

FRET を利用した変異原物質を測定するための微生物バイオセンサ

(東京工科大・院・バイオニクス) ○李星儀、野々田隼人、秋元卓央

A FRET-based microbial biosensor for mutagen detection (*Graduated School of Bionics, Tokyo University of Technology*,) ○Li Xingyi, Hayato Nonoda, Takuo Akimoto

Mutagens are substances that damage genes. The purpose of this study was to develop a microbial biosensor for detection of mutagens utilizing the change in fluorescence color due to Fluorescence energy transfer (FRET). For this purpose, GFP and RFP are linked by a linker peptide, which contains an amino acid sequence recognized by Tobacco Etch Virus (TEV) protease, is expressed in *Escherichia coli*. Moreover, a gene expressing TEV protease is introduced into this *E. coli* in the downstream of the RecA promoter. The RecA promoter is a promoter that activates when the *E. coli* gene is damaged by a mutagen. It is expected that this method can produce *E. coli* that fluoresces red in the presence of the mutagen and green in the absence.

In the experiment, we first constructed GFP and RFP linked with a linker containing a TEV recognition sequence. Then, it was examined *in vitro* whether the fluorescence change due to FRET was observed by TEV protease cleavage. As a result, the fluorescent color changed in the presence of TEV protease could be observed. Next, we investigated whether a similar reaction would occur in *E. coli*. Results will be reported on the day of announcement

Keyword: mutagen; FRET; microbial biosensor

変異原物質は遺伝子に損傷を与える物質である。本研究では、変異原物質を測定するために、Fluorescence energy transfer (FRET)による蛍光色変化を利用した微生物バイオセンサを開発することを目的とした。具体的には、大腸菌内で GFP と RFP をリンカーペプチドで接続したタンパク質を発現させる。このとき、リンカーペプチドには Tobacco Etch Virus (TEV) プロテアーゼが認識するアミノ酸配列を含ませる。一方、この大腸菌には RecA プロモーターにより TEV プロテアーゼを発現する遺伝子を導入する。RecA プロモーターは変異原物質により大腸菌の遺伝子が損傷した場合に、発動するプロモーターである。この方法により、変異原物質がある場合は赤、無い場合は緑の蛍光を発する大腸菌が作製できると期待される。

実験では、最初に GFP と RFP を TEV 認識配列を含むリンカーで接続したタンパク質を作製した。そして、TEV プロテアーゼによる切断で FRET による蛍光変化が観察さ

れるかを *in vitro* で調べた。この結果、TEV プロテアーゼ存在下では蛍光色が変わることが観測された。次に、同様の反応が大腸菌内で起きるかどうかを調べた。結果については発表当日に報告する。