

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| ID No.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 3018                                          |
| 研究課題名                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <i>Bacillus anthracis</i> 病態発症に係る毒素合成機構の解明    |
| 研究代表者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 東 秀明 (北海道大学・教授)                               |
| 研究組織<br>受入教員<br>研究分担者                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 三室 仁美 (東京大学医科学研究所・准教授)<br>豊間根 耕地 (北海道大学・大学院生) |
| <p>研究報告</p> <p>本課題は、炭疽菌の転写因子AtxAの生物活性に依存した炭疽菌病原性発現機構の解明を目指している。平成28年度においてAtxAの分子機能ならびに結合配列を明らかにすることを目的とし、大腸菌を用いたBacterial One-Hybrid (B1H) systemの構築を行った。</p> <p>大腸菌の RNA 合成酵素と融合した組換え AtxA (Bait 分子) を発現する大腸菌の作製を進めた。また同時に、貴研究所病原微生物資源室の協力を得て、炭疽菌をはじめとした <i>Bacillus</i> 属細菌群より転写制御領域を含む DNA 断片を調製し、得られた断片をセレクションマーカー上流に挿入したプラスミド (Prey ベクター) の構築を行い、AtxA 分子が転写に及ぼす影響を解析した。今回、報告者らは B1H system を利用し、炭疽菌病原性遺伝子の転写制御領域 (約 1.5 kbp) を解析した際、その転写制御領域中に、これまで明らかにされていなかった転写を負に調節する領域が存在していることを見出した。この転写抑制作用を示す Prey ベクターを保有した大腸菌株へ AtxA Bait 分子を発現させたところ、その転写抑制が解除されることを明らかにした。さらに着目した転写制御領域を断片した DNA フラグメントを作製し、転写抑制に関わる責任領域の同定を進め、抑制活性は約 0.3 kbp 内の遺伝子構造に依存していた。その遺伝子構造には、転写因子-DNA 間の相互作用に用いられる典型的な繰り返し配列等は存在せず、核酸が構成する高次構造に依存した相互作用であることが予想された。現在、ゲノム IP、アフィニティ Tag トラップ法等による DNA-AtxA 相互作用の解析を進めるとともに、対象としている転写制御領域の変異株作製を行っている。これまでの AtxA に関する報告では、毒素遺伝子等の転写を活性化し正の転写制御因子として働くことが報告されているが、その分子機構は不明であり、直接的または間接的作用かも明らかにされていない。今回 炭疽菌とは異なる大腸菌を用いた B1H system から得られた結果は、AtxA 分子が直接転写領域に作用し、転写調節に影響を与えていることを強く示唆している。AtxA による転写抑制機構の解除は、これまでに知られていない分子機能であり、炭疽菌病原性発現機構の新たな知見に繋がると考えている。</p> |                                               |