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 受入教員 研究分担者	三室 仁美 (東京大学医科学研究所・准教授) 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た。平成28年度に大腸菌Bacterial One-Hybrid (B1H) systemを利用し、炭疽菌病原性遺伝子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示した。また、B1H system において、AtxAがこの転写抑制作用を解除することを示した。これまで、AtxA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たが、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。そこで本年度は、AtxA依存的な転写活性化に係る分子機構の解明を目指し、AtxA組換えタンパク質の調製を進め、ゲルシフトアッセイによりAtxAのDNA結合能を<i>in vitro</i>で評価した。その結果、AtxAは炭疽菌病原因子の転写制御領域に直接結合することが明らかになったが、他のDNA断片との結合能も確認された。この結果より、AtxAのDNA結合能はDNA配列非依存的であり、菌体内DNA上の広範囲に存在し、遺伝子転写活性に影響を及ぼしている可能性が示唆された。また、定量的PCR法により、B1H system で認められた転写制御領域による負の転写調節が、タンパク質の量的変化ではなく、mRNAの量的変化によって生じることを示す結果を得た。これらに加え、AtxA分子内に存在するリン酸化部位に変異を導入し、B1H system等を用いてリン酸化が分子活性に及ぼす影響を検討した。その結果、変異体ではAtxAの転写抑制作用を解除する活性が消失したことから、分子内のリン酸化がAtxA分子活性に深く関与している可能性が見出された。</p> <p>本研究結果は、AtxA が転写に対する負の調節機構と競合的に作用することで病原因子の発現を調節することを初めて示すものである。今回得られた知見は、今後の炭疽菌病態発現機構の解明、さらには他の病原細菌の病態発現機構の解明にも繋がるものである。今後は、表面プラズモン共鳴ならびにタンパク質-DNA 複合体の共結晶 X 線構造解析による結合モデルの解析を進め、AtxA の分子機能に関する知見を得ていく予定である。</p>	