

講演番号：3A11a13

講演日時、会場：3月29日 11:10～ A校舎 11会場

宿主グルタチオン代謝を制御する病原菌エフェクターの酵母システムによる機能解析

Functional analysis of the pathogen effector, which regulates the host glutathione homeostasis using yeast system.

藤原 祥子、田中 直孝、○田淵 光昭（香川大農）

Shoko FUJIWARA, Naotaka TANAKA, ○Mitsuaki TABUCHI (Kagawa Univ.)

ヒトや植物に感染する多くの病原菌は、Ⅲ型分泌装置と呼ばれる注射針の様な構造物を用いて、宿主細胞内にエフェクターと呼ばれる病原因子を注入することにより、その病原性を発現する。エフェクターの分子機能の解明は、病原菌の感染戦略を理解するためにも重要である。

一部のエフェクターは酵母細胞において発現させると宿主標的因子の酵母カウンターパートに作用することにより、酵母に増殖阻害を引き起こすことが知られている。我々は、酵母の増殖阻害を指標として植物病原細菌である青枯病菌の病原因子エフェクターの機能解析を行い、これまで酵母に強い増殖阻害を引き起こす RSp1022 に着目し、解析を行ってきた。

RSp1022 は、モチーフ検索により、ChaC ドメインと呼ばれる大腸菌からヒトにまで保存されたドメインを有していた。最近、本ドメインを持つ酵母およびヒトタンパク質がグルタチオンを特異的に分解する γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ (γ -GCT) であることが明らかにされた (Kumar et al., EMBO rep, 13: 11095-101, 2012)。RSp1022 の ChaC ドメインと酵母やヒト由来の ChaC タンパク質との相同性は、それぞれ 18, 11%と低い、三次構造予測プログラムにより予測された構造は、哺乳動物由来の γ -GCT と高い類似性があり、活性中心アミノ酸残基も保存されていた。そこで、RSp1022 が、実際に γ -GCT 活性有するかを酵母及び大腸菌発現系により調べた。

RSp1022 を酵母で過剰発現させると、酵母に強い増殖阻害を引き起こし、細胞内のグルタチオンを通常レベルの 30%程度まで減少させた。また、予測立体構造から γ -GCT の活性中心と考えられるグルタミン酸をグルタミンに置換した変異体では、酵母に増殖阻害を引き起こさず、細胞内グルタチオン濃度を減少させなかった。興味深いことに RSp1022 は、大腸菌で発現させても γ -GCT 活性を持たないが、酵母で発現させた場合においてのみ、酵母内在性の γ -GCT やその他生物由来の γ -GCT と比較して 10 倍以上の高い比活性を有していた。

以上の結果から、RSp1022 は、細胞内レドックス代謝において機能するグルタチオンを特異的に分解する γ -GCT であること、本酵素は不活性な状態として合成され、宿主細胞内に注入されることにより宿主真核生物由来の未同定の活性化因子により γ -GCT が活性化されると考えられた。本酵素の活性化メカニズムの解明は、青枯病菌の感染戦略の理解につながり、本酵素を標的とした防除法の開発が期待される。

pathogen effector, yeast, glutathione