

千葉大学COEスタートアッププログラム

「代謝変換プログラムの生体制御への応用」主催

セミナーのお知らせ

大腸菌炭素源代謝制御のふたつの転写因子 CRP と Cra による
解糖系転写制御の全体像： Genomic SELEX 法を用いた解析

演者：島田 友裕 先生

(法政大学マイクロ・ナノテクノロジー研究センター)

日時：平成22年9月6日(月)午後5:00～

場所：園芸学部 E 棟 205 教室

ひとつの生物のゲノム転写制御の全容の理解を目指し、我々は大腸菌全転写因子の制御標的遺伝子群の同定を目指した網羅的研究を行ってきた。その一環として、新たに開発した Genomic SELEX 法は、純化転写因子とゲノム DNA 断片ライブラリーを混合物から複合体を単離し、転写因子の認識結合 DNA 配列を分析し、その情報から、標的遺伝子群を推定するものである。Genomic SELEX により単離された DNA の分析は、cloning-sequencing (SELEX-clos)法により行っていたが、標的 DNA が多数存在する場合、親和性の低い DNA を取りこぼしていることが懸念されていた。そこで、単離された全 DNA を分析するために、tilling array (DNA chip)による解析(SELEX-chip 法)を併用することとした。その一例として、大腸菌炭素源代謝遺伝子群の制御に関わるグローバルレギュレーターCRP (cAMP receptor protein)と Cra (catabolite repressor activator)の制御標的遺伝子の全体像の解明を目指した研究成果を報告する。CRP は大腸菌では支配下遺伝子が最も多く、その標的は 100 遺伝子以上、Cra の標的は 20 遺伝子以上であることが報告されている。CRP は cyclic-AMP (cAMP)と結合することで標的配列に結合する。そこで cAMP 有無の条件下で Genomic SELEX で解析したところ、cAMP 存在下では 250 以上もの標的配列が同定された。同様に Cra についてはエフェクターである Fructose-1, 6-bisphosphate (F-1, 6-P2)有無の条件下で解析し、F-1, 6-P2 の非存在下で 200 以上もの標的配列が同定された。CRP の標的配列中には、TGTGA-Nx6-TCACA 配列、Cra では GCTGAATCGATTCA 配列の共通配列が同定されそれぞれ既知の認識配列と一致した。一方で CRP は cAMP 非存在下、また Cra では F-1, 6-P2 の存在下では全く標的遺伝子が同定されなかった。今回は解糖系の支配下遺伝子群に着目し、そのプロモーターへの制御機構を大腸菌野生株と *crp* 欠損株、*cra* 欠損株において β ガラクトシダーゼをレポーター遺伝子としてプロモーター活性を測定することで確認した。結果を総合し、CRP と Cra によるゲノム転写制御の全体像を報告すると共に、ふたつの包括制御因子の役割分担を提案する。

世話人：応用生命化学科 微生物工学 田中 寛 (内線8866)