

様 式 F - 7 - 2

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1 4 6 0 3

2. 研究機関名

奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名

基盤研究(C)

4. 補助事業期間

平成23年度～平成25年度

5. 課題番号

2 3 5 8 0 1 1 4

6. 研究課題名

細菌の脱サイレンシング機構の解析

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
5 0 3 4 6 3 1 8	オオシマ タク 大島 拓	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

平成24年度までに、大腸菌のLEE1プロモーターとybd0プロモーターを用いた試験管内転写系を構築し、構築した試験管内転写系にH-NSを加えることで、H-NSのみによる単純なサイレンシングの試験管内再構成に成功した。しかしながら、脱抑制因子であるPchおよびLerを再構成系に導入しても、LEE1プロモーターにおける脱抑制の完全な再現はできなかった。他方、大腸菌の持つ4つのH-NS相同タンパク質H-NS、StpA、Hha、およびYdgTを、全て、あるいは、一部欠失した株を作成し、これらの株でのPchによるLEE1プロモーターの脱抑制をluxレポーターアッセイにより解析した。また、Hha/YdgT重欠失株を用いてトランスクリプトーム解析を行った。その結果、H-NS相同タンパク質群による高次複合体形成がサイレンシングに重要で、脱抑制因子は、高次複合体によるサイレンシングを阻害することが判明した。

以上の結果を受け、平成25年度は、サイレンシングに必須な領域をlacZレポーターアッセイにより詳細に決定した。興味深いことに、ybd0プロモーターの抑制には、ybd0遺伝子の開始位置から上流に180bpから400bpの領域および下流に30bpから240bpの領域が必要であった。一方、LEE1プロモーターの抑制にも、Ler遺伝子の開始位置から上流に480bp、下流に300bp程度の領域が必要であった。この結果は、ybd0遺伝子やLEE1領域のサイレンシングには、プロモーターのみならず、転写開始領域の上流および下流を含む広い領域が必要とされることを示している。上記の結果から、完全な形での大腸菌のサイレンシングの試験管内再構成のためには、試験管内において、H-NSホモログ群と転写抑制に必要とされる広いDNA領域とのサイレンシング複合体を再構成する必要があることが強く示唆された。

10. キーワード

(1) 微生物

(2) 転写制御

(3) サイレンシング

(4) H-NS

(5)

(6)

(7)

(8)

## 11.研究発表

(雑誌論文) 計(0)件 うち査読付論文 計(0)件 (最終年度分)

著者名		論文標題			
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					

(学会発表) 計(2)件 うち招待講演 計(2)件 (最終年度分)

発表者名		発表標題	
大島 拓		ゲノムワイドな解析手法により明らかになった核様体タンパク質の機能	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本遺伝学会(招待講演)	2013年09月19日～2013年09月21日	慶應義塾大学 日吉キャンパス (神奈川県横浜市)	

発表者名		発表標題	
大島 拓		細菌における外来遺伝子発現抑制機構	
学会等名	発表年月日	発表場所	
日本農芸化学会(招待講演)	2014年03月27日～2014年03月30日	明治大学 生田キャンパス (神奈川県川崎市)	

