

# 29P2-pm138

緑膿菌タイプⅢエフェクター ExoS と結合する新規宿主因子の探索

奥田 潤<sup>1</sup>, ○四方 基嗣<sup>1</sup>, 英 麻美<sup>1</sup>, 林 直樹<sup>1</sup>, 皆川 周<sup>1</sup>, 後藤 直正<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>京都薬大 微生物・感染制御学 )

【目的】緑膿菌は免疫力の低下した患者に対して呼吸器感染症や敗血症を引き起こす日和見感染菌である。本菌の病原因子の一つとして、タイプⅢエフェクター ExoS が同定されている。ExoS などのエフェクター分子はタイプⅢ分泌装置により細胞内に直接注入された後、宿主因子と結合することでその作用を発現する。ExoS に関しては、その結合宿主因子として 14-3-3 や FXYD3 がこれまでに同定されている。FXYD3 は過去に本研究室で同定された宿主因子であり、ExoS と結合することで tight junction のバリアー機能が破綻し、緑膿菌が効率的に上皮細胞間隙を透過していることが明らかとされた。しかし、既に同定されている宿主因子との結合だけでは ExoS の作用や細胞内の挙動に関して説明出来ない点も多い。そこで本研究では、yeast two-hybrid システムを用いて ExoS と相互作用する新規宿主因子の探索を行なった。【方法】真核生物である *Saccharomyces cerevisiae* に対する ExoS の致死活性を評価するため、種々のサイズの ExoS 断片の発現遺伝子を含むプラスミドを酵母内に導入し発現させた。ExoS 結合宿主因子の探索と解析は yeast two-hybrid assay および pull-down assay により行った。【結果と考察】native ExoS (454 アミノ酸) や C 末端の 33 アミノ酸を欠損させた ExoS $\Delta$ C1 は酵母に対して致死性であった。一方、C 末端のアミノ酸をさらに欠損させた種々のサイズの ExoS は酵母を死滅させなかった。ExoS $\Delta$ C1 では、14-3-3 結合領域 (422-433 アミノ酸領域) が削除されていることから、酵母に対する ExoS の致死活性に 14-3-3 結合領域は必須でないと考えられる。そこで現在、酵母を死滅させなかった種々のサイズの ExoS を発現するプラスミドを用いた yeast two-hybrid assay と、得られたクローンの結合確認をするための pull-down assay を行っているところである。