

「ウェルシュ菌RNAポリメラーゼの再構成」

理学部 生物化学科 ○松永 望、片山 誠一

Keywords: ウェルシュ菌、RNAポリメラーゼ、 α サブユニット、ホスホリパーゼC、毒素遺伝子発現調節、phased A-tracts

【研究目的】

ウェルシュ菌は偏性嫌気性菌の一つで十数種類の毒素を産生することが知られています。この菌はガス壊疽(Fig.1)や食中毒を引き起こします。ガス壊疽の原因毒素は、ホスホリパーゼC(α 毒素)という酵素で細胞膜を破壊します。菌によるこの毒素遺伝子(*plc*)の発現量はヒトの体温である37°Cより低温(25°C)でより増加します。私達は*plc*遺伝子の低温依存性転写促進にRNAポリメラーゼの α サブユニットのC末端ドメイン(α CTD)が、深く関わっていることを証明するため、RNAポリメラーゼの再構成実験系の確立を試みました。



Fig.1. ウェルシュ菌によるガス壊疽

【主な研究成果】

- 1) ウェルシュ菌RNAポリメラーゼを構成する α 、 β 、 β' 、 σ サブユニットの各遺伝子のクローニング
- 2) 各遺伝子の全塩基配列の決定
- 3) His-tagを利用した各サブユニットの大量精製
 - ・ α サブユニット ~7 mg
 - ・ α N末端ドメイン(α NTD) ~1 mg

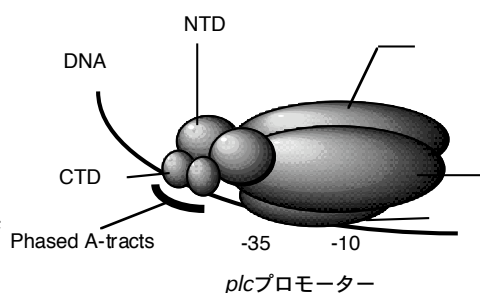


Fig.2. RNAポリメラーゼの*plc*プロモーターへの結合

【これからの研究課題とその応用】

- ・ β 、 β' 、 σ サブユニットの大量精製
- ・ RNAポリメラーゼ再構成
- ・ α NTDを用いたRNAポリメラーゼ再構成
- ・ Phased A-tractsを介した*plc*遺伝子の低温依存性転写促進における α CTDの貢献度を*in vitro*転写により、明確にする。
- ・ 他の毒素遺伝子発現調節因子VirR/VirSとRNAポリメラーゼ α CTDとの相互作用を調べる。
- ・ α CTD結合物質を探索し、その構造から毒素発現調節攪乱物質をデザインする。

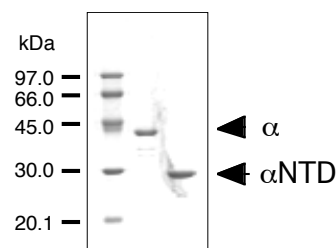


Fig.3. 精製 α サブユニット、 α NTDのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターン