

ふりがな氏名	あそう ゆき 麻生 由樹
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 956 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 3 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Intermembrane rhomboid protease activity of <i>Rothia mucilaginosa</i> (膜内ロンボイドプロテアーゼ活性の解析)
学位論文掲載誌	World Journal of Advanced Research and Reviews 第 17 巻 第 1 号 令和 5 年 1 月
論文調査委員	主査 前田 博史 教授 副査 山本 一世 教授 副査 梅田 誠 教授

論文内容要旨

Rothia mucilaginosa は、口腔内細菌叢の常在菌であり、歯内療法の病原体として認識されている。また、免疫不全者における新たな日和見主義の病原体としても知られている。本研究では、*R. mucilaginosa* の病原性因子候補として、ロンボイドプロテアーゼを同定することを目的とした。データベース検索の結果、ゲノム上に 2 つのロンボイド遺伝子が同定され、それぞれ 828 bp と 822 bp のオープンリーディングフレームから構成されていることが確認された。2 つの遺伝子の間隔は 57bp であり、この 2 つの遺伝子はパイシストロンオペロンを構成していることが示唆された。アミノ酸配列から、ロンボイドファミリーのタンパク質に保存されたモチーフ (HxxxN、GxSG、GxxxG) が見出された。小麦胚芽無細胞翻訳系を用いて、2 つのロンボイド因子とロンボイド因子/リボソーム複合体 (プロテオリポソーム) のリコンビナントを調製し、セリンプロテアーゼ活性を評価した。2 つのロンボイドはロンボイド/リボソーム複合体の形でセリンプロテアーゼ活性を示したが、組み換えロンボイド単独ではほとんど反応性が見られなかった。宿主侵入を想定し、*R. mucilaginosa* を I 型コラーゲンを含む培地で培養し、ロンボイドの mRNA レベルを調べたところ、ロンボイドの mRNA レベルは、1.5 倍であった。リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法により、統計的有意性は認められなかったが、2 つのロンボイドの mRNA はタイプ I コラーゲンを含む培養条件下でわずかに増加することが明らかになった。

これらの結果から、*R. mucilaginosa* は膜上でプロテアーゼ活性を示す 2 つの活性型ロンボイドを有しており、2 つのロンボイドは宿主の環境条件に応じた病原性因子となる可能性があることが示唆された。

論文審査結果要旨

Rothia mucilaginosa は、口腔内細菌叢の常在菌であり、歯内療法の病原体として認識されている。本研究では、*R. mucilaginosa* の病原性因子候補として、ロンボイドプロテアーゼを同定することを目的とした。データベース検索の結果、ゲノム上に 2 つのロンボイド遺伝子が同定され、それぞれ 828 bp と 822 bp のオープンリーディングフレームから構成されていることが確認された。2 つの遺伝子の間隔は 57bp であり、この 2 つの遺伝子はバイシストロンオペロンを構成していることが考えられた。アミノ酸配列から、ロンボイドファミリーのタンパク質に保存されたモチーフ (HxxxN、GxSG、GxxxG) が確認できた。小麦胚芽無細胞翻訳系を用いて、ロンボイド因子とロンボイド因子/リポソーム複合体 (プロテオリポソーム) の 2 つのリコンビナントを調製し、セリンプロテアーゼ活性を評価した。2 つのロンボイドはロンボイド/リポソーム複合体の形でセリンプロテアーゼ活性を示したが、組み換えロンボイド単独ではほとんど反応性が見られなかった。宿主侵入を想定し、*R. mucilaginosa* を I 型コラーゲンを含む培地で培養し、ロンボイドの mRNA レベルを調べたところ、ロンボイドの mRNA レベルは、1.5 倍であった。リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法により、統計的有意性は認められなかったが、2 つのロンボイドの mRNA はタイプ I コラーゲンを含む培養条件下でわずかに増加することが明らかになった。

以上、*R. mucilaginosa* は膜上でプロテアーゼ活性を示す 2 つの活性型ロンボイドを有しており、2 つのロンボイドは宿主の環境条件に応じた病原性因子となる可能性があることを証明した点において、本論文は博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した。