

21PO-am222

複数回膜貫通領域を持つ c-di-GMP 合成酵素 DgcE(YegE) の GFP 融合体の局在
○川鍋 亮介¹, 遠藤 佳和¹, 北村 昭夫¹, 平田 隆弘¹ (城西国際大薬)

【緒言】 c-di-GMP 合成酵素 DgcE (YegE) は、バイオフィルム (BF) 形成等に寄与する細菌特異的のセカンドメッセンジャー c-di-GMP の合成を行う酵素である。本研究では DgcE の大腸菌体内挙動を明らかとする為に、GFP-DgcE 融合タンパク質発現大腸菌を用いてその局在の様子を蛍光顕微鏡で観察した。

【方法】 *gfp-dgcE* 融合遺伝子導入プラスミドを構築し、大腸菌 (TG1 株、BW25113 株) へ導入後、蛍光観察を行った。条件 1: 寒天培地上の単コロニーを経時的に採取し、PBS 懸濁後試料とした。条件 2: 液体培地中の浮遊菌およびスライドグラス付着の BF から菌を経時的に採取し、PBS 懸濁後試料とした。【結果】 条件 1: 培養開始後 24hr の試料と比較して GFP-DgcE の菌体極への局在割合は、48hr 経過時点で約 20%以上増加したが、それ以降定常状態であった。条件 2: 浮遊菌と BF 形成菌での GFP-DgcE 極局在割合は約 70%前後で観察され、高割合で菌体極に発現していた。さらに BF 形成菌においては 24 時間後と比較して 48 時間後の極局在割合が増加した。