

# 分子遺伝学I

## 「変異の性質」

# Contents: 190517

## 1 遺伝子型・表現型の見方

株やプラスミドの表し方を学ぼう。

## 2 変異の優性・劣性・抑圧・極性効果

変異体の性質を考える。何がわかるか？

## 3 抑圧変異(サプレッサー)から考えるタンパク質間相互作用

Garza et al, 1995を例に。

## 4 抑圧変異部位をマッピングする(P1ファージとトランスポゾンTn10を使って)

Garza et al, 1995を例に。

## 5 allele specificityとは？

Garza et al, 1995および、Zhou et al, 1998を例に。

# 遺伝子型・表現型の見方

Maloy and Hughes, Methods in Enzymology 421:3-8 (2007)

非常にわかりやすく解説している

遺伝子: 3文字(小文字・イタリック)で表記される

(例) ピリミジン合成に関する遺伝子一式: *pyr*

*pyrC*: dihydroorotase, *pyrD*: dihydroorotate dehydrogenase

1) ピリミジン合成がおかしくなる変異: *pyr* と表記

(一つの転写単位(オペロン)に並んでいる場合、A, B...と名付けていく)

2) 変異が遺伝子上の異なる場所に生じている場合、allele numberで区別する

→ *pyrD1* と *pyrD2* は、同じ*pyrD*の異なる場所に変異が生じている

3) 遺伝子にトランスポゾンなどの挿入がある場合

→ *pyrC* にTn10が挿入: *pyrC::Tn10*

4) 遺伝子に欠失がある場合

→ *pyrC* が欠失:  $\Delta pyrC$

表現型も3文字(大文字)で表す(例外: 抗生物質耐性)

→ 極べん毛がある (Pof<sup>+</sup>) 極べん毛がない (Pof) カナマイシン耐性 (Km<sup>r</sup>)

# 論文に書かれているTableの例

(Asai et al, 1997)

Strain or plasmid	Genotype or description <sup>a</sup>
<i>V. alginolyticus</i> strains	
138-2	Wild type
VIK4	138-2 <i>rif</i> (Rif <sup>r</sup> Pof <sup>+</sup> Laf <sup>+</sup> )
VIO5	VIK4 <i>laf</i> (Pof <sup>+</sup> Laf <sup>-</sup> )
VIO586	VIO5 <i>pomA</i> (Laf <sup>-</sup> Pom <sup>-</sup> )
	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <span>↑</span> <span>↑</span> </div>
<i>V. parahaemolyticus</i>	
LM4170	<i>lafX313 motX118</i> (Laf <sup>-</sup> Pom <sup>-</sup> )
LM4171	<i>lafX313 motY141</i> (Laf <sup>-</sup> Pom <sup>-</sup> )
<i>E. coli</i> strains	
DH5 $\alpha$	F <sup>-</sup> $\lambda^-$ <u><i>recA1 hsdR17 endA1 supE44 thi-1 relA1 gyrA96 <math>\Delta</math>(argF-lacZYA)U169 <math>\phi</math>80dlacZ<math>\Delta</math>M15</i></u>
XL1-Blue	<i>recA1 hsdR17 endA1 supE44 <math>\Delta</math>(lac-proAB) {F'::Tn10 proAB lacI<sup>q</sup>Z<math>\Delta</math>M15}</i>
S17-1	<i>recA hsdR thi pro ara RP-4 2-Tc::Mu-Km::Tn7 (Tp<sup>r</sup> Sm<sup>r</sup>)</i>
Plasmids	
pSU21	<i>cat</i> (Cm <sup>r</sup> ) P <sub><i>lac</i></sub> <u><i>lacZ<math>\alpha</math></i></u> ←
pSU41	<i>kan</i> (Km <sup>r</sup> ) P <sub><i>lac</i></sub> <i>lacZ<math>\alpha</math></i> (MCS same as that in pSU21)
pIO3	pSU21 0.4-kb and 6.0-kb <i>Hind</i> III fragment ( <i>motY</i> <sup>+</sup> )
pYA101	pSU21 5.0-kb and 3.6-kb <i>Hind</i> III fragment ( <i>pomA</i> )
pYA201	pSU21 5.2-kb and 3.3-kb <i>Eco</i> RI fragment ( <i>pomA</i> <sup>+</sup> )
pYA202	pSU21 3.3-kb <i>Eco</i> RI fragment ( <i>pomA</i> <sup>+</sup> )
pYA2021	pSU21 2.7-kb <i>Eco</i> RI- <i>Hind</i> III fragment ( <i>pomA</i> )
pYA2022	pSU21 1.9-kb <i>Eco</i> RI- <i>Xba</i> I fragment ( <i>pomA</i> )
pYA2023	pSU21 1.6-kb <i>Eco</i> RI- <i>Sac</i> I fragment ( <i>pomA</i> )
pYA203	pSU21 3.3-kb <i>Eco</i> RI fragment ( <i>pomA</i> <sup>+</sup> ) (containing the same fragment as pYA202, but in the opposite orientation)
pYA2031	pSU21 2-kb <i>Sac</i> I- <i>Eco</i> RI fragment ( <i>pomA</i> <sup>+</sup> )
pYA2032	pSU21 1.45-kb <i>Xba</i> I- <i>Eco</i> RI fragment ( <i>pomA</i> <sup>+</sup> )
pHK2	pSU21 3.3-kb <i>Sac</i> I fragment ( <i>pomAB</i> <sup>+</sup> )
pHK3	pSU21 1.2-kb <i>Hind</i> III- <i>Sac</i> I fragment ( <i>pomA pomB</i> <sup>+</sup> )
pSK1	pSU41 1.45-kb <i>Xba</i> I- <i>Eco</i> RI fragment ( <i>pomA</i> <sup>+</sup> )
pSK1- $\Delta$ 28	pSU41 with 329 bp deleted from <i>Xba</i> I site of pSK1; lack of the native promoter
pMMB206	<i>cat</i> (Cm <sup>r</sup> ) IncQ <i>lacI</i> <sup>q</sup> $\Delta$ <i>bla</i> P <sub><i>lac-lac</i></sub> <i>lacZ<math>\alpha</math></i> <i>rmB</i>

ラムダプロファージ $\phi$ 80  
*lacZ*  $\Delta$ M15は *lac*  $\alpha$ 断片を発現

# DH5 $\alpha$ の遺伝子型

*recA1 hsdR17 endA1 supE44 thi-1 relA1 gyrA96  $\Delta$ (argF-lacZYA)U169  $\phi$ 80dlacZ $\Delta$ M15*

*recA1*: RecAタンパク質に変異、相同組替えできない

*hsdR17*: 制限酵素HsdRに変異、外来遺伝子を切断できない

*endA1*: 非特異的endonuclease EndAに変異、プラスミド精製時にDNAが分解されない

*supE44*: グルタミン挿入アンバー(UAG) suppressor tRNA (一部のファージに必要)

*thi-1*: チアミン合成の欠損

*relA1*: アミノ酸飢餓による緊縮応答中のppGpp合成を欠損

*gyrA96*: DNA gyraseのA subunitに変異、抗生物質ナリジクス酸に耐性となる

*$\Delta$ (argF-lacZYA)U169*: U169と名付けられた欠失で、*argF*から*lac operon*全体が欠失

*$\phi$ 80d lacZ $\Delta$ M15*: ラムダプロファージ $\phi$ 80を持つが、*lacZ $\Delta$ M15*と名付けられた欠失があり、LacZのC末端フラグメント( $\omega$ )をコードしている

大腸菌DH5 $\alpha$ 株は、相同組替えができず、制限酵素HsdRが機能を失っているため、大腸菌以外の外来遺伝子をクローン化したプラスミドが細胞内に入っても、組替えを起こさず、切断を受けない。*endA*欠損により、精製時に分解を受けないので綺麗にプラスミドを単離できる。また、LacZの $\omega$ フラグメントをコードするので、 $\alpha$ 相補が可能。

# 変異体の性質を調べる

## 変異体の解析から分かること

変異は優性か劣性か？

“ドミナント・ネガティブ”は何を意味するのか？

野生型 変異体

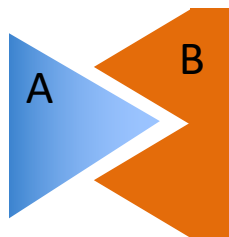


共存させると変異体の形質が現れる(優性)

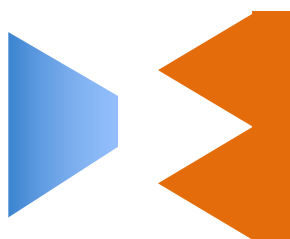
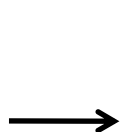
ある欠損を抑圧する変異: サプレッサー (suppressor)

タンパク質間相互作用が予測できる: 相互作用面も？

“allele specific”: 変異の特異的な組み合わせで効果

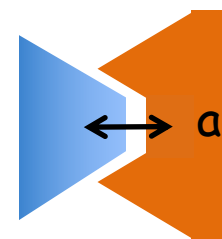


A-B相互作用



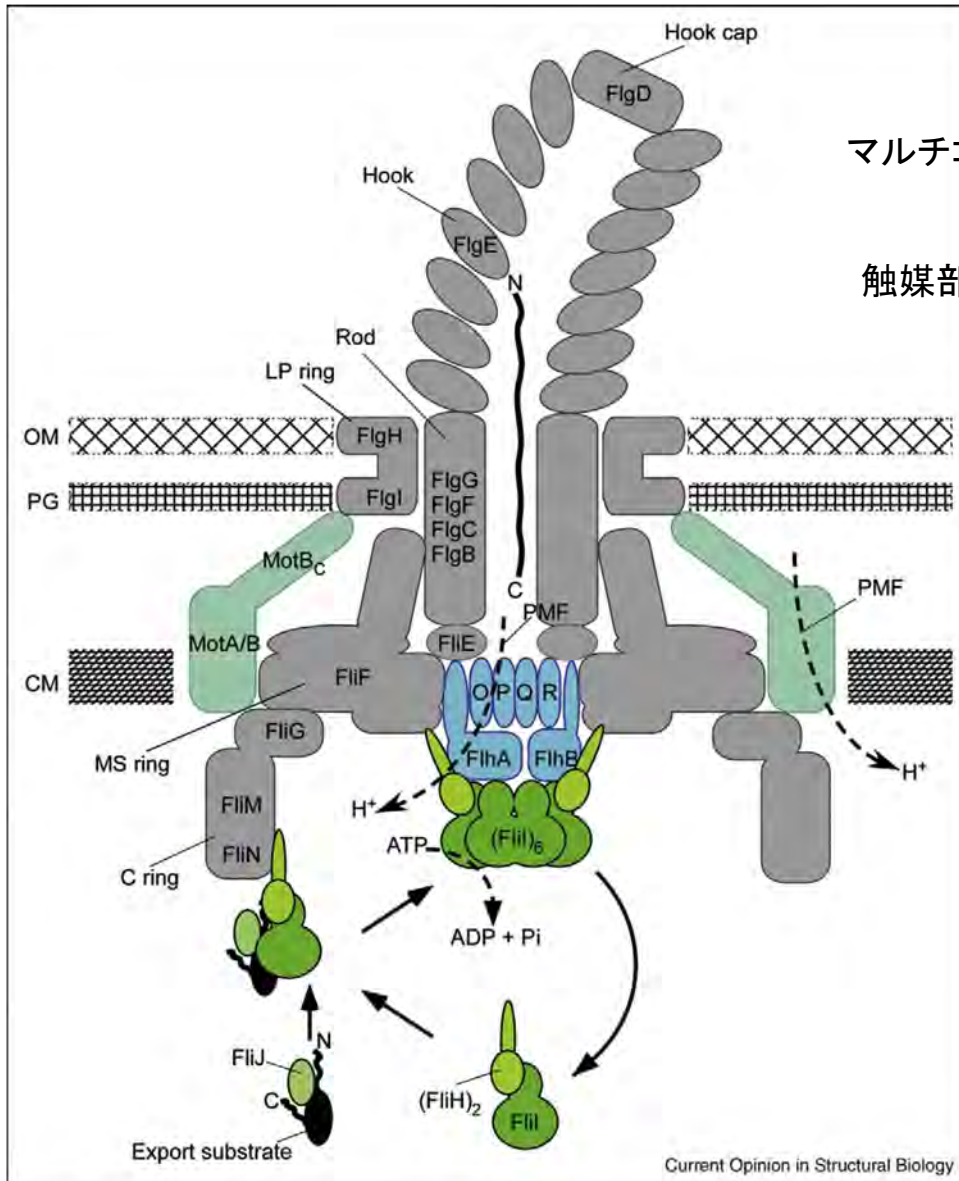
Aに変異、相互作用できない

suppressor  
mutation  
→

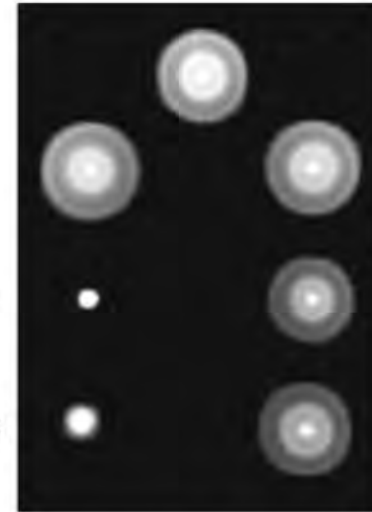


Bに変異、相互作用できる

# 細菌べん毛の変異体 (輸送装置)



マルチコピー効果  
wt  
触媒部位の欠損  
K188I



他のタンパクとの  
相互作用に欠損  
R7C/L12P  
R7C/L12P+K188I  
R7C/L12P+Y363S

**Fig. 1.** Tests of negative dominance using swarm plates with wild-type SJW1103 cells transformed with pTrc99A-based plasmids encoding N-terminally His-tagged versions of FliI. v, pTrc99A; pMM1702 (wild-type FliI); pMM1704 (FliI(R7C/L12P)); pMM1706 (FliI(K188I)); pMM1720 (FliI(R7C/L12P + K188I)); pMM1708 (FliI(Y363S)); pMM1721 (FliI(R7C/L12P + Y363S)). Plates were incubated at 30°C for 5 h.

(Minamino et. al, 2000)

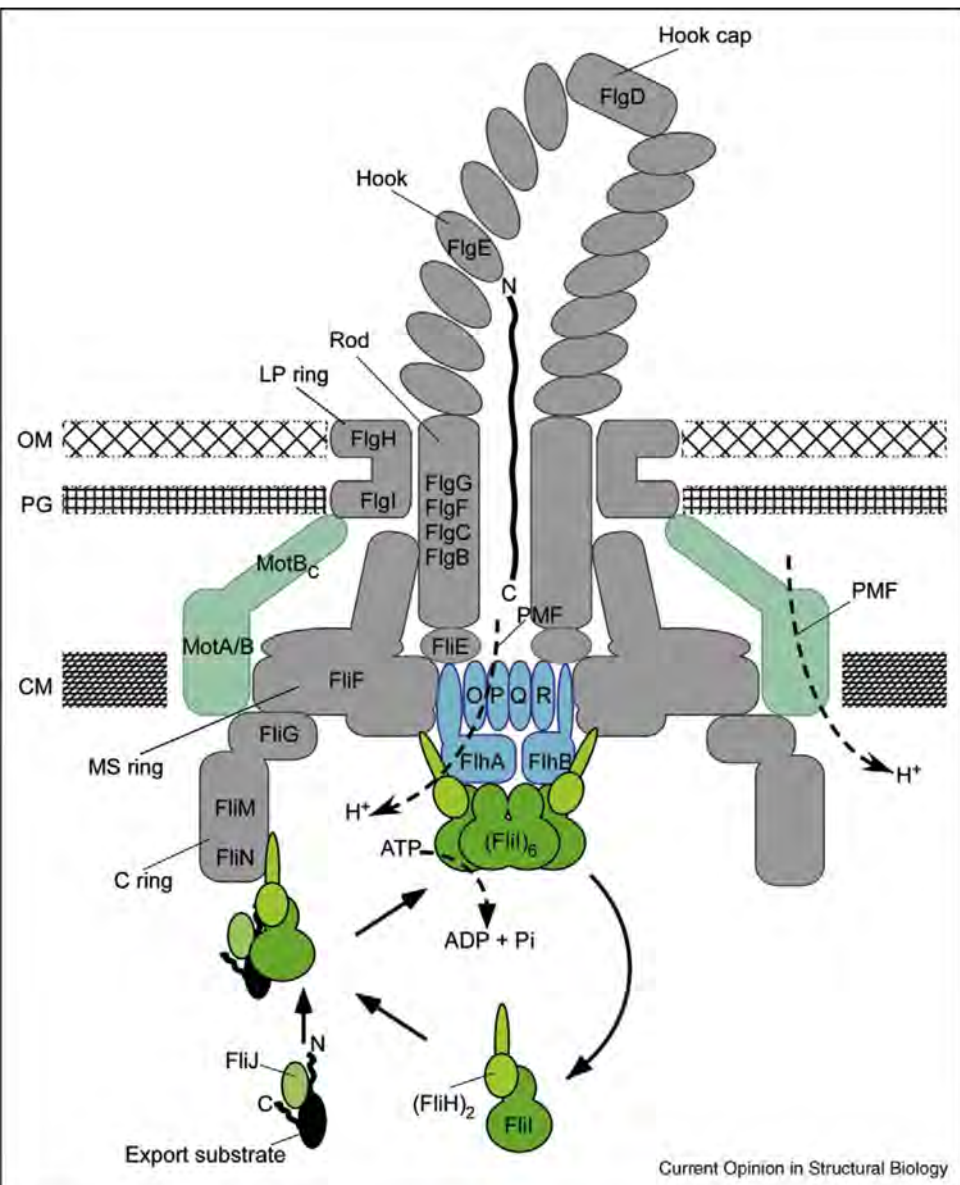
べん毛の輸送装置タンパク質FliIの変異体K188I(ATP分解欠損)は優性変異である

FliI(K188I)はべん毛形成を阻害  
他のタンパクと相互作用し、輸送を阻害  
(ダブルミュータントの形質を考える)

Current Opinion in Structural Biology

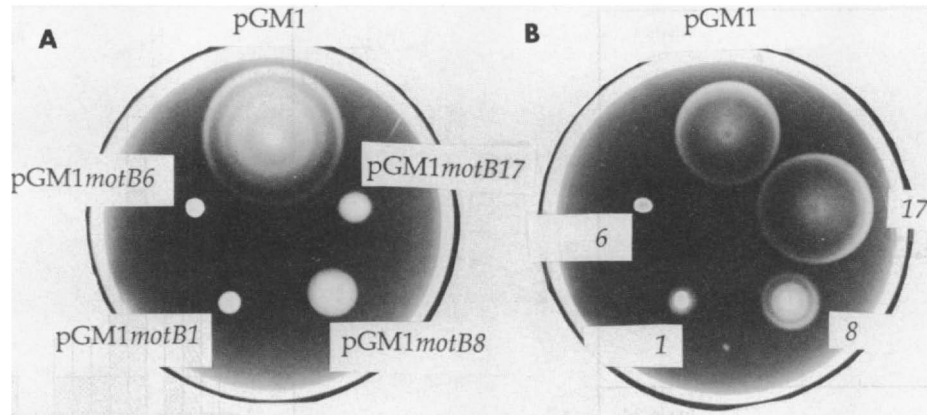
(Minamino et. al, 2008)

# 細菌べん毛の変異体 (固定子)



宿主: *motB*欠損株

野生株



pGM1:野生型 *motB* をもつプラスミド

(Blair et. al,1991)

*motB17* 変異体:劣性  
(R13 stop)

*motB6*, *motB8* 変異体:優性  
(A39V) (E205K)

優性になる:  
変異固定子が野生型モーターにとりこまれ、  
回転を阻害している?

(Minamino et. al, 2008)



*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*  
Vol. 92, pp. 1970–1974, March 1995  
Cell Biology

# Motility protein interactions in the bacterial flagellar motor

(bacteria/flagella)

ANTHONY G. GARZA\*, LARRY W. HARRIS-HALLER\*†, RICHARD A. STOEGBNER\*†, AND MICHAEL D. MANSON\*‡

\*Department of Biology and †Gene Technologies Laboratory, Institute of Developmental and Molecular Biology, Texas A&M University, College Station, TX 77843-3258

*Communicated by Howard C. Berg, Harvard University, Cambridge, MA, December 9, 1994*

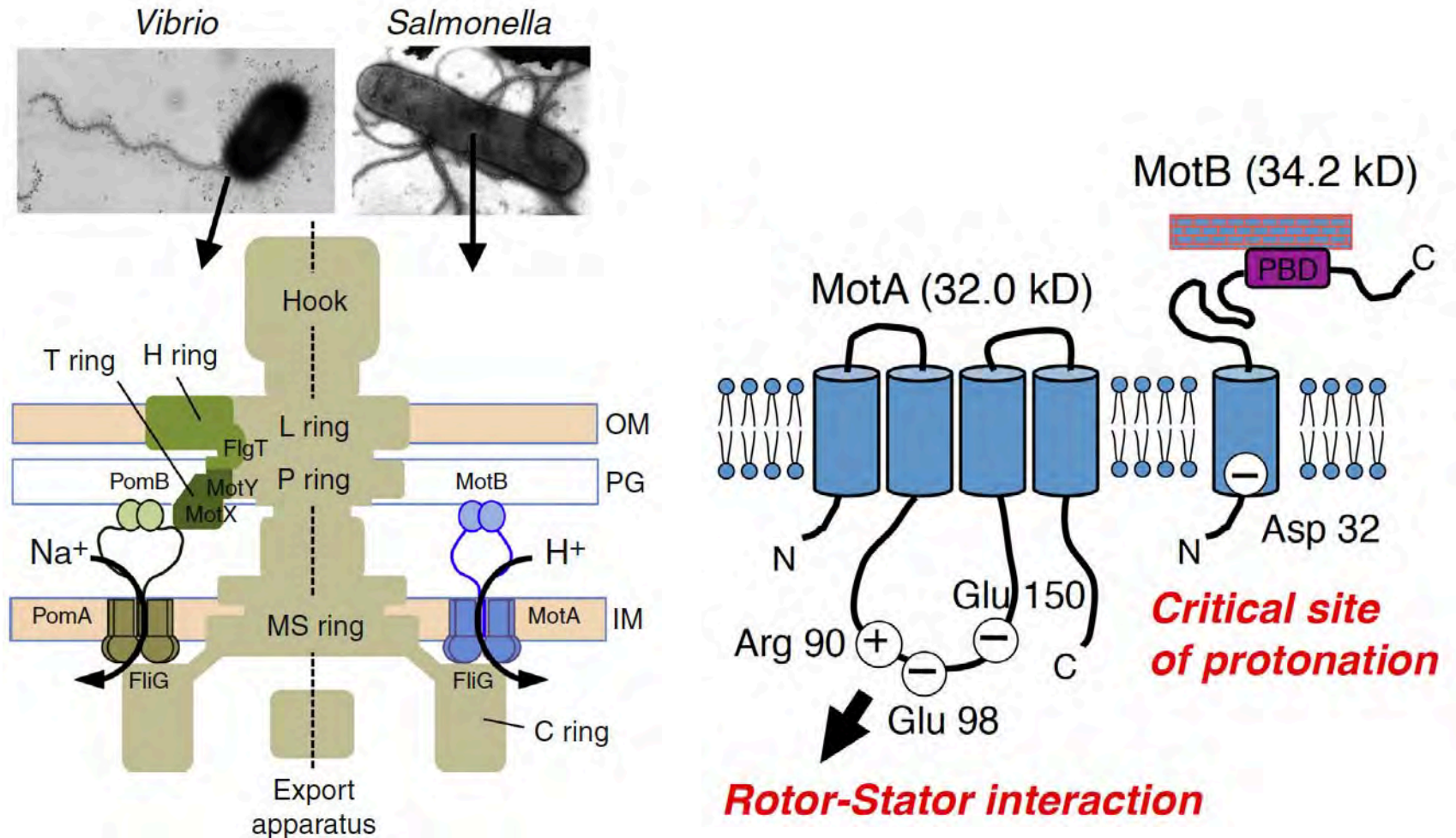
べん毛運動に関するタンパク質間の  
相互作用を調べた最初の論文

固定子タンパク質 **MotB** と相互作用する  
タンパク質を、サプレッサーを単離同定する  
ことで見いだした



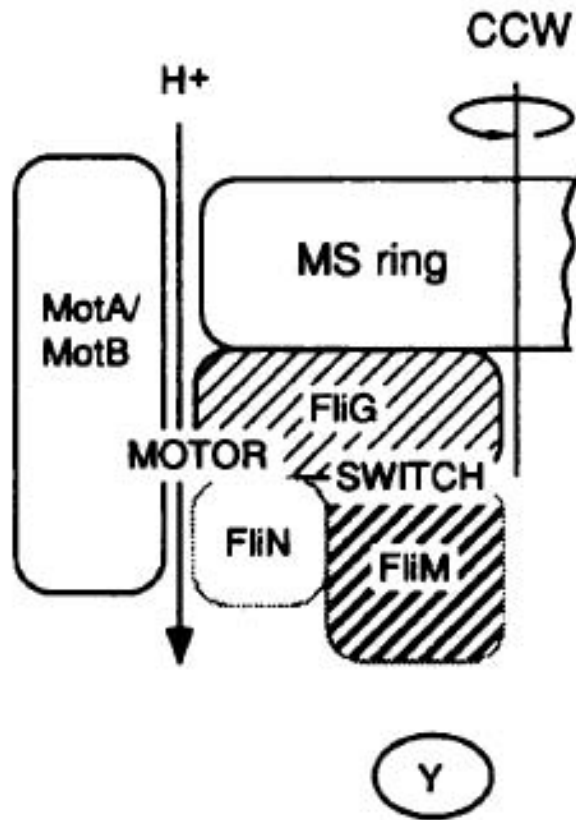
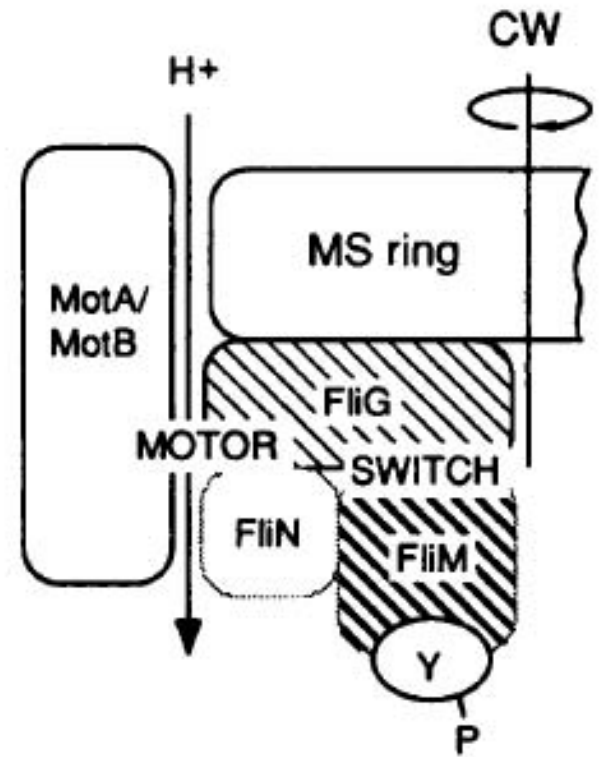
2006年

# べん毛モーターのエネルギー変換素子：固定子



固定子は膜タンパク質のMotAとMotBからなる。固定子内を水素イオン(H<sup>+</sup>)が流れると、MotAと回転子タンパク質FliGが相互作用して回転力を発生すると考えられている

**1993年頃にどこまで分かっていたか？**

**A****B**

Irikura et al, 1993

# 固定子はモーターのどの因子と相互作用するのか？

分かっていたこと:

モーターの回転には、5つのタンパク質が関係

## 固定子

MotA: 膜タンパク質

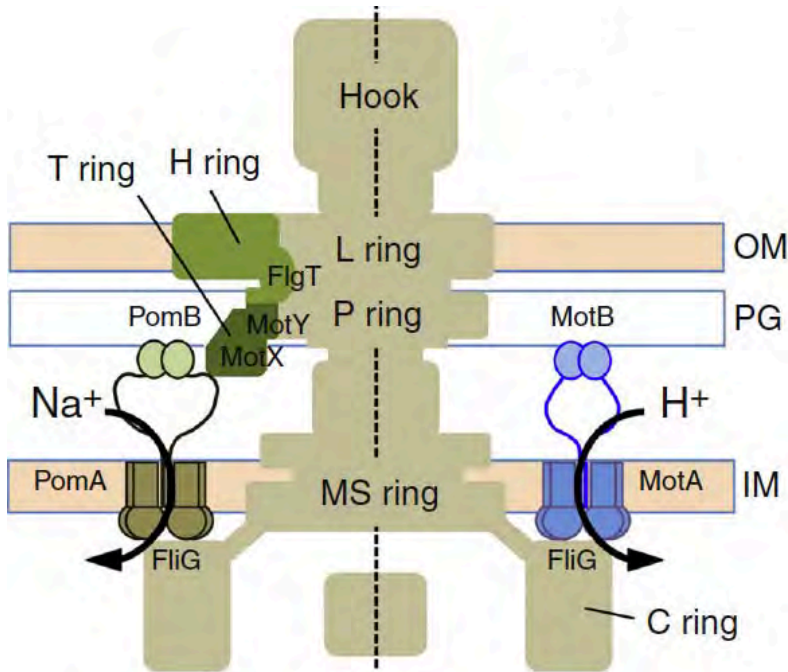
MotB: 膜タンパク質、細胞壁へMotAを固定

## 回転子

FliG: トルク発生に最も重要

FliM: 回転方向を転換するのに関与

FliN: Cリングの主要要素



MotAとMotBは複合体になって、H<sup>+</sup>を通すチャネルとして働き、回転子のどれかと作用する？

MotAとMotBは相互作用するのか？

MotAとMotBは回転子のFliG, FliM, FliNと作用するのか？

遺伝学的に調べたい ➡ *motB* 変異体から、運動能を回復するサプレッサーを取る

# サプレッサー単離実験のデザイン

David Blair によって、*motA*, *motB* 変異体が多数単離され、  
変異の特徴付けと同定がなされている



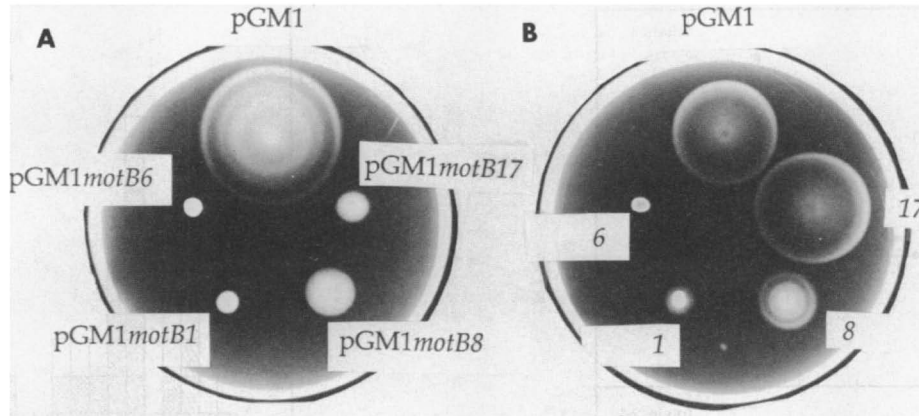
まずは *motB* 変異体(優性)に着目し、この変異体から運動能を回復するサプレッサーを単離する。サプレッサー変異部位を同定すれば、MotB に相互作用する候補因子が見つかる。今回は *motA*, *fliG*, *fliM*, *fliN* への変異に着目する

- 1) AG64 (*motA*<sup>+</sup>  $\Delta$ *motB* *uvrC279::Tn10*)
- 2) AG64株を EMS で mutagenesis
- 3) pMB plasmid (*motB* missense mutation)を導入
- 4) 軟寒天培地上で運動能を示すもの (Mot<sup>+</sup>, サプレッサー)を選択
- 5) サプレッサーに P1<sub>vir</sub>を感染させる
- 6) P1<sub>vir</sub>を RP6647 (*motA*<sup>+</sup>  $\Delta$ *motB*)/pMBに感染させ、Tet<sup>r</sup>かつ Mot<sup>+</sup>で選択
- 7) 変異がマップされた遺伝子 (*motA*, *fliG*, *fliM*, *fliN*)をPCRで増やし、シーケンス

# サプレッサー単離に用いた *motB* 変異

宿主: *motB*欠損株

野生株



pGM1:野生型 *motB* をもつプラスミド  
(Blair et. al,1991)

*motB17* 変異体:劣性  
(R13 stop)

*motB6*, *motB8* 変異体:優性  
(A39V) (E205K)



David Blair

優性になる:  
変異固定子が野生型モーターにとりこまれ、  
回転を阻害している?

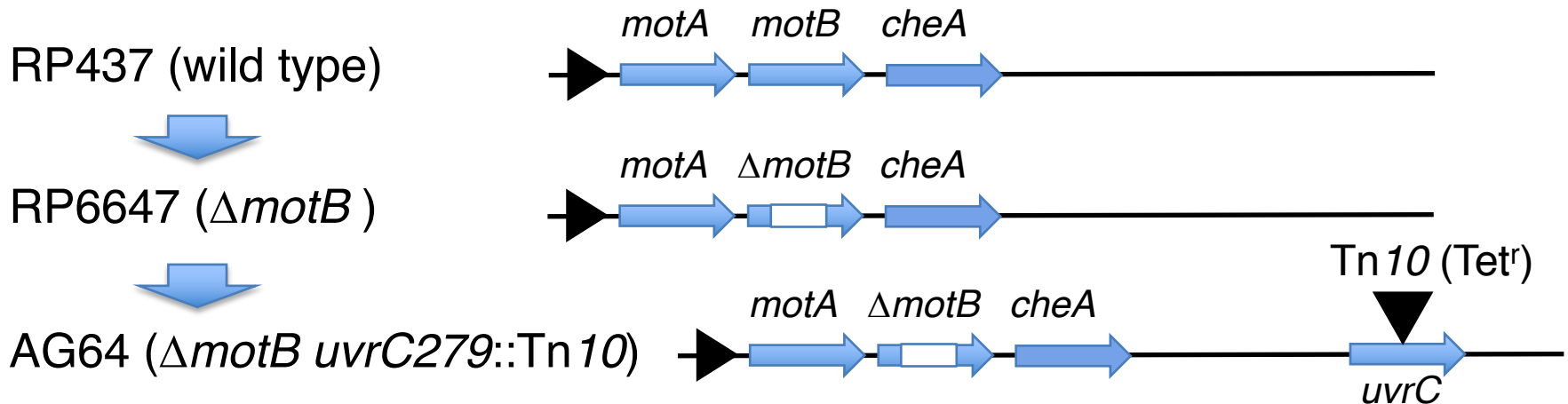
Table 1. Suppressor yield with *motB* missense mutations

<i>motB</i> allele	Amino acid change	No. of suppressors identified
Dominant, partially* functional mutation		
<i>motB1</i>	G240D	6
<i>motB24</i>	P159I	5
Dominant, nonfunctional mutation		
<i>motB3</i>	S214F	0
<i>motB6</i>	A39V	3
<i>motB7</i>	R222H	0
<i>motB14</i>	A242T	0
<i>motB20</i>	R258H	0
<i>motB21</i>	R258C	0
<i>motB35</i>	D197N	0
<i>motB39</i>	G164D	6
<i>motB40</i>	R217W	0
<i>motB47</i>	T196I	0
Dominant, nonfunctional double mutation		
<i>motB30</i>	A29T, A32V	0

(Garza et al, 1995)

# サブレッサー単離に用いた菌株の説明

**Bacterial Strains and Plasmids.** *E. coli* strain RP437 is wild type for motility and chemotaxis (31). Strain RP6647 was derived from strain RP437 and contains a nonpolar deletion within *motB* (J. S. Parkinson, personal communication). Strain AG64 (*motA*<sup>+</sup>  $\Delta$ *motB*) was constructed by transducing *uvrC279::Tn10* (Tet<sup>r</sup>) into strain RP6647 and testing for retention of the nonmotile phenotype. Plasmid pGM1 (32) confers ampicillin resistance (Amp<sup>r</sup>) and contains *motB* expressed from the *lacUV5* promoter.

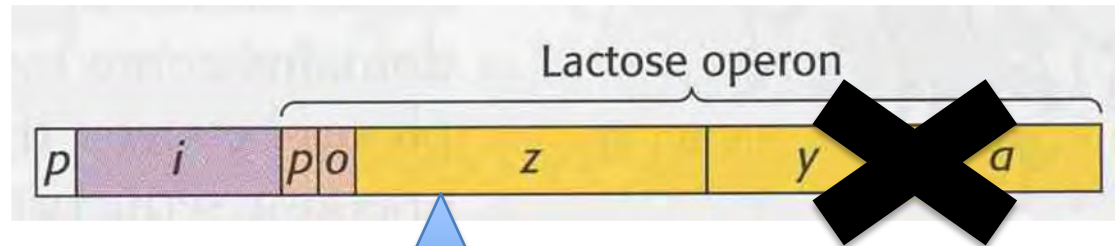
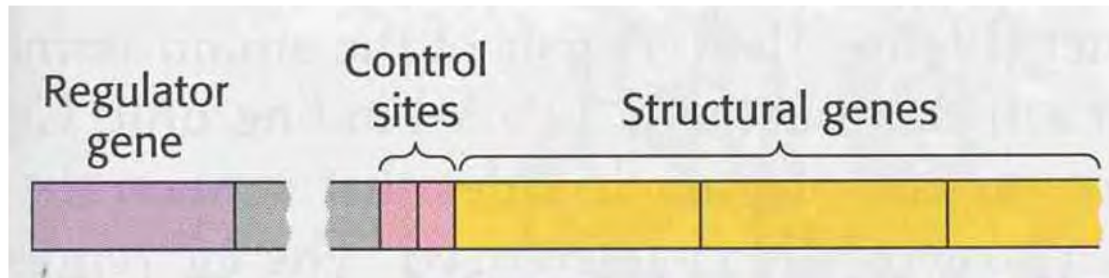


pGM1 ( $P_{lacUV5}$ -*motB*, Amp<sup>r</sup>)

pMB plasmids ( $P_{lacUV5}$ -*motB*<sup>\*</sup>, Amp<sup>r</sup>): pGM1由来、*motB* 変異を持つ

# 極性効果 (Polar effect)

細菌では一つのmRNAで複数の遺伝子を発現することがある(オペロン)



仮にこの位置にトランスポゾンが挿入すると？

- 1) 遺伝子 *z* は挿入により破壊される
- 2) 遺伝子 *y*, 遺伝子 *a* は挿入が無いから発現する？



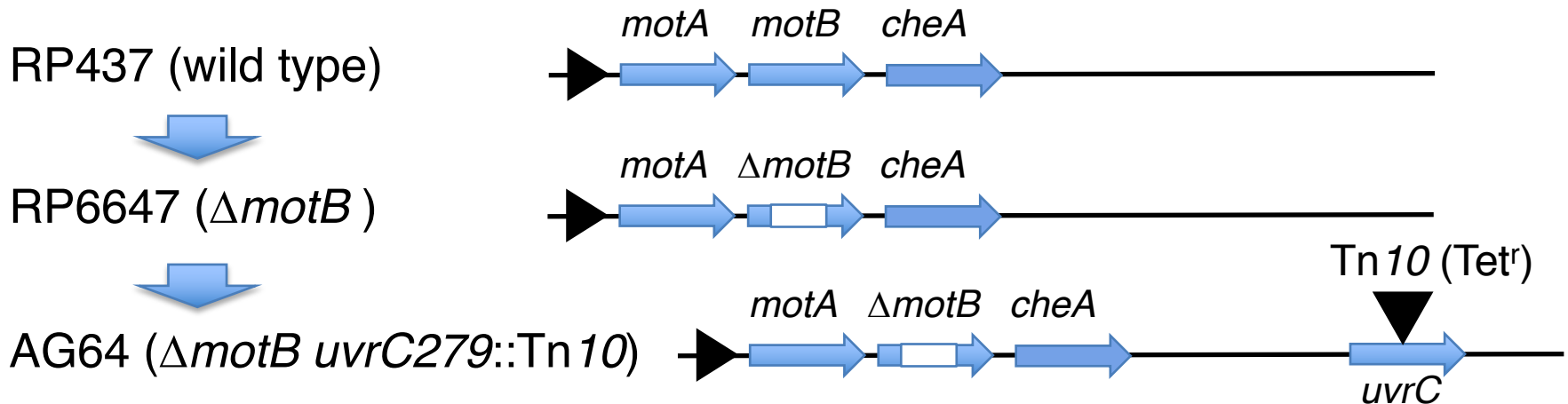
発現しない場合がある。このことを極性効果という。

挿入により本来のmRNAが合成されない(ターミネーター)



# サブレッサー単離に用いた菌株の説明

**Bacterial Strains and Plasmids.** *E. coli* strain RP437 is wild type for motility and chemotaxis (31). Strain RP6647 was derived from strain RP437 and contains a nonpolar deletion within *motB* (J. S. Parkinson, personal communication). Strain AG64 (*motA*<sup>+</sup>  $\Delta$ *motB*) was constructed by transducing *uvrC279::Tn10* (Tet<sup>r</sup>) into strain RP6647 and testing for retention of the nonmotile phenotype. Plasmid pGM1 (32) confers ampicillin resistance (Amp<sup>r</sup>) and contains *motB* expressed from the *lacUV5* promoter.



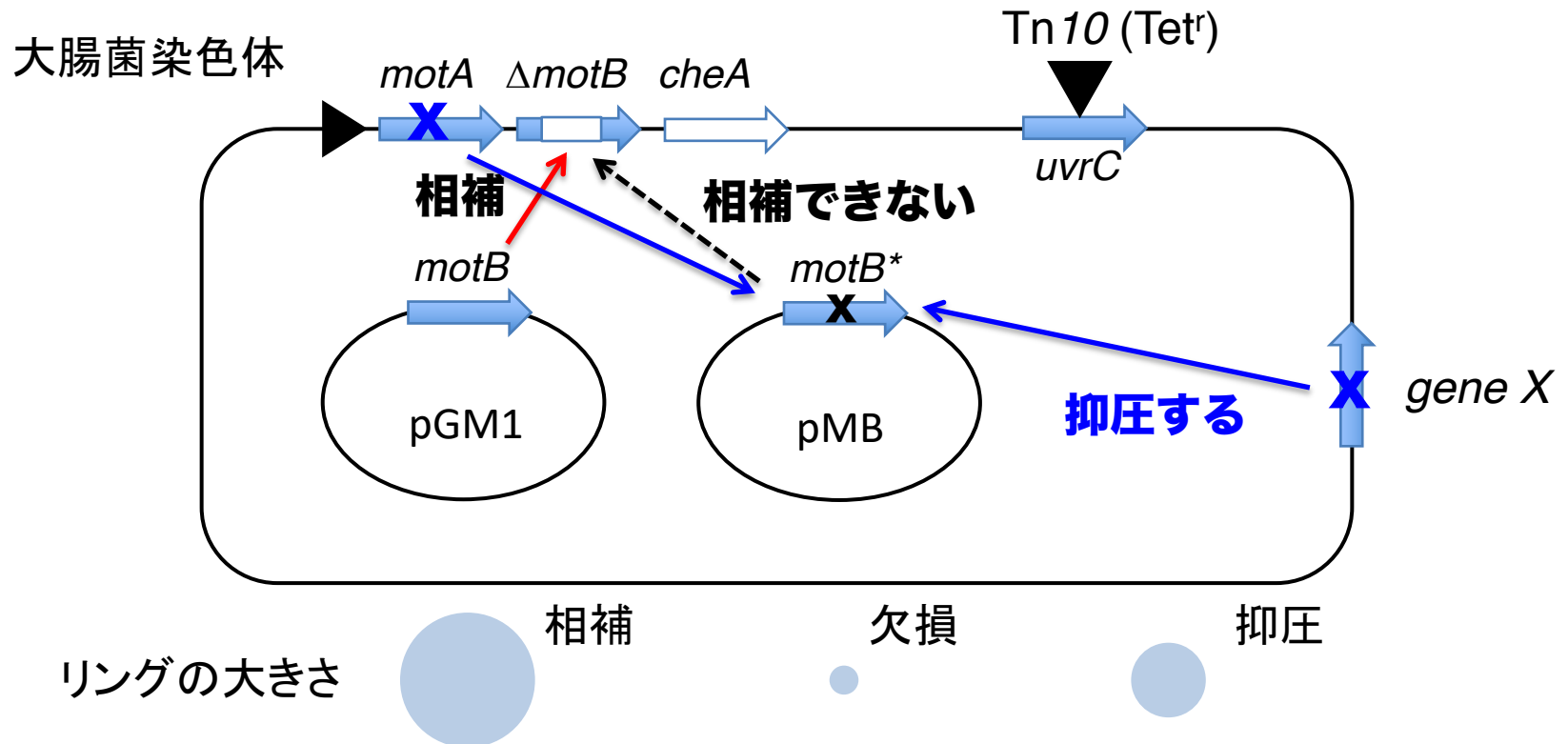
pGM1 ( $P_{lacUV5}$ -*motB*, Amp<sup>r</sup>)

pMB plasmids ( $P_{lacUV5}$ -*motB*<sup>\*</sup>, Amp<sup>r</sup>): pGM1由来、*motB* 変異を持つ

# 変異の抑圧 (suppression)

AG64は *motB* が欠失しており、pMBプラスミドを導入すれば変異 *motB* の形質が得られる

AG64をEMS処理すると、染色体にランダムに変異が入る。その変異が、pMBプラスミドから供給されるMotB変異体の形質(運動能がない)を変化させる、つまり運動能が回復すれば、EMS処理で生じた変異が、*motB* 変異を抑圧(サプレス)することになる。

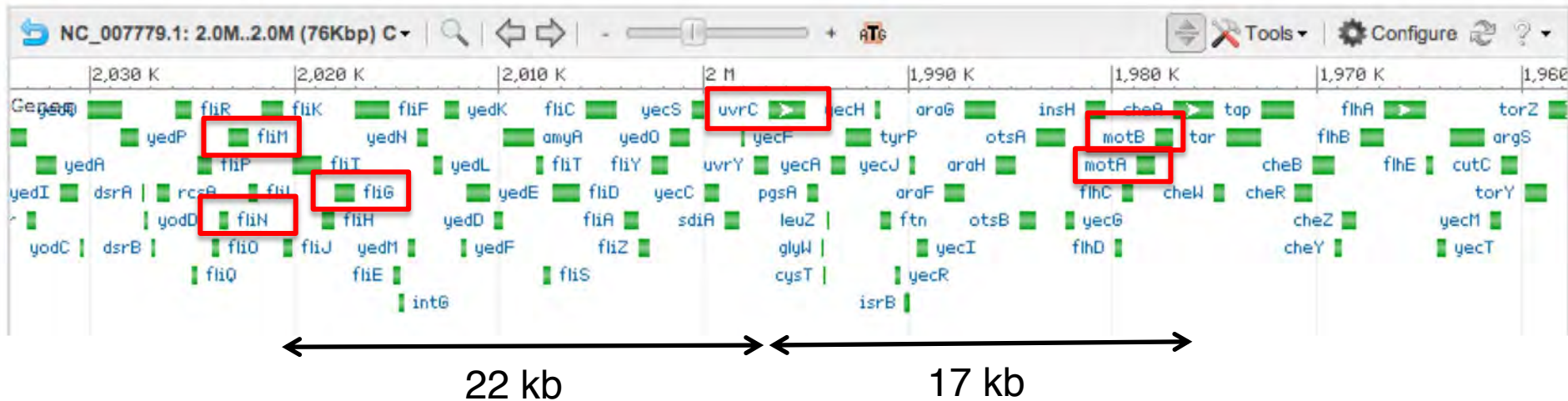


# トランスポゾンを使ってマッピング

なぜ、AG64 ( $\Delta motB uvrC279::Tn10$ )を使うのか？

今回はサプレッサー変異を *motA*, *fliG*, *fliM*, *fliN* に生じたものに絞りたい。  
この4つの遺伝子の近くにある *uvrC* に Tn10 が入った株が AG64 である。もし、  
上記4つの遺伝子に抑圧変異が生じたなら、P1<sub>vir</sub> で Tn10 と一緒に形質導入できる。

大腸菌のゲノム地図から



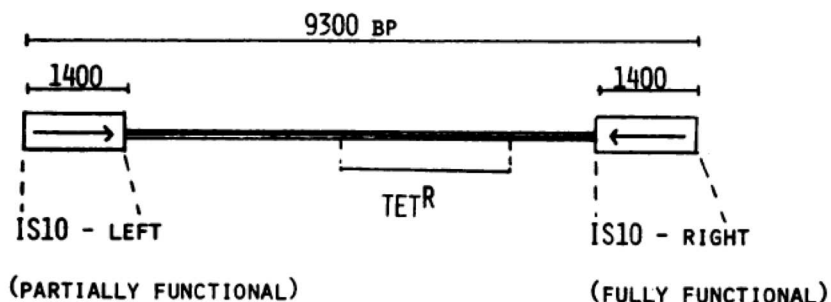
P1<sub>vir</sub>がパッケージするDNAのサイズ: 最大110 kb

*motA* と *uvrC* が一緒にP1で形質導入される割合: 約75%

*fliG*, *fliM*, *fliN* と *uvrC* が一緒にP1で形質導入される割合: 約20 - 25%

TetrかつMot+になる抑圧変異の  
共導入効率を調べる

# トランスポゾンTn 10



(Harring et. al., 1982)

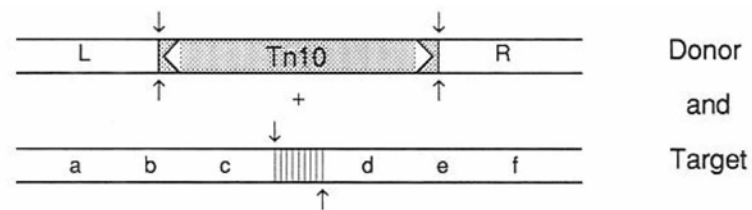
IS: insertion sequence

逆方向繰り返し配列

Tn10 の場合は、この配列の中にトランスポナーゼ(自身の転移を触媒)がコードされている。ただし、IS10 rightが実際には活性を持つ。

転移には複製は必要なく、転移酵素がIS10の端でTn10を切り出す。

(Benjamin and Kleckner, 1989)

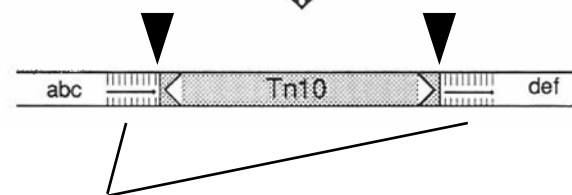


⇓



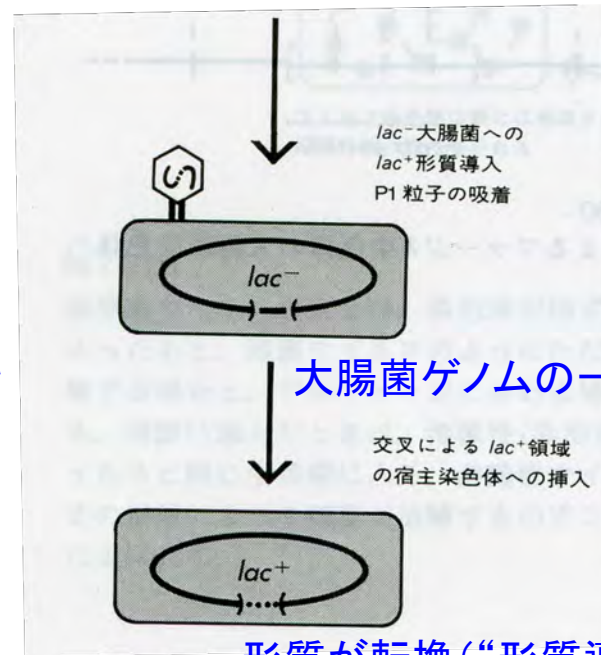
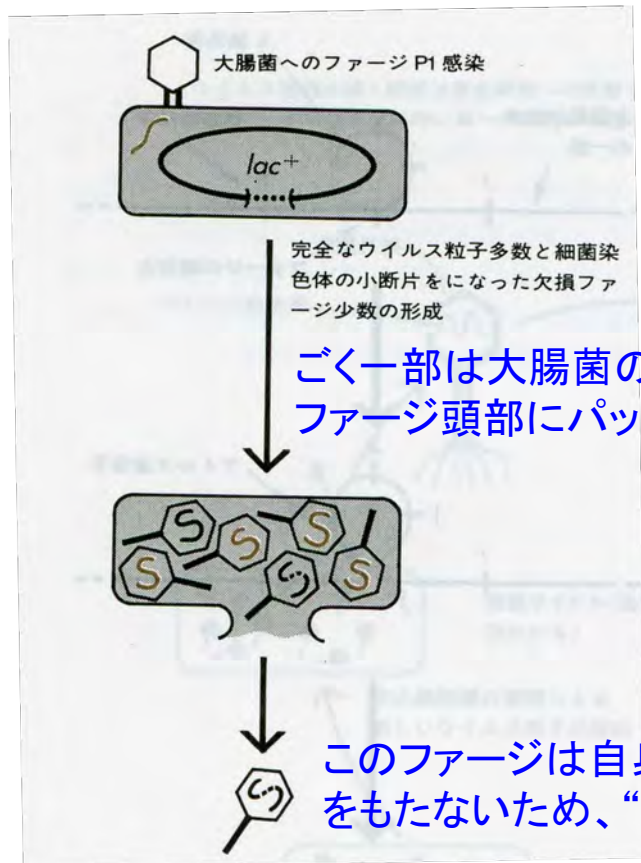
ターゲット配列が合成されて重複する

⇓



ターゲットの配列のリポート

# P1ファージによる形質導入



形質が転換(“形質導入”)

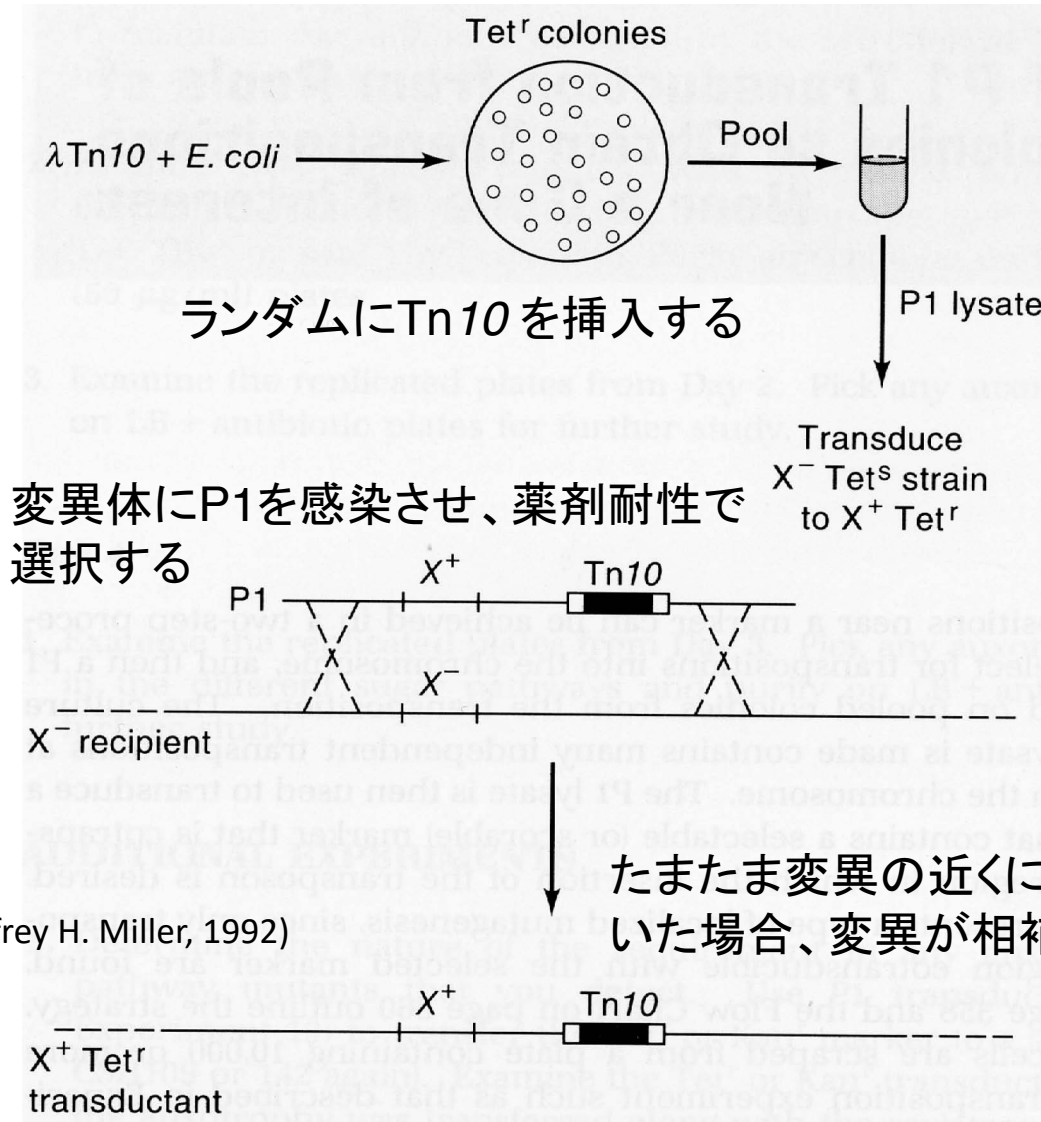
(「遺伝子の分子生物学」より)

大腸菌ゲノム~4,600 kb  
P1頭部 ~110 kb入る

感染した菌の染色体DNAの一部を**ランダム**にとりこみ、受容菌へと移す  
**Generalized transduction** (λファージはSpecialized transduction)

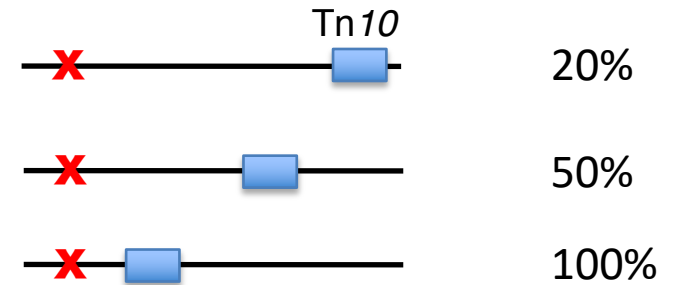
感染後に溶原化しては困るので、感染時に溶菌化サイクルに入る変異体**P1<sub>vir</sub>**を使う

# P1ファージとトランスポゾンを使って変異をマッピング



P1頭部にTn10を含む大腸菌ゲノムの一部が挿入される

co-transduction



この相補株を選択し、再度変異株に感染させ、相補率を調べる(近い場合は100%)

# トランスポゾンを使ってマッピング

5) サプレッサーにP1<sub>vir</sub>を感染させる

6) P1<sub>vir</sub>をRP6647 (*motA*<sup>+</sup>  $\Delta$ *motB*)/pMBIに感染させ、Tet<sup>r</sup>かつMot<sup>+</sup>で選択  
pMBプラスミドがあるときのみ、変異の抑圧があるものを同定する



再度サプレッサーにP1<sub>vir</sub>を感染させ、RP6647/pMBIに再感染させる  
Tet<sup>r</sup>かつMot<sup>+</sup>になる割合を調べる

共形質導入の割合が75%程度なら: 変異は*motA*と予測される  
*motA*と*uvrC*と一緒にP1で形質導入される割合: 約75%

共形質導入の割合が20 - 25%程度なら: 変異は*fliG*, *fliM*, *fliN*と予測される  
*fliG*, *fliM*, *fliN*と*uvrC*と一緒にP1で形質導入される割合: 約20 - 25%

これらの抑圧変異体を選択し、PCRで各遺伝子を増幅してシーケンスする

# 抑圧変異の殆どは *motA* に発見された

宿主: RP6647( $\Delta motB$ )

プラスミド: pGM1 or pMB (*motB*<sup>\*</sup>)

Table 1. Suppressor yield with *motB* missense mutations

<i>motB</i> allele	Amino acid change	No. of suppressors identified
Dominant, partially* functional mutation		
<i>motB1</i>	G240D	6
<i>motB24</i>	P159I	5
Dominant, nonfunctional mutation		
<i>motB3</i>	S214F	0
<i>motB6</i>	A39V	3
<i>motB7</i>	R222H	0
<i>motB14</i>	A242T	0
<i>motB20</i>	R258H	0
<i>motB21</i>	R258C	0
<i>motB35</i>	D197N	0
<i>motB39</i>	G164D	6
<i>motB40</i>	R217W	0
<i>motB47</i>	T196I	0
Dominant, nonfunctional double mutation		
<i>motB30</i>	A29T, A32V	0

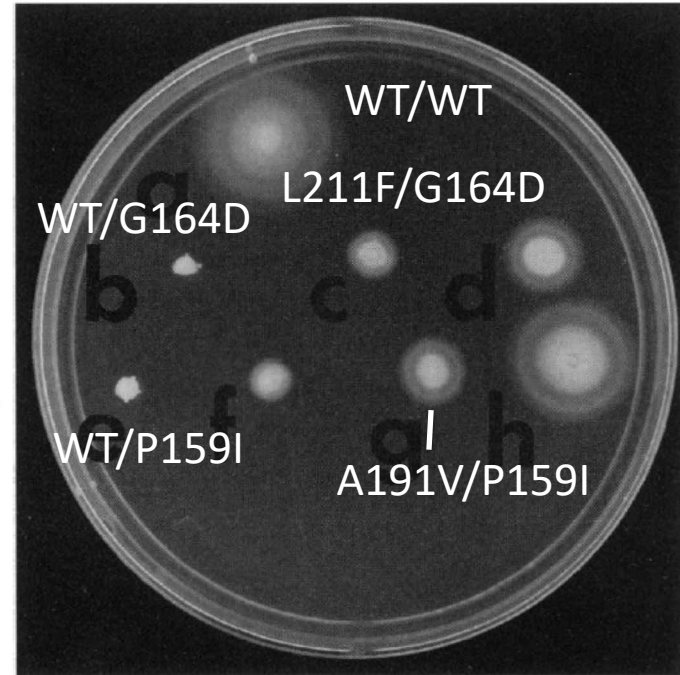
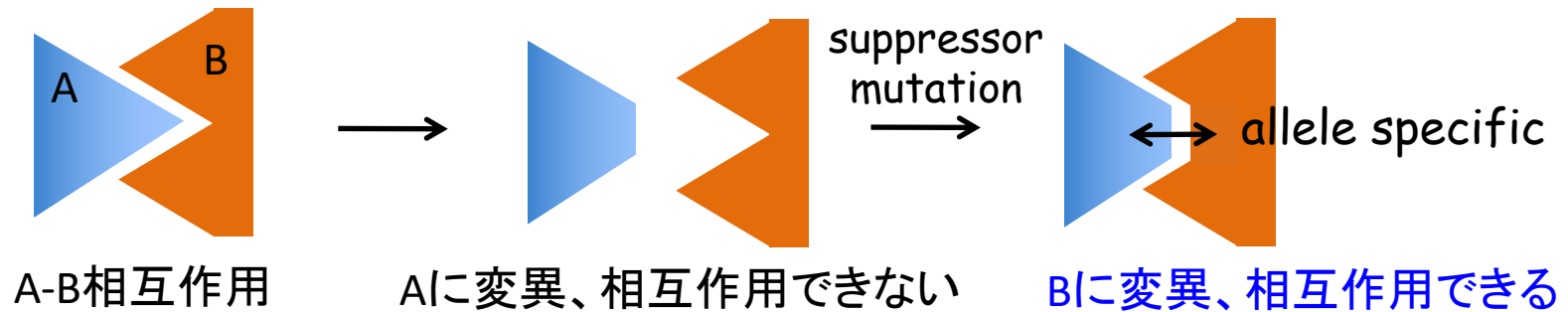


FIG. 1. Swarm behavior of suppressed *motB* mutants. Swarms of plasmid-borne nonfunctional (G164D) and partially functional (P159I) *motB* alleles in the  $\Delta motB$  strain RP6647 containing wild-type and various suppressor *motA* alleles are shown: (a) *pmotB*<sup>+</sup> with *motA*<sup>+</sup>, ++++ motility; (b) *pmotB*(G164D) with *motA*<sup>+</sup>, - motility; (c) *pmotB*(G164D) with *motA*(L211F), + motility; (d) *pmotB*(G164D) with *motA*(G199S), ++ motility; (e) *pmotB*(P159I) with *motA*<sup>+</sup>,  $\pm$  motility; (f) *pmotB*(P159I) with *motA*(A200V), + motility; (g) *pmotB*(P159I) with *motA*(A191V), ++ motility; (h) *pmotB*(P159I) with *motA*(G26V), +++ motility.



# allele specific suppression



きまった組み合わせでないと、抑圧できないかどうかを調べてみた

Table 2. Strength and allele specificity of *motB* suppressors

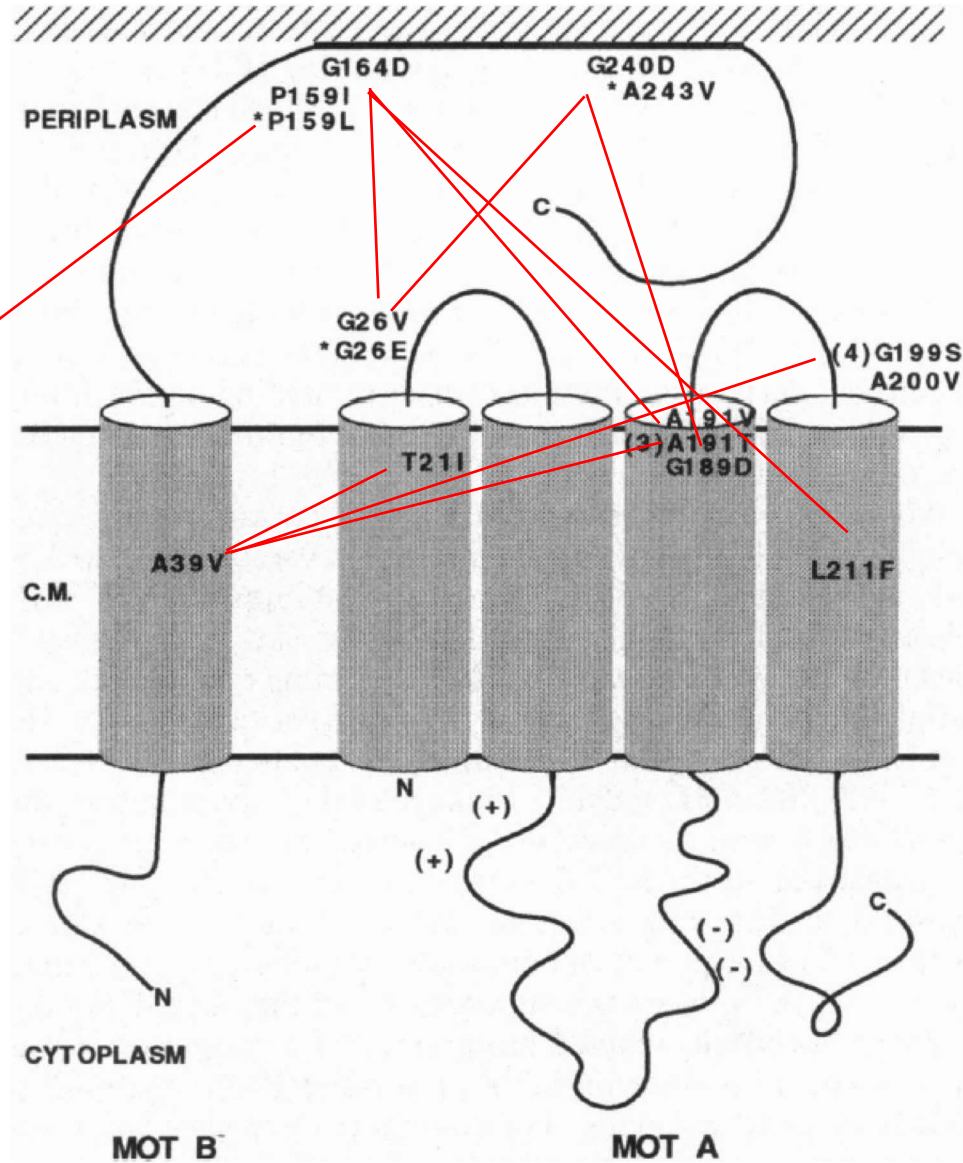
Suppressor allele	<i>motB</i> <sup>+</sup>	<i>motB1</i> G240D	<i>motB6</i> A39V	<i>motB24</i> P159I	<i>motB39</i> G164D	Other <i>motB</i> mutations
<i>motA</i> <sup>+</sup> <i>fliG</i> <sup>+</sup>	++++	±	-	±	-	-
<i>motA</i> T21I (1)	+++	±	[++]	++	-	-
<i>motA</i> G26E (1)	+++	[++]	-	+++	+	-
<i>motA</i> G26V (1)	+++	++	-	[++++]	++	-
<i>motA</i> G189D (1)	+++	+	+	++	[++]	-
<i>motA</i> A191T (3)	+++	[+++]	+++	+++	[++]	-
<i>motA</i> A191V (1)	+++	±	+++	[++]	-	-
<i>motA</i> G199S (4)	++++	±	[++]	[++++]	[++]	-
<i>motA</i> A200V (1)	+++	±	-	[+]	-	-
<i>motA</i> L211F (1)	+++	±	-	++	[+]	-
<i>fliG</i> E108K (1)	+++	±	-	[+]	-	-
<i>fliG</i> R190H (2)	+++	±	-	[+]	-	-

今回のスクリーニングで単離されたものがカッコ付きになっている

# 変異部位

MotBとMotAは相互作用している可能性が高い

FliG E108K  
FliG R190H



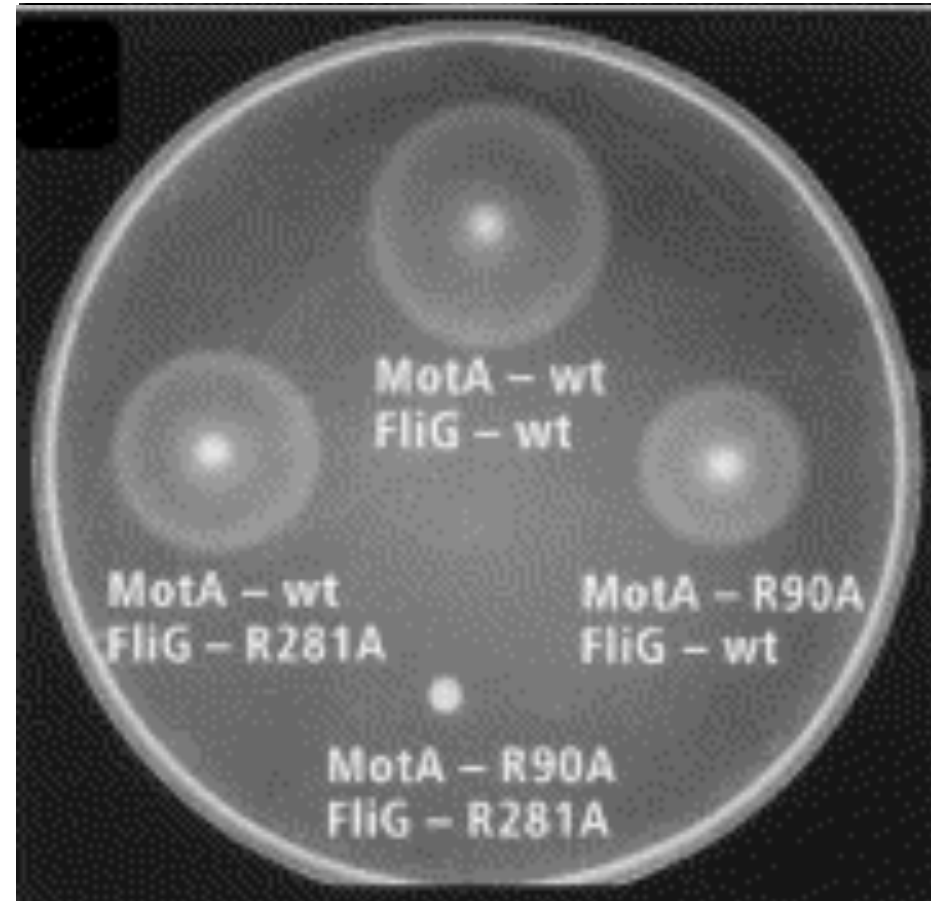
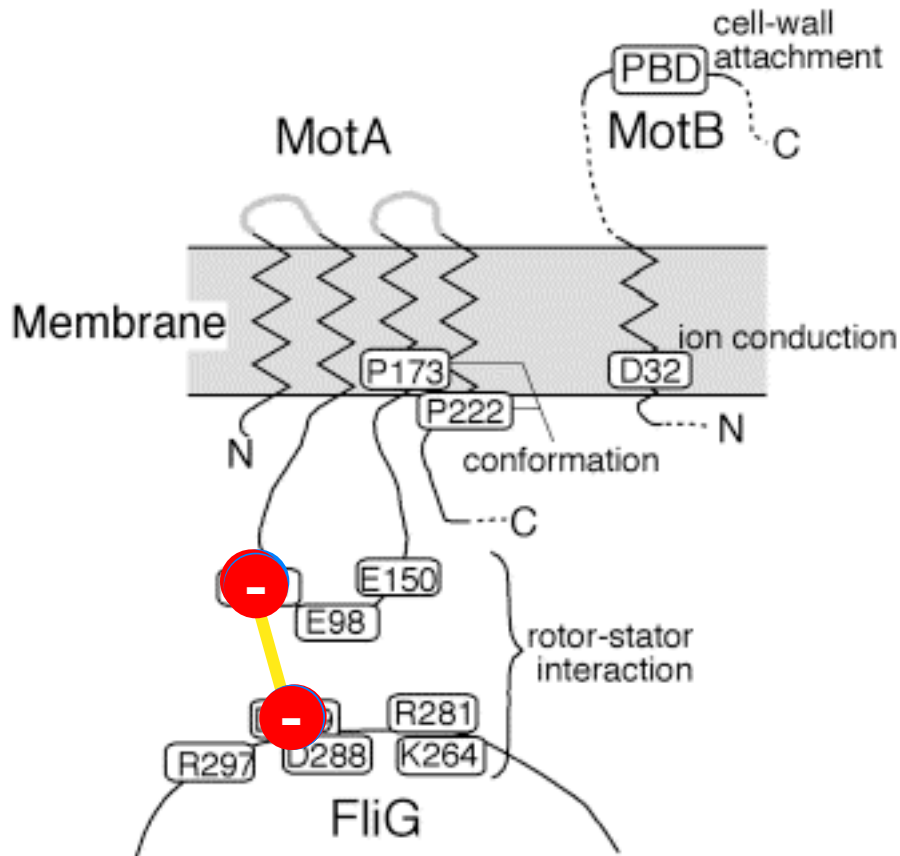
# FliGとMotAの間の相互作用

## Electrostatic interactions between rotor and stator in the bacterial flagellar motor

(flagella/motility/energy transduction)

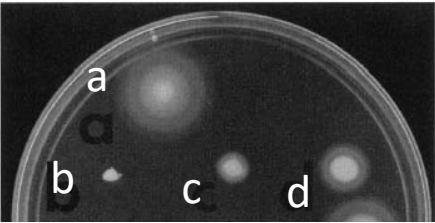
JIADONG ZHOU, SCOTT A. LLOYD, AND DAVID F. BLAIR\*

Department of Biology, University of Utah, Salt Lake City, UT 84112



Zhou et al., *PNAS* (1998); Blair, *FEBS lett.* (2003)

190517(金) 問題 分子遺伝学1 担当:小嶋

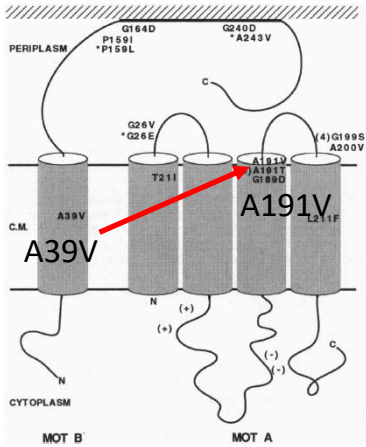


ホスト株: RP6647 ( $\Delta motB$ )  
 プラスミドから *motB*, *motA* を発現

a: *MotB* (WT), *MotA* (WT)  
 b: *MotB* (G164D), *MotA* (WT)  
 c: *MotB* (G164D), *MotA* (L211F)  
 d: *MotB* (G164D), *MotA* (G199S)

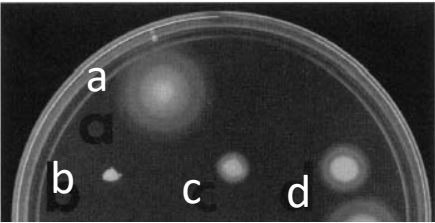
上の図では、*motB* を欠かし運動能を持たない RP6647 株に、プラスミドから *motA*, *motB* の両遺伝子を発現させ、軟寒天培地上の運動能を調べている。WTは野生型(wild type)を示している。

1) *MotB* は G164D 変異により機能を失い、菌は運動することができない。しかし、*MotA* に L211F または G199S 変異が生じると、G164D 変異があっても菌は運動することができる。なぜか？「抑圧」という単語を用いて答えよ。



2) *MotB* の膜貫通領域に A39V 変異が生じると菌は運動能を失う。しかし、この変異は *MotA* の第3膜貫通領域に生じた A191V 変異により抑圧され、菌は運動能を回復した。このことから、*MotA*, *MotB* について、どんなことが言えるか？

190517(金) 問題 分子遺伝学1 担当:小嶋



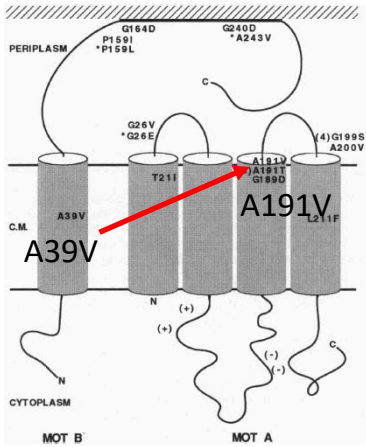
ホスト株: RP6647 ( $\Delta motB$ )  
 プラスミドから *motB*, *motA* を発現

a: *MotB* (WT), *MotA* (WT)  
 b: *MotB* (G164D), *MotA* (WT)  
 c: *MotB* (G164D), *MotA* (L211F)  
 d: *MotB* (G164D), *MotA* (G199S)

上の図では、*motB* を欠失し運動能を持たない RP6647 株に、プラスミドから *motA*, *motB* の両遺伝子を発現させ、軟寒天培地上の運動能を調べている。WTは野生型(wild type)を示している。

1) *MotB*はG164D変異により機能を失い、菌は運動することができない。しかし、*MotA*にL211FまたはG199S変異が生じると、G164D変異があっても菌は運動することができる。なぜか？「抑圧」という単語を用いて答えよ。

**MotBに生じたG164D変異を、MotAに生じたL211FまたはG199S変異が抑圧したため。抑圧変異によってMotAの構造が変化し、G164D変異によるMotBの構造変化がもたらした機能欠損を回復することができたと考えられる。**



2) *MotB*の膜貫通領域にA39V変異が生じると菌は運動能を失う。しかし、この変異は *MotA*の第3膜貫通領域に生じたA191V変異により抑圧され、菌は運動能を回復した。このことから、*MotA*, *MotB*について、どんなことが言えるか？

**MotAとMotBは膜貫通領域の相互作用を介して複合体を形成している。MotAの第3膜貫通領域はMotBの膜貫通領域に近い位置にあると考えられる。**