

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

報告番号	博(歯)甲第134号	氏名	佐藤 啓子
論文審査担当者	主査教員 副査教員 副査教員	中山 浩次 根本 孝幸 藤原 卓	
論文審査の要旨			
<p>佐藤啓子は、平成11年3月九州大学歯学部を卒業した後、同年4月に歯科医師国家試験に合格した。平成13年4月より長崎大学大学院歯学研究科博士課程に入学して、歯学を専攻した。定められた期間に主科目として口腔免疫・感染症学特論、副科目として歯周病学特論を履修したほか、必修科目として1科目、選択科目7科目を履修し、合計36単位を取得した。所定の単位取得後、平成16年5月13日、学位論文の基礎となる研究要旨及び経過を、歯学研究科が主催した研究経過報告会で発表した。また、歯学研究科が行う語学試験(ドイツ語)には、平成16年9月14日に実施した筆記試験で合格した。学位論文の主論文として「Identification of a new membrane-associated protein which influences transport/maturation of gingipains and adhesins of <i>Porphyromonas gingivalis</i>」(Journal of Biological Chemistry; in press)を歯学研究科長に提出し、博士(歯学)の学位を申請した。</p> <p>歯学研究科教授会は、これを平成17年1月19日の定例教授会に付議し、論文の内容の要旨ならびに申請の資格等を検討した結果、受理して差し支えないものと認めたので、3名の審査委員を選定した。審査委員は、共同で論文の内容を慎重に審査し、平成17年2月2日申請者から研究内容の報告を受けた後、試問を行い、論文審査の結果ならびに最終試験の結果を平成17年2月16日の歯学研究科教授会で報告した。</p> <p>主論文の内容は以下の通りである。</p> <p>歯周病の主な病原細菌に <i>Porphyromonas gingivalis</i> が知られている。本菌が菌体表面あるいは菌体外に分泌する強力なプロテアーゼ (Kgp と Rgp) は本菌の線毛など、他の病原因子の成熟化にも関わっており、重要な病原因子である。これらのプロテアーゼについては、酵素学的解析は進んでいるものの、菌体表面への輸送や活性化については未解明であり、本研究はこの機構を明らかにする目的で行なわれた。</p> <p>transposon mutagenesis を用いて血液寒天培地上で黒色化しない変異株を分離した。この変異株は新規の遺伝子 (<i>porT</i>) 内に transposon 挿入変異があった。<i>porT</i> 変異株の Kgp および Rgp のプロテアーゼ活性は菌体、培養上清ともほとんど検出されず、Kgp Rgp 完全欠損株と同様な性状(赤血球凝集反応の著しい低下や線毛タンパクの前駆体の蓄積)を示した。<i>P. gingivalis</i> を含むグラム陰性細菌は、その表層に内膜(細胞膜)と外膜という2つの膜構造を持ち、2つの膜の間にペリプラズム領域をもつ。そのため菌体内で合成された分泌タンパクは内膜通過のためのシグナルペプチド領域を持つ前駆</p>			

として合成され、内膜を通過する際にシグナルペプチド領域の切断除去を受け、ペリプラズム空間に到達した後、様々な機構により外膜を通過し成熟タンパクとなる。*P. gingivalis* のKgpとRgpAも細胞質内で約 190 kDa のシグナルペプチド領域をもつ前駆体として翻訳され、内膜と外膜を通過する段階で何らかのプロセスを受け菌体表層付近で成熟型ドメインタンパクにプロセスされる。菌体を細胞質、内膜および外膜画分に分画し、KgpおよびHgp44 (凝集素ドメインの1つ) に対する抗体を用いたイムノブロット解析により、それらの局在を調べた。また、スフェロプラストとペリプラズムに分画し、同様の解析を行なった。その結果、*porT* 変異株では成熟型のKgp (51 kDa) やHgp44 (44 kDa)は検出されず、ペリプラズム画分に高分子量 (180 ~ 190 kDa) のKgp前駆体が蓄積していることが示唆された。この蓄積している高分子量Kgpを質量分析法により解析したところ、プロ配列領域からC末端の凝集素ドメインを含む前駆体であった。また、質量分析法から、RgpAおよびRgpBも同様に前駆体の状態で蓄積されていることがわかったが、Kgp, RgpAおよびRgpBのいずれの前駆体においてもシグナルペプチド領域は検出されなかった。一方、イムノブロット解析からPorTタンパクは内膜画分に存在していることが示唆された。以上のことからPorT は内膜通過後のこれらの前駆体の外膜への輸送や成熟化プロセスに関与していることが示唆された。

下記審査委員会は、本研究で得られた知見が、今後、歯学の進歩に貢献するものと評価し、博士(歯学)の学位論文に値するものと認めた。

#### 審査担当者

主査 教授 中山 浩次

副査 教授 根本 孝幸

副査 教授 藤原 卓