

113

抗菌物質産生海洋紅色硫黄光合成細菌 *Chromatium purpuratum* への遺伝子導入系の開発 (東京農工大・工・物質生物工) ○J.G.バージェス・川口竜二・山田晃世・須藤広明・早出広司・松永 是

1) 目的 *Chromatium purpuratum* strain NKPB 031704は、光捕獲色素複合体付近に局在化する抗菌物質を生産できる海洋光合成細菌である。そこで、本研究では、その遺伝子レベルでの解析のために *C. purpuratum* st. NKPB 031704へ遺伝子導入系の開発を行った。さらに、抗菌物質の生合成に必要な遺伝子をクローニングした。

2) 方法および結果 *C. purpuratum* への遺伝子導入系の一つとして被伝達能を有するプラスミドおよび接合伝達能を有する *Escherichia coli* S17-1を用いた接合伝達を検討し、接合効率の良いベクターを様々な広宿主域および光合成細菌由来あるいは大腸菌由来のレプリコンを有するプラスミドから検索した¹⁾。その結果、プラスミド pBR325由来で被伝達能が付与されたプラスミド pSUP202を用いた場合、*C. purpuratum*への接合導入が可能であった。しかもそのレプリコンにより、プラスミドは菌体内に安定に保持、複製されることが確認された。このことによりプラスミド pSUP202は、*C. purpuratum*のシャトルベクターとして用いることが可能であることが示され、初めて *Chromatiaceae*におけるシャトルベクターを用いた遺伝子導入系が確立された。一方、本菌株の抗菌物質産生能は、光捕獲色素複合体付近に局在しその生合成と深く関与していると推測された。そこでλZAPII クローニングベクターを用いて、*C. purpuratum*の遺伝子ライブラリーを構築し、PCR法により得られた *Rhodobacter sphaeroides* の光捕獲色素複合タンパク遺伝子をプローブとし、*C. purpuratum*より抗菌物質の生合成に関与すると考えられる光捕獲色素複合タンパク 'B830' 遺伝子断片のクローニングし、現在その解析を進めている。

Construction of a gene transfer system for the marine sulphur photosynthetic bacterium *Chromatium purpuratum* which produces antibiotics: J. Grant Burgess, Ryuji Kawaguchi, Akiyo Yamada, Hiroaki Sudo, Koji Sode and Tadashi Matsunaga (Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology)

114

磁性細菌の磁気微粒子生成に関与する遺伝子の解析

(東京農工大・工・物質生物工)

○中村 史・阪口利文・J. G. Burgess・早出広司・松永 是

1) 目的 当研究室は、磁性細菌AMB-1株の磁気微粒子生成能を欠損したトランスポゾン変異株を有しており、この変異株からトランスポゾンを含むクロモゾーム断片の分離、クローニングに成功している¹⁾。本研究では、変異株のNH5株から分離した変異部位断片をプローブとしたノーザンハイブリダイゼーションを行い、この遺伝子の発現について解析すること、また、この遺伝子のシーケンスを行い、遺伝子解析を行うことを目的とした。

2) 方法及び結果 ノーザンハイブリダイゼーションを行うにあたり、はじめにNH5株のトランスポゾンを含んだ *EcoRI*断片をクローニングしたプラスミド pCN5からクロモゾームの領域を *EcoRI*、*HpaI*によって切断分離し、これをプローブDNAとした。磁性細菌の培養条件として、通常の鉄イオン濃度(30 μM)のMSGM培地で、微好気、好気条件、さらに鉄イオン濃度を制限した培地(5 μM以下)で微好気条件の3種の培養条件を設定し、それぞれの条件で培養した対数中期、後期の細胞(2.4×10⁸ cells)からグアニジンチオシアネート、塩化リチウムを用いてmRNAを抽出した。このRNAサンプルをドットプロットし、上記のプローブを用いてハイブリダイゼーションを行った。その結果、鉄イオン濃度を制限した条件のRNAサンプルのみ強い発色が検出され、他のサンプルからは痕跡程度しか検出されなかった。このことからNH5株が欠損している遺伝子は、鉄イオン濃度で発現が制御されている遺伝子であることが明らかとなった。また、pCN5のデレーションクローンを作製し、NH5株の変異部位遺伝子のシーケンス、塩基配列のコンピューター解析も行った。

1) T. Matsunaga et al.: J. Bacteriol., 174, 2748-2753 (1992)

Analysis of an iron regulated gene required for magnetite synthesis in a magnetic bacterium: Chikashi Nakamura, Toshifumi Sakaguchi, J. Grant Burgess, Koji Sode and Tadashi Matsunaga (Department of Biotechnology, Tokyo University of Agriculture and Technology)