HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular characterization of the type VII secretion system in Bacillus species [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Kamboyi, Harvey Kakoma
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第16475号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95515
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Harvey_Kakoma_Kamboyi_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（感染症学）　　氏名：Harvey Kakoma Kamboyi

審査委員

主査　教授	髙田　礼人
副査　教授	山岸　潤也
副査　准教授	五十嵐　学
副査　准教授	北尾　公英
副査　教授	東　秀明

学位論文題名

Molecular characterization of the type VII secretion system in *Bacillus* species

（バシルス属細菌 VII 型分泌装置の分子機能解析）

バシルス属細菌は自然界に遍在するグラム陽性桿菌であり、公衆衛生上でしばしば問題とされるセレウス菌や炭疽菌が同属に分類される。そのセレウス菌と炭疽菌は遺伝学的に近縁であるが、炭疽菌は致死性の毒素産生により炭疽を、セレウス菌は一般的に食中毒症状を発症させ、全く異なる症状を引き起こす。炭疽菌の病態発症機構については、外毒素産生ならびに莢膜形成に関与するプラスミドが重要な役割を持つことが良く知られている。一方、セレウス菌では、一部の株が強力な嘔吐毒や下痢毒を産生することが確認されているものの、その病原性発現機構の詳細は未だ不明な点が多い。そこで、本学位論文提出者 Harvey Kakoma Kamboyi 氏は、多くのグラム陽性菌で病原性との関与が報告されている、細菌性 VII 型分泌装置に着目し、セレウス菌を中心としたバシルス属細菌における VII 型分泌装置の研究を進めた。

第 1 章で Kamboyi 氏は、これまでに報告されているグラム陽性菌のゲノム情報を比較解析し、バシルス属細菌における VII 型分泌装置関連遺伝子を探索した。その結果、セレウス菌 ATCC14579 標準株において、VII 型分泌装置を構成すると予想される一連の遺伝子群を見出した。この遺伝子群には、分泌装置形成に関与する *essA*、*esaA*、*essB*、*esaB* および *essC* などの遺伝子に加え、分泌装置の基質タンパク質をコードする 2 つの *esxA* 遺伝子（*esxA1* および *esxA2*）が含まれていることが明らかにされた。次に申請者は、VII 型分泌装置の活性に必須である *essC* 遺伝子を欠失させた変異株を作製し、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析によるセクレトーム解析を行った。その結果、野性株で確認された基質タンパク質 EsxA の菌体外への分

泌が、変異株では消失することが明らかとなった。この結果より申請者は、セレウス菌においてVII型分泌装置が機能し、特異的な基質タンパク質を分泌していることを示す新たな知見を報告した。

第2章では、VII型分泌装置の基質タンパク質EsxAの機能解析を進めるため、Kamboyi氏は基質タンパク質をコードする*esxA1*および*esxA2*両遺伝子を欠失させた変異株を作製し、細菌学的な特徴の変化を検討した。当初、VII型分泌装置で菌体外へ分泌されるEsxAが消失することで、菌体外における生化学的な変化が観察されると予測していた。しかし、変異株では芽胞形成の遅延が見られ、野性株に比較して芽胞形成率が低下することが明らかとなり、申請者はEsxAタンパク質が芽胞形成機構に寄与していることを初めて明らかにした。さらに、申請者は両遺伝子が欠失している変異株を、*esxA1*または*esxA2*のいずれかの遺伝子で相補する研究を実施し、変異株はいずれの遺伝子によっても正常な芽胞形成能を示すことを見出した。このことは、EsxA1タンパク質とEsxA2タンパク質が、相補的に働くことを示した新規知見である。加えて、申請者はEsxAタンパク質の芽胞形成能への関与をさらに考察するため、VII型分泌機構ならびに芽胞形成に関与する分子間でタンパク質立体構造を比較解析した。その結果、VII型分泌装置EssCタンパク質のEsxA結合領域と、芽胞形成関連分子であるSpoIIIEタンパク質の一部構造において、非常に高い相同性が認められることを明らかにした。このことから、EsxAはSpoIIIEを介して芽胞形成に影響を与える可能性を考察した。

Harvey Kakoma Kamboyi氏が本研究で得た知見は、セレウス菌病態発現機構の解明を大きく推し進めるとともに、芽胞形成菌である同菌の感染予防・対策を考えていく上で、貴重な情報を提供するものであり、社会的意義の高い内容である。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者Harvey Kakoma Kamboyi氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第10条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。