

学生優秀発表賞受賞者：猪野 楓 演題番号 058

人畜共通病原細菌 *Edwardsiella tarda* の新規タイプ III エフェクター ORF13 の機能解析

猪野 楓*¹ 竹内 佑介*² 安田 仁*¹
末澤 千草*¹ 中井 敏博*² 奥田 潤*^{1§}

I. 研究の概要

【目 的】

Edwardsiella tarda は腸内細菌科に属するグラム陰性細菌であり、特に魚類への病原性を特徴とした広い宿主域を有する人畜共通病原細菌である。*E. tarda* の病原因子の一つとしてタイプ III 分泌機構 (TTSS) を介した食菌抵抗性や上皮細胞への侵入・細胞内増殖性が知られている。今回我々は、*E. tarda* の TTSS 遺伝子クラスター内の 9 つの機能未知遺伝子の中から *E. tarda* の細胞内増殖性と病原性に必須な遺伝子を特定し、さらにその機能解析を試みた。

【方 法】

① 9 つの機能未知遺伝子変異株を用いたマウスマクロファージ食菌抵抗性試験、HEp-2 上皮細胞内侵入・増殖性試験、ゼブラフィッシュへの病原性試験を行った。② 細胞内増殖性やゼブラフィッシュへの病原性に必須であった機能未知遺伝子 *orf13* に着目し、ORF13 と結合する宿主タンパク質をマウス脳 cDNA ライブラリーから yeast two-hybrid 法 (Y2H) により探索した。③ Y2H で得られた宿主因子の中から、アポトーシス制御因子 Cugbp2 に着目し、GST pull-down アッセイを行った。④ TTSS 誘導条件下における ORF13 の培養上

清中への分泌確認を行った。

【結果と考察】

① TTSS 遺伝子クラスター内の機能未知遺伝子それぞれを失活させた変異株 9 つで比較した結果、本菌の細胞内増殖性とゼブラフィッシュへの病原性に必須な遺伝子は *orf19*, *orf13*, *orf2*, *orf29*, *orf30* であり、その中で *orf13* に着目した。② Y2H で ORF13 はセレクトグラニン II、ダイナミン I、Cugbp2、Ena-VASP の 4 つの宿主タンパク質と相互作用することを発見した。その中で Cugbp2 は実際に ORF13 と C 末端領域で結合した。③ ORF13 は TTSS 依存的に培養上清中に分泌された。以上の結果から、本菌は ORF13 を TTSS 依存的に宿主細胞内に分泌することが考えられた。Cugbp2 がもつ生理機能はアポトーシスの誘導であることから、ORF13 は Cugbp2 との結合を介して宿主のアポトーシス活性を修飾し、その結果、本菌が宿主細胞内での増殖性を獲得している可能性が示唆された。

II. 受賞の感想

この度は、第 11 回日本臨床検査学教育学会学術大会において、優秀発表賞という栄誉ある賞をいただき、大変誇りに思います。本学会に参加したことで、臨床検査学分野における見聞をより広げ

*¹ 香川県立保健医療大学保健医療学部臨床検査学科 § okuda@chs.pref.kagawa.jp

*² 広島大学大学院生物圏科学研究科

ることができ、また演題発表の際には諸分野の先生方から有意義な意見を伺うことができました。この貴重な機会および本賞を与えてくださった皆様に厚く御礼申し上げます。

III. 将来への抱負

私は本研究を通して分子生物学を中心とした研究活動への興味や奥深さを感じることができまし

た。今後はこれまでの研究をより掘り下げ、ORF13の更なる解析やその他の機能未知遺伝子の病原性発現メカニズムを解明していきたいと考えています。

受賞を励みにして、より一層研究に取り組み、高度な技術・知識の習得を目指していきたいと思えます。