

講演番号：3B02-02

質疑応答日時、会場：3月16日 09:30～ ミーティングルーム B

酢酸菌の光活性型転写アクチベーターLOV-HTH の機能解析

Functional analysis of light-activated transcriptional activator LOV-HTH of acetic acid bacteria

○宮下 和樹、高野 英晃（日大院生物資源応用生命）

○Kazuki MIYASITA, Hideaki TAKANO (Nihon Univ.)

LOV-HTH タンパク質は青色光によって活性化する転写アクチベーターであり、青色光感知ドメイン(LOV)に結合したフラビンモノヌクレオチド (FMN) を介して感知した光シグナルを DNA 結合ドメイン(HTH)に伝達する。我々はゲノム情報を利用して酢酸菌の一部に LOV-HTH 相同タンパク質がコードされていることを見出した。*Gluconacetobacter liquefaciens* NBRC 12388 株を対象として行ったセミ定量 RT-PCR 解析によって、*LOV-HTH* 遺伝子下流にコードされる光回復酵素(*phr*)遺伝子の転写が光により誘導されることが判明した。また、高純度に精製した LOV-HTH 組換えタンパク質の吸収波長は FMN と類似であったことから、光センサーであることが強く示唆された。次に、レポータープラスミドを用いて *phr* プロモーター活性を測定した結果、光照射によってレポーター酵素の活性は著しく高くなり、同プラスミド上への *LOV-HTH* 遺伝子の挿入によって活性がさらに上昇した。サブクローニング実験によって、光誘導に必要なプロモーター領域は *phr* 遺伝子開始コドンから上流 44bp 付近までであることが判明した。本結果は酢酸菌における光センサー解析のはじめての報告例である。

LOV-HTH protein consists of an FMN-binding LOV domain and a DNA-binding HTH domain and serves as a blue-light-activated transcriptional activator. We found that some genome-sequenced acetic acid bacteria retained a LOV-HTH homolog. Transcriptional analysis using semi-qRT-PCR showed that the expression of LOV-HTH and its downstream photolyase (*phr*) in *Gluconacetobacter liquefaciens* NBRC 12388 were constitutive and light-inducible, respectively. The LOV-HTH recombinant protein exhibited an absorbance spectrum similar to that of FMN, suggesting that LOV-HTH functioned as a photosensor. We measured *phr* promoter (*Pphr*) activity using a  $\beta$ -glucuronidase-based reporter plasmid. *PphrB* showed high activity in response to blue light, and its activity was remarkably upregulated by the introduction of LOV-HTH into the reporter plasmid. Promoter subcloning experiments revealed that a 44-bp upstream region of *Pphr* from the translational start site was required for light induction.

LOV-HTH, Acetic acid bacteria, *Gluconacetobacter*

発表責任者：高野英晃 (takano.hideaki@nihon-u.ac.jp)