

新生児髄膜炎由来大腸菌の機能未知遺伝子の発現条件の確立

◎中山 章文¹⁾、湯澤佐都子¹⁾、雨野里奈子¹⁾、岩崎 叶¹⁾、丹波滉太郎¹⁾
岐阜医療科学大学¹⁾

新生児髄膜炎は、罹患した乳児の約 10%が死亡し、生存者の 20～50%が発作、認知障害、運動異常、聴覚および視覚障害を発症する重篤な感染症である¹⁾。このことから新生児髄膜炎の発症に関与する大腸菌の病原因子の解明は、妊婦の保菌検査の確立による感染予防および、感染児の発症予防において重要である。我々はこれまで塩基配列およびアミノ酸配列の相同性検索による機能の推定が不可能であり且つ、新生児髄膜炎由来の大腸菌株に特有な 6 種類の遺伝子(abx 52009、abx 52010、abx 52011、abx 52015、abx 52016、afh37373)を認め、これらの遺伝子を発現ベクターへ pCold I に組込んだプラスミドを保有する組換え体を取得した。今回の研究では、大腸菌 BL-21 株に形質転換して得られた 6 種類の組換え体 (ABX52009、ABX52010、ABX52011、ABX52015、ABX52016、AFH37373)について、それぞれの目的遺伝子に対して効率的にタンパク質を発現する条件の確立を試みた。大腸菌 BL-21 株は膜プロテアーゼの欠失株でタンパク発現の Host Cell として良く用いられている。また、今回用いた発現ベクター pCold I はこれまでの発現ベクターと異なり、コールドショック遺伝子の一つである cspA 遺伝子のプロモーターを利用したコールドショック発現ベクターで、低温 (15°C) の培養温度においてもタンパク質を発現する特徴を有する。こ

のことから、IPTG (Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside) によるインダクションの後、低温で培養することによって他の大腸菌由来のタンパク質の発現が抑えられるため、純度の高い発現タンパク質を得ることが可能である。発表では、6 種類の組換え体に対して従来の 37°C の培養と 15°C のコールドショック培養を行った結果および、IPTG の添加濃度を加えたタンパク質発現の条件の検討結果について報告する。

1) *Pediatr Rev.* 2008; 29(12):417-29

連絡先：中山章文 岐阜医療科学大学 (0575-22-9401)