

メタン菌分子遺伝学の現状

殿 内 晓 夫

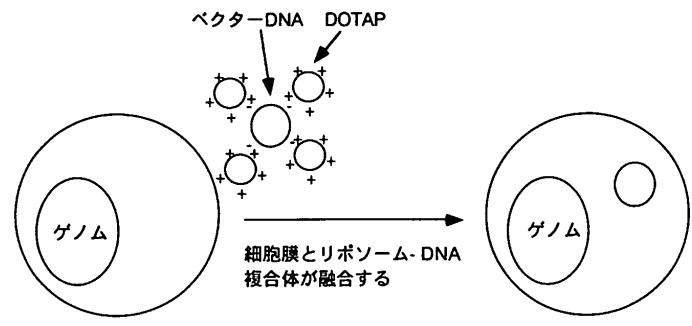
メタン菌は、主に酢酸、水素-炭酸ガスからメタンを生成する過程においてエネルギーを獲得する微生物で古細菌に分類される。嫌気消化槽、反芻動物の第一胃、シロアリの後腸、湖底の堆積物、湛水水田土壤のような嫌気環境に生息し、嫌気条件下における有機物の最終分解者として知られている。メタン菌の生化学的な研究は、とくにエネルギー代謝に関して盛んになされているが、分子遺伝的な研究に関しては他の古細菌と同様に非常に遅れている。¹⁾ メタン菌の分子遺伝学的な研究が難しいのは、培養が難しい、形質転換が困難、有効なベクターがない、などが理由としてあげられるが、近年、徐々にではあるがその状況は改善されつつあるので紹介する。

現在のところ25属74種に分類されるメタン菌の中で分子遺伝学的な研究が試みられているのは*Methanococcus*と*Methanosaerina*の2属に限られている。

Methanococcus maripaludis は海洋に生息する水素-炭酸ガスをエネルギー源とするメタン菌で、1994年にポリエチレンギリコールを用いた高効率の形質転換法が開発されて以来²⁾挿入ベクターを用いた部位特異的変異法の開発や、大腸菌とのシャトルベクターの開発、発現ベクターの構築などの報告例が相次いでなされている。

酢酸からメタンを生成する*Methanosaerina*属のメタン菌は、培養条件によって単細胞で増殖したり、凝集形態をとったりするメタン菌である。形態形成、遺伝子発現制御機構など研究対象としては非常に興味深いメタン菌であるが、もっぱら生理的、生化学的な面から研究が行われてきた。ごく最近まで有効な形質転換法がなく1997年にMetcalfらによってようやく開発された。³⁾ 彼らは*Methanosaerina acetivorans*の保持する5467 bpのプラスミドpC2Aを改変し、マーカーとしてピューロマイシン耐性遺伝子を保持し、*M. acetivorans*内で自律複製可能な大腸菌とのシャトルベクターを構築した。形質転換法として電気穿孔法、ポリエチレンギリコール法、およびその変法を試みたが、非常に低効率で実用性に乏しかった。そこで彼らは、単細胞形態で増殖する*M. acetivorans*の細胞表層はタンパク性のS-layerのみで覆われ、Mg²⁺を含まない溶液ではS-layerは失われやすく、細胞膜を外界に露出するという性質に着目し、真核細胞のトランسفェクションの際と同様にカチオンリポソームとDNAの複合体を細胞と融合させることを考え出した。ベクターDNAとDOTAP (N-[1-(2,3-Dioleyloxy)propyl]-N,N,N-trimethylammoniummethyl-sulfateとの複合体を、S-layer

弘前大学農学生命科学部（助手）
〒036-8224 青森県弘前市文京町3
TEL. 0172-39-3781 FAX. 0172-39-3781
E-mail: symbio@cc.hirosaki-u.ac.jp
1995年 九州大学大学院農学研究科博士課程 修了
博士（農学）
現在の興味：VBNC微生物



-Mg²⁺の条件でスフェロプラスト化した*M. acetivorans* 細胞内にプラスミドDNAを取込む

図1. リポソーム-DNA複合体を用いた*Methanosaerina acetivorans*の形質転換法

除去処理によってスフェロプラスト化した*M. acetivorans*細胞と融合させ（図1）、供使した細胞10⁹あたり10⁷細胞/mg DNA～2×10⁸細胞/mg DNAの高い効率で形質転換に成功した。Zhangらはこの形質転換法を用いて昆虫のトランスポゾンを活用した*in vivo*でのランダム変異導入法を開発し、熱ショック、窒素固定、細胞壁構造に関与する遺伝子の同定を試みている。⁴⁾

メタン菌を対象とした分子遺伝学的な研究はここで示したようやく緒についたばかりであり、*Methanococcus*と*Methanosaerina*以外のメタン菌に関してはまったくといってよいほど進んでおらず、多くの研究者の参入が望まれている。

- 1) Sowers, K. R. and Schreier, H. J.: *Trends Microbiol.*, **7**, 212 (1999).
- 2) Tumbula, D. L. et al.: *FEMS Microbiol. Lett.*, **121**, 309 (1994).
- 3) Metcalf, W. W. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 2626 (1997).
- 4) Zhang, J. K. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 9665 (2000).