

Title	紅色光合成細菌 <i>Ectothiorhodospira halophila</i> に存在する トランスドューサー蛋白質のクローニング
Author(s)	下山, 幸夫
Citation	
Issue Date	1999-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	none
URL	http://hdl.handle.net/10119/2603
Rights	
Description	Supervisor:高橋 哲郎助教授, 材料科学研究科, 修士

紅色光合成細菌 *Ectothiorhodospira halophila* に存在する トランスデューサー蛋白質のクローニング

下山幸夫 (高橋研究室)

紅色光合成細菌 *Ectothiorhodospira halophila* は PYP (Photoactive Yellow Protein) と呼ばれる光感受性蛋白質を持つことが知られている。既知の光感受性蛋白質であるロドプシン類が膜貫通型であるため高分解能の構造解析が困難なのに対し、PYP は比較的分子量の可溶性蛋白質であることから構造解析が容易で、可視光受容とその伝達メカニズムに関しこれまでにない詳細な解明が期待されている。さらに、*E. halophila* が光驚動性を示す波長と PYP の作用光が一致したことから、PYP が光驚動性の光受容体であると考えられている。

一般に光受容蛋白質から鞭毛モーターへの情報は走化型トランスデューサー蛋白質を介して伝達される。しかし、*E. halophila* ではトランスデューサー蛋白質が発見されていないため、走性を制御している情報伝達経路については不明である。

走化型トランスデューサー蛋白質をコードする遺伝子は多くの細菌で共通して高度に保存されている HCD (Highly Conserved Domains) と呼ばれる領域を持つことが知られている。このトランスデューサー蛋白質は MCP (Methyl-accepting Chemotaxis Proteins) とも呼ばれ、鞭毛駆動系への信号伝達体である CheA 蛋白質と相互作用することが知られている。

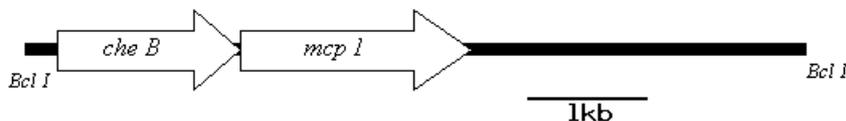
本研究の目的は *E. halophila* において走性を支配すると考えられる分子群をクローニングし光驚動性との関係を調べることである。

【実験】

1. 以前に行われたサザンハイブリダイゼーションの結果から、*E. halophila* には HCD 領域を持つ遺伝子が少なくとも 7 種類程度あると推測されている。本研究ではそのうちのひとつを含む、約 5.5kbp の *Bcl I* 断片 (Ehc01) をゲノム DNA からクローニングし、塩基配列決定を行った。
2. *E. halophila* は絶対嫌気性細菌であることから、遺伝子導入及び遺伝子破壊を行うにあたり迅速かつ簡便な脱酸素処理が重要となる。また、マーカー遺伝子として用いるための抗生物質も調査する必要がある。本研究では、ジチオナイトを脱酸素剤として添加した培地で抗生物質感受性を調べた。

【結果・考察】

1. Ehc01 (図) の塩基配列解析の結果、HCD 領域を含む遺伝子 *mcp1* (413 残基) のすぐ上流に *che B* と考えられる 350 残基からなるペプチドをコードした領域が含まれていた。この領域は *Salmonella typhimurium* の *che B* と 44% の相同性があった。さらに、走性を制御する *che* 遺伝子群などはいくつかの生物種で同一オペロン (chemotaxis operon) 上に存在していることを考慮すると、*mcp1* も走性に関わりがあると考えられる。つまり、この *mcp1* は *E. halophila* での走性を担うトランスデューサー蛋白質をコードした遺伝子であると推測される。
2. 数種類の抗生物質存在下での培養から、*E. halophila* の遺伝子破壊に用いることが可能な抗生物質を見出した。



Ehc01 fragment

keywords

MCP, chemotaxis operon, *Ectothiorhodospira*, photophobic response, PYP