

## 発明の名称:肺炎球菌における発現プロモーター

### 利用・用途・応用分野

肺炎球菌の肺組織内での定着機構や宿主の免疫系を回避する機構の解析  
肺炎球菌の病原因子を標的としたワクチン開発に利用可能

### 目的・課題

肺炎球菌は大腸菌など一般的な細菌とは基本的な発現システムが異なるため、肺炎球菌では高発現できないことがある。  
肺炎球菌内で目的遺伝子を高発現できるプロモーターの提供を課題とする。

### 研究概要・アピールポイント

- ◆ 本発明のプロモーターは、肺炎球菌内で下流に連結した目的遺伝子を高発現できるという効果を奏する。
- ◆ 本プロモーターを用いることで目的遺伝子がコードするタンパク質の解析、肺炎球菌の肺組織内での定着機構や宿主の免疫系を回避する機構の解析等肺炎球菌の性状機能の解析を行うことが可能となる。

### 解決ポイント

肺炎球菌内で目的遺伝子を高発現させるには新規プロモーターの発見が必要と考え、スクリーニングを行ったところ、得られた膨大な断片の中から肺炎球菌内で目的遺伝子を高発現させることが可能な配列を見出した。  
✓ 肺炎球菌にて発現能力が高いプロモーターを探索のため肺炎球菌のクロモソームを制限酵素で部分切断し、mCherryをコードする遺伝子を含む大腸菌・肺炎球菌シャトルベクターに挿入して発現プラスミドを作製し、かかる発現プラスミドを大腸菌および肺炎球菌に導入してmCherryの発現を調べた。  
✓ 肺炎球菌におけるmCherryの発現を確認するため、肺炎球菌へ40種類のJM109由来Cherry発現プラスミドをそれぞれ導入。肺炎球菌でmCherryを強く発現している株(GTC-261-T株、GTC-261-S株)が得られ GTC-261-T株、GTC-261-S株に導入したJM109由来mCherry発現プラスミドを其々「断片T-mCherry」、「断片S-mCherry」とした。  
✓ 断片T-mCherry及び断片S-mCherryに挿入されたクロモソーム断片を含む領域をPCRで増幅、シーケンス解析の結果、断片T-mCherry及びS-mCherryに挿入したクロモソーム断片の塩基配列を見出し、本塩基配列は肺炎球菌において目的遺伝子を発現しうるポリヌクレオチドであることが明らかとなった。

### ◆ お問い合わせ先 ◆

有限会社山口ティン・エル・オー TEL: 0836-22-9768 E-mail:tlojim@yamaguchi-u.ac.jp