

# 磁性細菌のGタンパク質融合型鉄輸送体：精製と再構成

著者	福森 義宏
著者別表示	Fukumori Yoshihiro
雑誌名	平成16(2004)年度 科学研究費補助金 特定領域研究 研究概要
巻	2004
ページ	1p.
発行年	2018-03-21
URL	<a href="http://doi.org/10.24517/00060505">http://doi.org/10.24517/00060505</a>

[◀ Back to previous page](#)

# 磁性細菌のGタンパク質融合型鉄輸送体 -精製と再構成-

Research Project

<b>Project/Area Number</b>	16048211
<b>Research Category</b>	Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas
<b>Allocation Type</b>	Single-year Grants
<b>Review Section</b>	Biological Sciences
<b>Research Institution</b>	Kanazawa University
<b>Principal Investigator</b>	<b>福森 義宏</b> 金沢大学, 自然科学研究科, 教授 (60135655)
<b>Project Period (FY)</b>	<b>2004</b>
<b>Project Status</b>	Completed (Fiscal Year 2004)
<b>Budget Amount *help</b>	<b>¥3,500,000 (Direct Cost: ¥3,500,000)</b> Fiscal Year 2004: ¥3,500,000 (Direct Cost: ¥3,500,000)
<b>Keywords</b>	ナノバイオ / 磁性細菌 / トランスポーター / 鉄 / シグナル伝達

All 

## Research Abstract

1.N-FeoBの大量発現と抗N-FeoB抗体の作製  
FeoBを精製するには、高感度なアッセイ系が必要である。そこで、本年度は、抗-FeoB抗体を作製した。具体的には、FeoBのN末端ドメイン(245アミノ酸残基)をコードするDNA断片をPCRで増幅、PCRエラーが無いことを確認し、pET-15b vectorにクローニングした。大量発現には大腸菌BL12株を用いた。N-FeoBは封入体として発現しており、大腸菌より封入体を調製し、変性条件下でNiアフィニティークロマトグラフィにより精製した。大量発現の結果得られたN-FeoBをトロンピンで処理しHis-tag部分を取り除き、SDS-PAGEしたゲルから切り出すことで、更に精製した。得られた精製標品を抗原としてウサギに免疫した。抗体価は二重免疫拡散法とドットプロット法により測定し、アッセイに十分な抗体価をもつ抗血清が得られた。

2.磁性細菌M.magnetotacticumの大量培養と膜画分の調製  
M.magnetotacticumを120Lの合成培地で培養し、25gの細胞を得た。細胞をフレンチプレスで破碎し遠心分離(8,000xg)によって未破碎細胞とマグネトソームを取り除き、更に、超遠心(100,600xg)し沈澱を回収することで膜画分(細胞膜と外膜を含む)を調製した。

3.FeoBの検出  
抗N-FeoB抗体を用いてWestern blotを行い、M.magnetotacticumの膜画分からFeoBの検出を行った。その結果、73.6kDaのメジャーなバンドと2つのマイナーバンド(81.5,61.1kDa)が確認できた。メジャーなバンドの分子量はfeoB遺伝子の塩基配列から推定される分子サイズとほぼ一致した。このことから本細菌のFeoBは膜画分に存在していることが明らかになった。

4.FeoBの精製(可溶化条件の検討)  
FeoBの精製を行う為、膜可溶化条件を検討した。可溶化効率はWestern blotによって検出したバンドをルミノイメージアナライザーによって定量し、求めた。その結果、デオキシコール酸ナトリウムが最も効率的にFeoBを可溶化できることが分かった。現在、アフィニティ、イオン交換、ゲルろ過、ハイドロキシルアブタイトカラムクロマトグラフィによりFeoBの精製を試みている。

## Report (1 results)

2004 Annual Research Report

## Research Products (3 results)

All 2004

All Journal Article Book

[Journal Article] NO Reduction by Nitric-oxide Reductase from Denitrifying Bacterium *Pseudomonas aeruginosa*

2004 ▾

[Journal Article] Conserved region 2.1 of *Escherichia coli* heat shock transcription factor  $\sigma^H$  is required for modulating both metabolic stability and transcriptional activity.

2004 ▾

[Book] Biomineralization (E.Baeuerlein ed.)

2004 ▾

URL: 

Published: 2004-03-31 Modified: 2018-03-28