

仕事の紹介：学生実習と研究

西岡 典子

生命理学科 1～3 年生の実習計画全般と研究テーマ：コレラ菌のもつ走化性メチル化酵素様タンパク質の遺伝子クローン化と機能解析について紹介します。

2003 年度生命理学科実習予定表

期 間	3 年	2 年	1 年
4 月 9	ガイダンス		1 年生の実習は 前期のみ 4/15：安全教育 毎週火曜日：午後
14 - 18	実習 ① 分2	分6	
21 - 25	実習 ② 分6	分2	
5 月			
12 - 16	実習 ③ 分4	動2	
19 - 23	実習 ④ 動2	分4	
6 月			
16 - 20	実習 ⑤ 植1	分1	
23 - 27	実習 ⑥ 分1	植1	
7 月～8 月			
21 - 8/2	臨海実習 (1) (2)		
10 月	野外実習 (1)		2 年生の実習は 後期のみ 10/10：安全教育 木曜日：午前 午後 金曜日：午前
20 - 24	実習 ⑦ 植3	植2	
23 - 27	実習 ⑧ 植2	植3	
11 月			
10 - 14	実習 ⑨ 分3	分5	
17 - 21	実習 ⑩ 分5	分3	
12 月			
1 - 4	実習 ⑪ 分7	動1	
8 - 12	実習 ⑫ 動1	分7	
2004 年 1 月			
1/29 - 2/5	R I 実習		

学生実習について

実習委員会（実習委員長 + 各講座(13)より1名 + 西岡で構成）を構成し、計画から実施及び成績の評価までを行います。年間スケジュールや予算・決算などを担当しています。テキストや試薬の準備で実習期間のみならず実習に携わります。また、ガイダンスにおいて安全教育も担当します。実習中は、機器の説明や清掃の仕方なども教えます。一教室に50数名の学生が一同に会し実験を行います。実験器具が多数配置される中、学生の安全を第一に考え、実習が遂行出来るように心がけています。

研究テーマ：コレラ菌のもつ走化性メチル化酵素様タンパク質の遺伝子クローン化と機能解析

コレラ菌 *Vibrio cholerae* は、宿主体内と自然環境という異なる環境で生存するため、様々な刺激を受容し、適切な方向へ移動する能力（走化性）をもつ。ゲノム解析によると、コレラ菌は45種類もの走化性受容体と、3組のCheタンパク質群をもつ。宿主内外での生存戦略を理解する上で走化性は重要であり、病原性への関与も示されている。しかし、走化性自体の解析は遅れている。本研究では、Cheタンパク質群のうちCheRに着目した。大腸菌CheRは、受容体のメチル化を触媒し、適応に関与する。では、コレラ菌の3種のCheRと45種の受容体との関係はどうなっているのだろうか。3つの *cheR* 遺伝子のうち *cheR2* はべん毛遺伝子群とクラスターを形成しており、これが走化性に関与すると推測される。CheRのアミノ酸配列を、N末端基質認識ドメインとC末端触媒ドメインに分けて比較したところ、コレラ菌CheR間の相同性は比較的高く、機能的にとくに重要とされるアミノ酸残基も保存されていた。しかし、大腸菌CheRとの比較では、走化性への関与が予測されるCheR2ではなく、CheR3がもっとも相同性が高かった。そこで、遺伝子をクローン化して解析した。その結果、*cheR2* と *cheR3* は大腸菌 *cheR* 欠損を相補した。また、3種のCheR全てが大腸菌受容体をメチル化した。一方、コレラ菌野生株中でCheRを過剰発現させたところ、CheR2過剰発現菌のみ軟寒天培地中での走性が低下した。また、CheR2過剰発現菌の液体培地中での方向転換頻度は著しく高かった。以上の結果から、3種のCheRは全てメチル化活性をもつが、本来走化性に関与するのはCheR2と考えられる。一方、CheR1、CheR3過剰発現菌でもわずかに方向転換頻度が増加した。つまり、異なるCheシグナル伝達系の間でクロストークが起こる可能性がある。さらに、CheR2過剰発現株の方向転換頻度低下を指標として誘引物質を検索し、現在までにセリンとアラニンを同定した。誘引物質が結合すると受容体のメチル化は上昇する。そこで、現在多数のコレラ菌受容体遺伝子をクローン化し、どの受容体がどの誘引物質を感知し、どのCheRによりメチル化されるかについて検討中である。