kohei Arasaki, Hiroki Ando, Hiroki Nagai, Tomoko Kubori 発表演題: <i>Legionella</i> manipulates non-canonical SNARE pairing by the function of a bacterial deubiquitinase (ポスター)
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		